



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Réf. :

présenté et soutenu par :
GUESSOUM Fatima et MOKEDDEM Hana

Le : Mardi 9 juillet 2019

Thème

**Effet inhibiteur de certaines huiles essentielles vis-à-vis des
Entérocoques responsables des infections dentaires**

Jury :

Mme. Ismahan LEBBOUZ	MCB	Université de Biskra	Président
Mme. Widad BOUGUENNOUNE	MCB	Université de Biskra	Examineur
M. Fethi BENBELAID	MCB	Université de Biskra	Rapporteur

Année universitaire : 2018 - 2019

Remerciements

Nous voudrions profiter cette occasion pour exprimer nos sincères remerciements et notre reconnaissance à:

Dieu, le tout puissant pour nous donner la force, la santé et la patience pour accomplir ce modeste travail.

Notre directeur de recherche, Dr. Benbelaïd Fethi, non seulement pour avoir pris soin de nous, mais surtout pour nous donner de précieux conseils, ainsi il nous a dirigé tout au long de la préparation du mémoire de master.

Nous tenons à remercier les membres de jury d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance et notre sincère gratitude à tous les enseignants de la filière de biologie de l'université de Biskra, sans exceptions, pour les efforts qu'ils ont fournis durant ces cinq années de formation.

Nous exprimons nos vifs remerciements à toute l'équipe de laboratoire de Microbiologie pour leur aide précieuse durant la réalisation de notre travail.

Nous tenons à exprimer également nos profondes reconnaissances à Mesdames Amina Benkadi, Manel Selami, Samra et Fairouz chirurgiens dentiste d'hôpital de djamaa et Monsieur Said Quizzi Directeur du Laboratoire Sahraoui.

Nous exprimons nos vifs remerciements à mes collègues de travail Amel, Khadidja, Hafidha. Et ainsi que toute mes amies Soumia, Ines, Djihad, Fethia, Nihal, Houria, Chaima.

Finalement, il nous est agréable d'adresser nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

Pour être reconnaissant envers ceux qui nous ont

*Soutenus et encouragés à faire ce travail de recherche, je dédie ce
mémoire*

*À notre chère mère, OUARDA et grande mère ZINEB symbole de
bonté par excellence, source de tendresse, lumière de mes yeux, et le
bonheur de ma vie. En me guidant toujours avec ses conseils, et ses
prières que Dieu la garde pour moi*

*A mon très cher PAPA SALIM, que j'aime beaucoup qui a
toujours cru en moi et mis à ma disposition tous les moyens nécessaires
pour que je réussisse je le remercie vivement pour son soutien
permanent que Dieu te protège papa et te prête longue vie*

Mes frères RAMZI, BAHHA EL DINE, SOHAIB

*Mes Sœurs ZINEB, SOUMIA. Je leur souhaite du succès et du
Succès dans leurs vies*

*Je suis également heureux de dédier ce modeste travail à mes proches
amies NIHAL, FETHIA, DJIHAD, HOURIA. Que Dieu vous préserve.*

MOKEDDEM HANA

Dédicace

Je Dédie ce modeste travail à

*Ma chère maman SAIDA symbole de bonté par excellence,
source de tendresse, lumière de mes yeux, et le bonheur de ma vie. En
me guidant toujours avec ses conseils, et ses prières que Dieu la garde
pour moi.*

A mon cher papa MOHAMMED La miséricorde de dieu.

*Et à ma deuxième mère SABHA. Qui m'a soutenu tout au long de
mon étude, et ses prières que Dieu la garde pour moi.*

*A mes chers frères: SAMED, HALIM, MOKHTAR, RAMZI, ALA
EL DINE ET WAHID*

*A mes chers sœurs: FADILA, NAWAL, FAHIMA, HWARIA,
CHADLIA ET SAMIA*

À mes amis les plus proches: INAS, CHAIMA

*A à tous enfants mes frères en particulier KHAWLA, AMIRA,
AYOUB*

*Et à la fin à toutes les personnes m'ayant consacré un moment
pour m'aider, me conseiller, m'encourager*

GUESSOUM FATIMA

Table des matières

Page de garde	
Remerciements	
Dédicace	
Table des matières	
Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1

Première Partie :PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1.PATHOLOGIE ENDODONTIQUE

1.1. Infections des racines dentaires.....	3
1-2. Maladies endodontiques primaires.....	3
1.3. Maladies endodontiques secondaires.....	3
1.4. Microbiologie des racines dentaires.....	3
1.4.1. <i>Enterococcus faecalis</i> est l'agent étiologique responsable d'échecs endodontiques.....	4
1.4.2. <i>Enterococcus faecalis</i>	4
1.4.2.1. Généralités.....	4
1.4.2.2. Pouvoir pathogène.....	5
1.4.2.3. Résistance envers les agents antimicrobiens.....	5
a) Antibiotiques	5
b) Antiseptiques/désinfectants.....	6

Chapitre 2.LES HUILES ESSENTIELLES

2.1. Généralités.....	7
2.2. Activité antimicrobienne.....	7
2.2.1. Activité anti-biofilm.....	7
2.3. Mode d'action	8

Deuxième partie : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 3.MATERIEL ET METHODES

3.1. Source du matériel végétal	9
3.2. Obtention des huiles essentielles	9
3.3. Conservation	10
3.4. Souches d'<i>Enterococcus spp</i>	10
3.4.1. Origine	10
3.4.1.1. Souches de référence	10
3.4.1.2. Souches cliniques	11
3.4.1.3. Prélèvements	12
3.4.1.4. Identification	13
a) Coloration de Gram	13
b) Teste de catalase.....	14
c) Croissance sur bouillon hyper salé	14
d) Résistance à la chaleur	14
e) Resistance au tellurite de potassium.....	14
3.4.2. Evaluation de la sensibilité des souches d' <i>Enterococcus spp</i> vis-à-vis des agents antimicrobiens.....	15
3.4.2.1. Revivification des souches	15
3.4.2.2. Standardisation des inocula.....	15
3.4.2.3. Antibiogramme.....	15
3.4.3. Activités antimicrobiennes des Huiles essentielles vis-à-vis les souches <i>E. spp</i> ...	15
3.4.3.1. Aromatogramme.....	15
3.4.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI » des huiles essentielles.....	16
3.4.3.3. Détermination des CMI de la formation de biofilm.....	17

Chapitre 4.RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Rendements en huiles essentielles	18
4.2. Identification des souches cliniques d'entérocoques	19
4.2.1. Examen Macroscopique.....	20
4.2.2. Examen Microscopique	21
4.2.3. Test de catalase	22
4.2.4. Test de Resistance à chaleur 60°C/30min et test de Croissance sur bouillon hyper salée.....	22
4.2.5. Test de la réduction de tellurite de potassium.....	23

4.3. Les résultats d'antibiogramme	24
4.4. Effets des huiles essentielles envers <i>Entérocooccus faecalis</i>	25
4.4.1. Diamètres des zones d'inhibition	25
4.4.2. Détermination des Concentration Minimales Inhibitrices CMI.....	27
4.4.3. Détermination de la CMI de la formation de biofilms CMIB	29
Conclusion.....	32
Références Bibliographies	33
Annexes	
Résumé	

Liste des Tableaux

Tableau 1. Donnés sur les souches cliniques étudiées	12
Tableau 2. Rendement en huiles essentielles	18
Tableau 3. Comparaison des rendements en huiles essentielles des plantes étudiés avec d'autres travaux	18
Tableau 4. Résultat d'Identification des souches clinique d'entérocoque isolées au niveau d'hôpital Djamaa.....	19
Tableau 5. Données sur les souches d'entérocoques sélectionnées.....	25
Tableau 6. Diamètres d'inhibitions des huiles essentielles des trois plantes.....	26
Tableau 7. Concentration minimal inhibitrice (%) des trois huiles essentielles	28
Tableau 8. Concentration minimal inhibitrice (CMI) de la formation de biofilm	29
Tableau 9. Résultats d'antibiogramme des souches d'Entérocoques cliniques.....	45

Liste des Figures

Figure 1. Vue en microscope électronique d' <i>entéroccoccusfaecalis</i> (Berger, 2010).....	5
Figure 2. Extraction des huiles essentielles.....	9
Figure 3. Enrichissement des souches de référence.....	10
Figure 4. Ensemencement des souches de référence.....	11
Figure 5. Observation microscopique des souches de référence d' <i>E.faecalis</i> (ATCC49452)..	11
Figure 6. Ensemencement des souches clinique sur le milieu BEAA par méthode d'épuisement.....	13
Figure 7. Préparation de microplaque pour déterminée CMI de l'huile essentielle	17
Figure 8. Préparation de microplaque pour déterminer la CMI de la formation de biofilm ...	17
Figure 9. Milieu BEA après l'incubation.....	20
Figure 10. Milieu GM17 après l'incubation.....	21
Figure 11. Observation microscopique de souche clinique (p3).....	21
Figure 12. Résultat de test catalase de la souche de référence (ATCC 29212) et souche clinique (p4)	22
Figure 13. Résultat de résistance à la chaleur (60°C pendant 30 min) de la souche clinique avant (A) et après (B) l'incubation.....	23
Figure 14. Résultat de la croissance sur bouillon hyper salé de la souche clinique après l'incubation	23
Figure 15. Résultat de test de la réduction de tellurite de potassium avant (A) et après (B) l'incubation	24
Figure 16. Résultat d'antibiogramme	24
Figure 17. Résultat de l'aromatogramme des trois HEs	27
Figure 18. Résultat de détermination des CMI de HEs d' <i>Origanum vulgare subsp.glandulosum</i>	29
Figure 19. Résultat de détermination de CMIB de HEs d' <i>Origanum vulgare subsp</i> . <i>glandulosum</i>	30
Figure 20. <i>Ammoïdespusilla</i>	42
Figure 21. <i>Arteamisa herba alba</i>	43
Figure 22. <i>Origanumvulgarsubspglandulosum</i>	44

Liste des abréviations

BEAA: Bile Esculine Azide Agar

BHIB: Brain Heart Infusion Broth

CMI: Concentration Minimal Inhibitrice

CMIB: Concentration Minimale Inhibitrice de la Formation de Biofilm

HE: Huile Essentielle

LIPOE: Lésion Inflammatoire Péri-apicale d'Origine Endodontique

MH: Muller-Hinton

PAA: Parodontites Apicales Aiguës

PAC: Parodontites Apicales Chroniques

UFC: Unité Formant Colonie

Introduction

Introduction

Les parodontites apicales sont des infections au niveau des racines dentaires dont une diversité de micro-organismes est impliquée. Ces infections, dites endodontiques, se développent habituellement à la suite d'une nécrose pulpaire ou bien lors d'un traitement des caries dentaires. Les bactéries de la flore orale sont les principaux micro-organismes incriminés dans les parodontites apicales. Bien que des champignons, des virus, voir des archéobactéries (Archaea) ont été isolés à partir des infections endodontiques (Simon et Pertot, 2012).

Actuellement, les pathologies endodontiques sont la cause principale de consultation dentaire en urgence. Pour la plupart des chirurgiens-dentistes, le traitement endodontique est l'acte le plus fréquent et le plus difficile à réaliser (Berger, 2010). Le traitement endodontique est à considérer comme un des actes clés de la dentisterie. Il consiste à préparer, décontaminer et obturer dans les trois dimensions le système canalaire afin de prévenir ou de traiter une parodontite apicale (Boisseau, 2010). Malgré les progrès récents de l'endodontie, tant sur le plan fondamental que clinique, le clinicien reste confronté à un certain nombre d'échecs. Ces échecs sont directement liés à la persistance de bactéries au sein d'une anatomie canalaire complexe (Berger, 2010).

La mauvaise éradication des pathogènes après l'obturation des dents est donc la cause principale de ces échecs du traitement endodontique. Ces infections secondaires, autrement dite persistantes, est due uniquement à certaines espèces microbienne, dont *Entérocooccus faecalis* (*E. faecalis*) et *Candida albicans*, ayant une capacité remarquable de résistance contre à la fois les antiseptiques utilisés et les conditions écologiques extrêmes caractérisant l'environnement endodontique. *E. faecalis*, une bactérie à Gram positif, est considérée comme l'agent étiologique responsable des infections endodontiques persistantes (Boisseau, 2010).

E. faecalis est en outre responsable d'autres pathologies buccales, notamment les caries dentaires, les abcès dentaires et les infections parodontales (Benbelaïd *et al.*, 2014). Ceci s'explique par le fait que cette bactérie possède non seulement de nombreux facteurs de virulence, mais également une résistance endogène aux conditions écologiques extrêmes et aux agents antimicrobiens. Ces résistances et tolérances sont attribuées également à la capacité remarquable de formation de biofilm chez cette espèce bactérienne (Benbelaïd *et al.*, 2014).

L'infection endodontique persistante demeure parmi les problèmes incurables pour les chirurgiens-dentistes. Compte tenu de l'incidence des parodontites, de la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques et des effets secondaires de certains agents antibactériens fréquemment utilisés en dentisterie. Ainsi, la recherche de nouveaux agents antimicrobiens alternatifs, efficaces et sûrs, pour la prévention et le traitement de ces maladies est une nécessité urgente. Les huiles essentielles, utilisées en médecine traditionnelle, peuvent être considérées comme une bonne alternative thérapeutique grâce à leur activité antimicrobienne et anti-biofilm (Jain *et al.*, 2016).

Dans le même axe de recherche et de valorisation des substances naturelles antimicrobiennes d'origines végétales, nous nous sommes proposé d'évaluer l'effet inhibiteur de certaines huiles essentielles de plantes aromatiques sur des souches d'Entérocoques, y compris *E. faecalis*, responsables d'infections buccales et d'origine dentaire prélevées auprès d'hôpital de Djamaa a wilaya d'El Oued.

Les objectifs de cette étude sont:

- ❖ Collecter des souches cliniques d'Entérocoques à partir des infections endodontiques secondaires (Persistantes).
- ❖ Etudier la résistance de ces souches envers l'agent antimicrobiens (les antibiotiques) et leur aptitude de former le biofilm.
- ❖ Evaluer l'effet inhibiteur des huiles essentielles envers les souches d'Entérocoques à l'état planctonique et biofilm afin de proposer des solutions d'irrigation alternatives.

Partie

Bibliographique

Chapitre 1.

Pathologie endodontique

1.1. Infections des racines dentaires

La parodontite apicale d'origine endodontique est principalement causée par une infection microbienne localisée dans le canal radiculaire. Ce type d'infection provient principalement des caries dentaires, sachant que l'environnement canalaire fournit un habitat sélectif pour une certaine flore microbienne, principalement anaérobique (Nair, 2006). L'agent bactérien est donc indispensable à l'installation et à la progression de l'infection canalaire et péri-apicale même si de nombreux facteurs physiques, chimiques ou encore thermiques peuvent induire une inflammation (Le Sidaner, 2016).

1.2. Maladies endodontiques primaires

Les infections endodontiques dites primaires ce sont des altérations provoquées par des micro-organismes colonisant initialement le système endodontique. Ces infections peuvent entraîner des parodontites apicales qu'elles soient aiguës ou chroniques (PAA ou PAC). Dans la littérature française on parle de LIPOE : lésion inflammatoire péri-apicale d'origine endodontique (Boisseau, 2010).

1.3. Maladies endodontiques secondaires

Les infections endodontiques dites secondaires sont provoquées par des micro-organismes qui n'étaient pas présents au moment de l'infection primaire. À la différence des infections endodontiques primaires, la flore bactérienne isolée est beaucoup plus restreinte en nombre d'espèces. C'est sans doute à cause des conditions extrêmes auxquelles seuls quelques microorganismes peuvent survivre et proliférer. La plupart des études, ayant essayé d'isoler les microorganismes responsables des infections endodontiques, ont trouvé que ces infections ont été causées principalement par les deux espèces pathogènes *Enterococcus faecalis* et *Candida albicans*. Il a été démontré dans ces recherches que la cause probable de la persistance de ces pathogènes étaient leurs résistances aux solutions d'irrigation généralement utilisées (Arias-Moliz *et al.*, 2008). En effet la persistance de bactéries dans le système endocanalaire dentaire est l'origine d'une grande partie des échecs rencontrés en endodontie (Siqueira Jr et Rôças, 2008; Siqueira Jr et Sen, 2004).

1.4. Microbiologie des racines dentaires

Les bactéries sont les principaux micro-organismes impliqués dans la parodontite apicale. Les espèces colonisant la cavité pulpaire radiculaire entrent en contact avec les tissus péri radiculaires via les foramens apicaux et latéraux. Suite à la rencontre entre ces

microorganismes et les défenses de l'hôte, des changements inflammatoires s'installent dans les tissus péri radiculaires et sonnent le départ du développement d'une parodontite apicale. Suite à la nécrose pulpaire, il se peut que les défenses de l'hôte soient inefficaces pour inhiber la croissance des bactéries ; celles-ci formeront des biofilms qui envahiront toute l'anatomie complexe de la cavité pulpaire radiculaire et irriteront les tissus péri-radiculaires (Simon *et al.*, 2012).

1.4.1. *Enterococcus faecalis* est l'agent étiologique responsable d'échecs endodontiques

La flore bactérienne présente dans les racines dentaires lors d'un échec de traitement endodontique est différente de celle retrouvée lors d'une infection endodontique primaire (nécrose est pulpaire non traitée) (Sundqvist et Figdor, 2003). Après une irrigation, une sorte de sélection importante s'exerce au sein du canal dentaire face au quelle seulement 1 à 3 espèces s'en échappent. Il s'agit principalement de la bactérie à Gram positif *Enterococcus faecalis* représentant jusqu'à 70% de la flore des parodontites apicales persistantes (Simon *et al.*, 2012). Ceci est due que cette espèce, *Enterococcus faecalis*, est la seul ayant la capacité d'adhérer au collagène dentinaire, de coloniser la surface intra-radiculaire, de résister envers les désinfectants utilisés au cours d'une irrigation, ainsi de survivre dans des conditions environnementales extrêmes caractérisant le canal dentaire (Berger, 2010).

1.4.2. *Enterococcus faecalis*

1.4.2.1. Généralités

Les entérocoques, considérées comme des agents pathogènes opportunistes, sont des habitants naturels de la cavité buccale, de la microflore intestinale et des voies génitales féminines, tant chez l'homme et l'animal (Mohamed et Huang, 2007). *Enterococcus faecalis* figure 1 est la souche d'entérocoque la plus répandue et elle est responsable jusqu'à 80 à 90% des infections à entérocoque humain (Jett *et al.*, 1994).

Enterococcus faecalis est un cocci à Gram-positif, anaérobie facultatif, non sporulant (Jain *et al.*, 2016). Il est l'agent étiologique responsable des complications graves. C'est le fait que cette bactérie possède non seulement de nombreux facteurs de virulence, mais également une résistance endogène aux conditions écologiques extrêmes et aux antimicrobiens, ce qui permet à *E. faecalis* de tolérer des conditions environnementales difficiles dans certains sites de la cavité buccale, en particulier dans le canal radiculaire (Benbelaïd *et al.*, 2014).

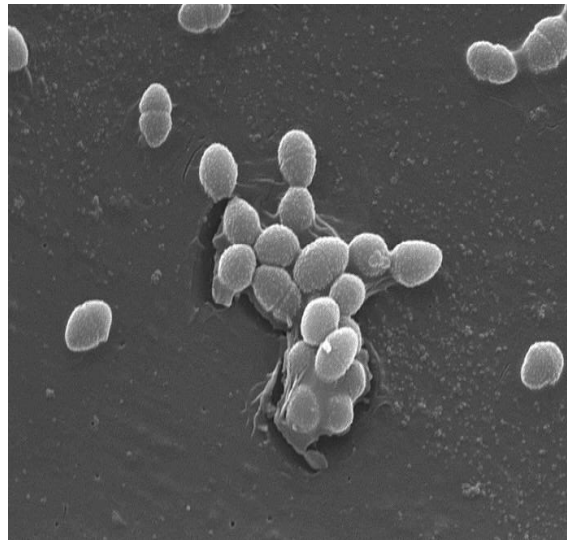


Figure 1. Vue en microscope électronique d'*Entérocooccus faecalis* (Berger, 2010).

1.4.2.2. Pouvoir pathogène

Enterococcus faecalis est actuellement considérée comme l'une des causes majeures d'infections nosocomiales (Muller *et al.*, 2008). Dans la cavité buccale, *Enterococcus faecalis* est responsable de plusieurs pathologies, notamment les caries dentaires, les abcès dentaires, les infections parodontales, les parodontites apicales et les infections endodontiques persistantes (Benbelaïd *et al.*, 2014). *Enterococcus faecalis* à développer au cours du temps des résistances élevées aux agents antimicrobiens et elle possède de nombreux facteurs de virulence telles que les substances d'agrégation, les protéines de surface, gélatinase, production de super oxyde extracellulaire, polysaccharides capsulaires. *Enterococcus faecalis* est reconnue comme un pathogène humain potentiel, causant 12% des toutes les infections hospitalières (Rodríguez-Niklitschek et Oporto, 2015).

1.4.2.3. Résistance envers les agents antimicrobiens

a) Antibiotiques

Les antibiotiques sont, par définition, « des produits microbiens, ou leurs dérivés, capables de tuer les bactéries sensibles ou d'inhiber leur croissance » (Van Lenten *et al.*, 1995). Leur action étant spécifique et dirigée contre les bactéries, ils ne sont pas toxiques pour les cellules eucaryotes. Les entérocoques sont considérés comme des agents pathogènes opportunistes résistants aux antibiotiques, souvent retrouvés chez des patients ayant hospitalisé pour des périodes prolongées. Ces bactéries présentent des résistances intrinsèques

à plusieurs antibiotiques, ainsi qu'une capacité d'acquérir rapidement des résistances envers d'autres antibiotiques (Lins *et al.*, 2013). *Enterococcus faecalis* est considérée comme l'espèce la plus significative, à la fois en terme de fréquence d'isolement des sites d'infection et en terme de résistance vis-à-vis les antibiotiques (Jain *et al.*, 2016).

b) Antiseptiques/désinfectants

Les infections d'origine endodontique sont principalement traitées au moyen de procédures mécaniques à l'aide de substances chimiques. De nombreux irrigants ont été recommandés pour le traitement des infections canalaires. tels que L'hypochlorite de sodium (NaOCl) et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) sont utilisés comme agents d'irrigation du canal radiculaire (Tavares *et al.*, 2009). *E. faecalis* de persister dans le canal radiculaire est sa capacité à survivre aux agents antimicrobiens classiques utilisés pendant le traitement endodontique (Rodríguez-Niklitschek et Oporto, 2015). *E. faecalis* est connu pour résister à un pH élevé d'hydroxyde de calcium. La résistance à la destruction de l'hydroxyde de calcium présentée par *E. faecalis* est partagée par d'autres micro-organismes associés aux échecs du traitement endodontique (Rodríguez-Niklitschek et Oporto, 2015). Et il y'a une capacité à pénétrer profondément dans les tubules est attribuée à Ace, un facteur d'adhésion bactérien (Sinha *et al.*, 2017).

Chapitre 2.

Les huiles essentielles

2.1. Généralités

Les huiles essentielles sont des produits de composition généralement complexe (Goetz et Ghedira, 2012) bio synthétisées comme métabolites secondaires par les plantes odorantes, dites aromatiques. Ces plantes se caractérisent par la présence de structures sécrétrices des huiles essentielles dans presque tous leurs organes (fleurs, graines, racines, feuilles, fruits...). Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée. Les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales (Bouhdid *et al.*, 2012). La structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant d'une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés (Blobel et Dobberstein, 1975). Généralement, les composés majoritaires déterminent le chemotype (ou chimiotype) à l'origine des propriétés biologiques des huiles essentielles de la plante (Bakkali *et al.*, 2008). Les huiles essentielles sont les substances bioactives les plus importantes dans les plantes médicinales en possédant une bonne activité antimicrobienne. Ces substances d'origine végétales peuvent remplacer les traitements par les antibiotiques et la désinfection à l'aide d'antiseptiques (Benbelaid *et al.*, 2014).

2.2. Activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne d'une huile essentielle semble être influencée par la structure chimique des molécules aromatiques, leurs proportions ainsi que par leurs actions combinées à plusieurs niveaux de la structure bactérienne. Certaines études ont montré que l'huile essentielle intégrale donne une activité antibactérienne plus importante que le mélange des composants majoritaires. Cela laisse penser que les molécules minoritaires sont également impliquées dans ce processus biologique et qu'un effet synergique ou additif peut avoir lieu entre les différents composants d'une huile (Bouhdid *et al.*, 2012).

2.2.1. Activité anti-biofilm

Les huiles essentielles sont avérées très efficaces vis-à-vis des biofilms microbiennes, où elles peuvent agir de plusieurs façons. Les huiles essentielles à faible concentration inhibent la formation des biofilms bactériens par plusieurs mécanismes. Notamment, l'activation des gènes de réponse contre-stress qui à leur tour diminuent la production des polysaccharides extracellulaires (Benbelaid, 2015).

2.3. Mode d'action

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne.

Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP. Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides (El Amri *et al.*, 2014).

Partie Expérimentale

Chapitre 3.

Matériel et Méthodes

3.1. Source du matériel végétal

Trois plantes médicinales ont été sélectionnées pour cette étude (voir annexe 1), en fonction de leur utilisation traditionnelle dans les traitements des pathologies bucco-dentaires. Il s'agit de l'armoise blanche, connue en Arabe par الشيح, son nom scientifique est *Artemisia herba-alba* Asso. Récoltée à Drooh Biskra Mai 2019. Les deux autres plantes ont été remmenées de la région de Tlemcen, à savoir : L'Origan, en Arabe مردقوش, sous le nom scientifique *Origanum vulgare subsp. glandulosum* (Desf.) Ietsw. Récolté en Mars 2019 à Tlemcen, exactement à Attar. *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr. Connue sous le nom نونخة a été récolté en juin 2019 à Tlemcen. Le matériel végétal collecté en pleine inflorescence (compris feuilles, fleurs, tiges, grains) a été séché pendant 10 jours dans un endroit sec, aéré, et en abri de la lumière solaire.

3.2. Obtention des huiles essentielles

La récupération des huiles essentielles a été effectuée par hydro distillation figure 2 à l'aide d'un montage de type Clevenger (Européenne, 2012). 100 g du matériel végétal sec est mise en contact avec de l'eau dans un ballon placé au-dessus d'une source de chaleur. Le ballon est lié à une colonne branchée avec un réfrigérant, permettant la condensation des vapeurs d'eau chargées de gouttelettes d'huile essentielle. Le condensat est récupéré dans une burette graduée dans laquelle le volume de l'huile essentielle est lu directement. Le processus d'extraction a duré de 3 heure.



Figure 2. Extraction des huiles essentielles

3.3. Conservation

Après extraction, les huiles essentielles récupérées ont été déshydratées sur le sulfate de magnésium ($MgSO_4$), puis conservées à 4 °C dans des flacons spécifiques fumés jusqu'à leur utilisation.

3.4. Souches d'*Enterococcus spp*

3.4.1. Origine

3.4.1.1. Souches de référence

Dexu souches de référence ATCC (American Type Culture Collection) ont été utilisées dans cette étude à savoir : *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Enterococcus faecalis* ATCC 49452, obtenues de la part de laboratoire LAMAABE, université de Tlemcen. La revivification, purification et conservation de ces souches de référence ont été effectuées ainsi:

A partir des cultures conservées, des gouttes de culture bactériennes sont prises à l'aide d'une anse de platine. Ces gouttelettes sont inoculées dans des tubes à essai contenant 5 ml de Bouillon BHIB (Brain Heart Infusion Broth) (Conda Pronadisa™, Espagne), puis incubés pendant 24 h à 37 °C pour leur enrichissement figure 3.



Figure 3. Enrichissement des souches de référence.

Après enrichissement, les cultures sontensemencées par méthode d'épuisement sur un milieu sélectif la gélose bile esculine azide BEAA (Conda Pronadisa™, Espagne) figure 4

pour leur purification. Les colonies poussant en noir après incubation durant 24 h à 37 °C ont été étudiées par coloration de Gram figure 5, puis conservées sur une gélose nutritive inclinée à 4 °C.



Figure 4. Ensemencement des souches de référence

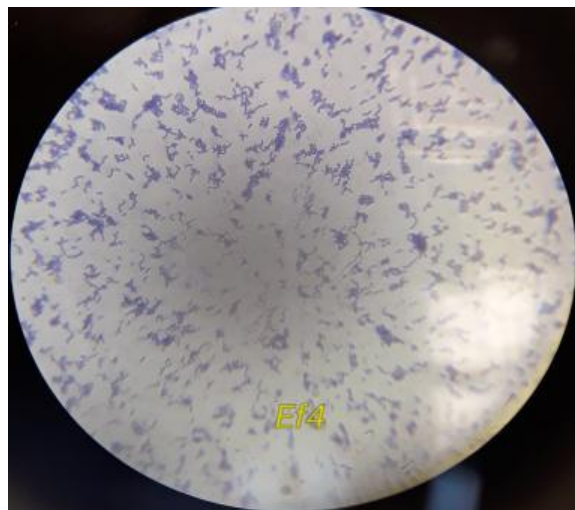


Figure 5. Observation microscopique des souches de référence d'*E faecalis* (ATCC49452)

3.4.1.2. Souches cliniques

Les souches cliniques utilisées dans ce travail (tab. 1) ont été obtenues auprès de différentes cliniques dentaire d'hôpital de djamaa à partir des traitements endodontiques.

Tableau 1. Donnés sur les souches cliniques étudiées

Patients	Sexe	Age	Région	Diagnostique
1	Femme	28	Djamaa	Pulpite
2	Femme	20	Djamaa	Gangrène
3	Homme	32	Zawiya	Pulpite
4	Femme	38	Djamaa	Dentinite
5	Homme	25	Marara	Pulpite
6	Femme	47	Djamaa	Pulpite
7	Homme	36	Sidi Amran	Abcès dentaire
8	Femme	28	Tendla	Nécrose
9	Homme	35	Djamaa	Granulons inflammatoire
10	Femme	27	Djamaa	Pulpite
11	Femme	39	Djamaa	Pulpite
12	Homme	31	Djamaa	Pulpite
13	Femme	39	Djamaa	Pulpite
14	Homme	33	Sidi Amran	Pulpite

3.4.1.3. Prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés par écouvillonnage à partir des racines dentaires infectées lors des traitements endodontiques. Les échantillons sont placée dans une solution d'eau physiologique ont été immédiatement transportés au laboratoire dans une glacière.

Au niveau de laboratoire, les écouvillons sont immergés dans des tubes à essai contenant 5 ml de Bouillon BHIB pour leur enrichissement. Les tubes ont été incubés pendant 24 h à 37 °C.

Après incubation, les cultures positives sont ensemencées par méthode d'épuisement sur la gélose sélective BEAA figure 6, puis incubés durant 24 h à 37 °C. Ultérieurement, les colonies ayant poussé avec noircissement du milieu sont supposées comme des souches d'Entérocoques, ainsi conservées sur une gélose nutritive inclinée à 4 °C pour des tests d'identification.



Figure 6. Ensemencement des souches clinique sur le milieu BEAA par méthode d'épuisement

3.4.1.4. Identification

La croissance des souches étudiées sur la gélose Bile Esculine Azide (BEAA) représente la première étape d'identification car seules les espèces d'Entérocoques et de Streptocoques ont la capacité de résister face aux azide de sodium et les sels biliaire contenant dans ce milieu sélectif. D'autres tests ont été utilisés pour confirmer le genre des souches incluant la coloration de Gram et le test de catalase. Tandis que pour différencier entre les Streptocoques et les Entérocoques, plusieurs tests ont été réalisés à savoir: la croissance sur milieu hyper salé, la résistance à la chaleur, résistance au tellurite de potassium.

a) Coloration de Gram

La réalisation d'une coloration de Gram nécessite la préparation d'un frottis et de le fixer sur une lame propre. Par la suite, 1 à 2 gouttes de violet de gentiane sont déposées sur le frottis préparé pendant 1min, puis des gouttes du Lugol ont été appliquées durant 1min sur le violet de gentiane pour le mordantage. Au-delà, les lames sont bien rincées par l'eau distillées, ainsi décolorées rapidement en versant l'alcool éthylique goutte à goutte. Un autre rinçage a été appliqué pour éliminer les traces d'alcool. La contre coloration est effectuées par

la fuchsine basique pendant 1min, ensuite les lames sont rincées et séché en utilisant le papier absorbant.

L'observation au microscope optique est réalisée à l'objectif (GX 100) (déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis coloré).

b) Teste de catalase

Pour réaliser ce test nous avons sélectionné les colonies ayant poussées sur M17-glucose une parcelle de colonies est prélevée et mise contact avec une goutte d'eau oxygénée sur une lame propre. Une catalase positive se traduit par le dégagement de bulle d'air, alors que les colonies catalase négative ont été sélectionnées pour la suite de l'identification (Belaid et Hocine, 2017).

c) Croissance sur bouillon hyper salé

Une eau peptonée (50ml) additionnée de 3.25g de NaCl est utilisée pour sélectionner les souches d'Entérocoques et des souches de Streptocoques. Des tubes de bouillon hyper salé sont inoculés par les souches étudiées, puis incubés à 37°C pendant 24 à 48 h. Les cultures positives ont été considérées comme des souches halotolérantes (Belaid et Hocine, 2017).

d) Résistance à la chaleur

Pour réaliser ce test nous avons ensemencement 2 à 3 colonies ayant poussées sur gélose M17-glucose dans des tubes qui est contient 3ml de bouillon M17 additionnée 0,15 ml de glucose puis placées 30 min au bain marie à 60°C. Par la suite, les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 à 48 h. Les cultures positives ont été considérées comme des souches thermorésistantes (Belaid et Hocine, 2017).

e) Résistance au tellurite de potassium

Les Entérocoque possèdent un pouvoir réducteur, car ils sont capables de réduire le tellurite de potassium, qui constitue souvent une substance inhibitrice pour les autres espèces (Belaid et Hocine, 2017).

Pour réaliser ce test nous avons ensemencement 2 à 3 colonies ayant poussées sur gélose M17-glucose dans les tubes qui contient 4,5 ml de bouillon nutritif est additionné de 0,5 ml de tellurite de potassium préalablement dilué à 1/250 (1ml de tellurite de potassium est dilué dans 249 ml d'eau distillée). Par la suite incubé à 37°C pendant 24 à 48 h. Les cultures positives ont été considérées comme des souches capables de réduire le tellurite de potassium.

3.4.2. Evaluation de la sensibilité des souches d'*Enterococcus spp* vis-à-vis des agents antimicrobiens

3.4.2.1. Revivification des souches

Les souches de références ainsi que les souches cliniques ont été revivifiées par ensemencement dans des tubes remplies de Bouillon BHIB, puis incubées pendant une nuitée à 37°C.

3.4.2.2. Standardisation des inocula

La réalisation des tests d'activité antibactérienne nécessite la standardisation des suspensions bactériennes à étudier selon les recommandations de l'EUCAST (Testing, 2019). Les inocula sont préparés ainsi :

Après revivification des souches, une quantité de suspension bactérienne est mis dans des tubes à hémolyse stériles, puis diluées par l'ajout de bouillon Müller-Hinton (Conda Pronadisa™, Espagne). Ensuite, les tubes à hémolyse sont bien homogénéisés à l'aide d'un vortex, puis standardisée à une charge microbienne égale à 10^8 UFC/ml qui correspond à 0,5 Mc Farland. La standardisation est effectuée par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm, l'absorbance doit comprise entre 0,08–0,13.

3.4.2.3. Antibiogramme

L'antibiogramme a été réalisé selon les recommandations de l'EUCAST (Testing, 2019). Des boîtes de pétri préalablement remplies par 15 ml de la gélose Müller-Hinton (Conda Pronadisa™, Espagne) sont ensemencées par écouvillonnage à partir des inocula standardisés à 10^8 UFC/ml. À l'aide d'un écouvillon stérile, introduit dans la suspension bactérienne et essoré contre la paroi interne du tube, des stries parallèles et aussi serrées que possible sont réalisées à la surface de la gélose. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte 60° et en tournant l'écouvillon sur lui-même. Au-delà, les disques d'antibiotiques : ciprofloxacine (5µg), Gentamicine (30µg), Amoxicilline (2µg) sont déposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile. Les résultats sont lus après incubation pendant 24 h à 37°C par mesure des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

3.4.3. Activités antimicrobiennes des Huiles essentielles vis-à-vis les souches *E. spp*.

3.4.3.1. Aromatogramme

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées a été évaluée par la technique de diffusion en gélose (Bauer *et al.*, 1966) appelé aussi aromatoگرامme ou méthode de Vincent.

Des disques en papier filtre à 6 mm de diamètre sont imprégnés de 5 µl d'huile essentielle et déposés sur la surface gélosée pré-ensemencée par écouvillonnage avec de la suspension microbienne standardisée. Les souches sont ensemencées sur gélose Müller-Hinton et incubées à 37 °C pendant 24 h. Après incubation, les résultats sont lus par la mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres (mm) à l'aide d'un pied à coulisse.

3.4.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI » des huiles essentielles

Les concentrations minimales inhibitrices des huiles essentielles étudiées ont été déterminées à l'aide des microplaques stériles à 96 puits figure 7 à l'aide d'une technique modifiée de (Wiegand *et al.*, 2008). Tout d'abord, Dix concentrations de chaque huile essentielle sont préparées par dilution 1/2 à partir d'une solution mère contenant 400 µl d'huile essentielle et 10 µl de Tween 80 dilués ensemble dans un 590 µl bouillon Muller-Hinton. Les dilutions sont réalisées dans un mélange de bouillon Müller-Hinton additionné de Tween 80 pour garder la concentration de ce dernier constante. Ensuite, les microplaques sont préparées par la combinaison de 90 µl de l'inoculum à 10^5 UFC/ml (obtenu par dilution 1/1000 de l'inoculum 10^8 UFC/ml par le Bouillon Müller-Hinton) avec 10 µl de chaque concentration de l'huile essentielle. La fourche de concentrations finales obtenues dans les puits de (1 à 10) était comprise entre 4% et 0,008%. Le onzième puits est rempli par 100 µl de bouillon stérile comme témoin négatif pour vérifier les contaminations. Tandis que le douzième puits est rempli par la suspension microbienne additionnée de Tween 80 à 0.1% pour vérifier l'effet de ce dernier, il s'agit du témoin positif.

Les CMI ont été déterminées après incubation de 24 h à 37°C en tant que la plus faible concentration de l'huile essentielle pour laquelle la croissance microbienne n'est pas observée à l'œil nu.



Figure 7. Préparation de microplaque pour déterminée CMI de l'huile essentielle

3.4.3.3. Détermination des CMI de la formation de biofilm

Les CMI de la formation de biofilms ont été déterminées selon la méthode de (Labrecque *et al.*, 2006). Après l'incubation 24 à 48 h et lecture des CMI de la croissance, les cellules microbiennes flottantes sont jetées. Les puits sont ensuite rincés trois fois par l'eau distillée pour éliminer les cellules faiblement adhérentes, A l'aide d'une micropipette, 100 μ l de cristal violet à 0.4% est ajoutée dans chaque puits pendant 15min pour colorer les biofilms. Les puits sont ensuite rincés trois fois par l'eau distillée pour éliminer le cristal violet non lie, puis sèches à 37 °C pendant 30 min. Puis l'ajoute d'un volume de 100 μ l d'éthanol à 95 % dans chaque puits, la plaque est agitée pendant 10 min afin de libérer la coloration à partir des biofilms. Les CMI de la formation de biofilms sont déterminées à l'œil nu figure 8.

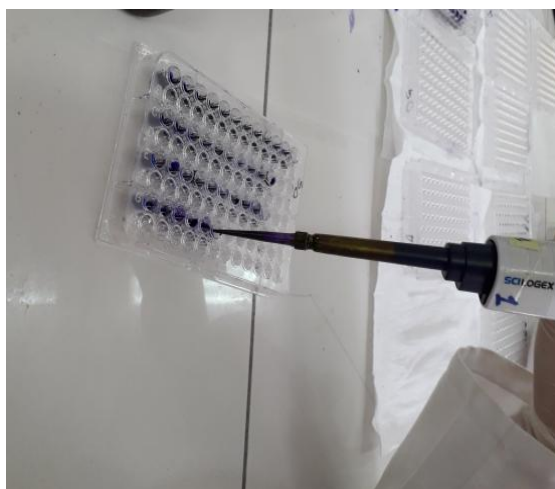


Figure 8.Préparation de microplaque pour déterminer la CMI de la formation de biofilm

Chapitre 4.

Résultats et Discussion

4.1. Rendements en huiles essentielles

Les rendements en huiles essentielles en pourcentage (%) volume/poids (v/p) calculés par rapport au poids frais sont récapitulés dans le (tab.2)

Tableau 2. Rendements en huiles essentielles

Espèces	Teneur A%	Durée (h)
<i>Origanum vulgare subsp. glandulosum</i>	2.2	3
<i>Artemisia herba-alba</i>	2.1	3
<i>Ammoides pusilla</i>	1.6	3

D'après le tableau ci-dessus, on remarque que les rendements en huiles essentielles des plantes étudiées varient de 1.6% à 2.2%. Les deux espèces *Origanum vulgare subsp. glandulosum* et *Artemisia herba-alba* ont donné un excellent rendement d'huile selon les moyennes rapportés en bibliographie (Européenne, 2012). Tandis que l'espèce *Ammoides pusilla* a produit la plus faible quantité de huiles essentielles mais ça reste quand-même une bonne teneur en huiles essentielles.

D'après la bibliographie, nous avons trouvé des études ayant rapporté les rendements en huiles essentielles des mêmes espèces étudiées (tab.3) selon lesquelles on constate une légère différence du rendement à cause de plusieurs facteurs biotiques et abiotiques notamment, la période de récolte, la localisation géographique, l'hygrométrie, le type de sol est d'autres.

Tableau 3. Comparaison des rendements en huiles essentielles des plantes étudiés avec d'autres travaux

Espèces	Teneur A(%)	Teneur B (%)	Références
<i>Origanum glandulosum</i>	2.2	1.93	(Benbelaïd <i>et al.</i> , 2014)
<i>Artemisia herba-alba</i>	2.1	2,46	(Abdoune, 2013)
<i>Ammoides pusilla</i>	1.6	1.43	(Abdoune, 2013)

Teneur A: résultats de cette étude, Teneur B: résultats d'autres auteurs.

4.2. Identification des souches cliniques d'entérocoques

Les résultats de l'identification des souches cliniques sont notés dans le (tab.4).

Tableau 4. Résultat d'Identification des souches clinique d'entérocoque isolées au niveau d'hôpital Djamaa

Souches	Isolement sur BEA	Coloration de Gram	Catalase	Résistance à la chaleur 60°C/30min	Croissance sur bouillon hyper salée	Réduction de tellurite de potassium
ATCC 49452	Culture positive, colonies grise avec un halon noire	Coque à gram positif, disposé en Chainettes	Catalase négative	Virage de couleur ver jaune orange	Trouble	dépôt noir
ATCC 29212	+	+	-	+	+	+
P1	+	+	-	+	+	+
P2	+	+	-	+	+	+
P3	+	+	-	+	+	+
P4	+	+	-	+	+	+
P5	+	+	-	+	+	+
P6	+	+	-	+	+	+
P7	+	+	-	+	+	+
P8	+	+	-	+	+	+
P9	+	+	-	+	+	+
P10	+	+	-	+	+	+
P11	+	+	-	+	+	+
P12	+	+	-	+	+	+
P13	+	+	-	+	+	+
P14	+	+	-	+	+	+

4.2.1. Examen Macroscopique

L'examen macroscopique des colonies ayant poussées sur le milieu BEA figure 9 à l'aide d'une loupe (Grossissement x10) a montré de petites colonies translucides, bombée, à bord lisse et entourées d'un halo noir pour l'ensemble des souches cliniques et les souches de références (ATCC 49452, ATCC 29212).

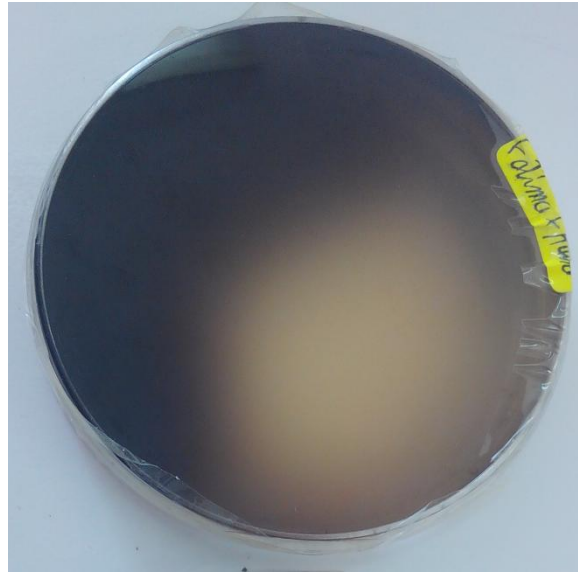


Figure 9. Milieu BEA après l'incubation.

La croissance des souches sur le milieu BEA nous indique que ces bactéries sont résistantes à la fois vis-à-vis les sels biliaires et l'azide de sodium. Cependant, l'apparition de la couleur noir est due à l'hydrolyse du polyside complexe "esculine" en libérant de l'aglucone qui est décelée par une réaction chimique en présence de sels de fer (Chuard et Reller, 1998).

L'examen macroscopique des souches ayant poussées sur le milieu GM17 figures 10 montre que les colonies de ces bactéries sont petites, bombées, blanchâtres, opaques, à contour limités et réguliers pour l'ensemble des souches clinique et les souches de références (ATCC 49452, ATCC 29212).

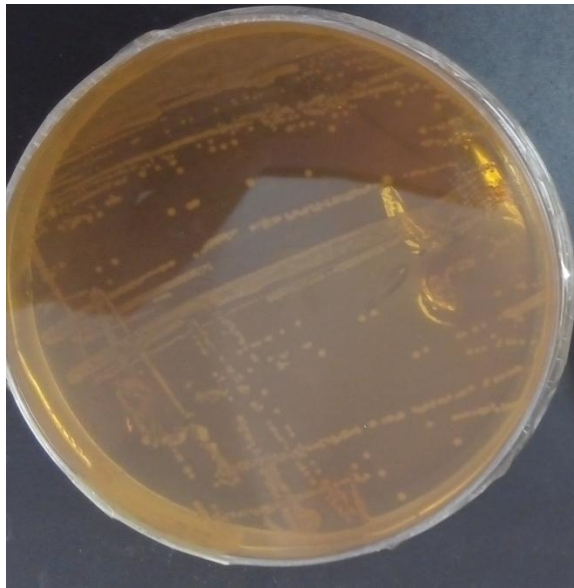


Figure 10. Milieu GM17 après l'incubation.

En revenant à la bibliographie, nous avons confirmé que ces caractéristiques macroscopiques répondent belle et bien aux descriptions culturales et phénotypiques générales des Entérocoques et les Streptocoques (Terzaghi et Sandine, 1975)

4.2.2. Examen Microscopique

L'aspect microscopique des souches cliniques figure 11 et des souches de références après la coloration de Gram a révélée des formes cellulaires en cocci, disposées en paire (diplocoques) ou en courtes chainettes de couleur Violettes. Par conséquent, ces souches sont confirmées comme des bactéries à Gram positif répondant au type de Gram des Entérocoques et les Streptocoques (Franz et Holzapfel, 2004).

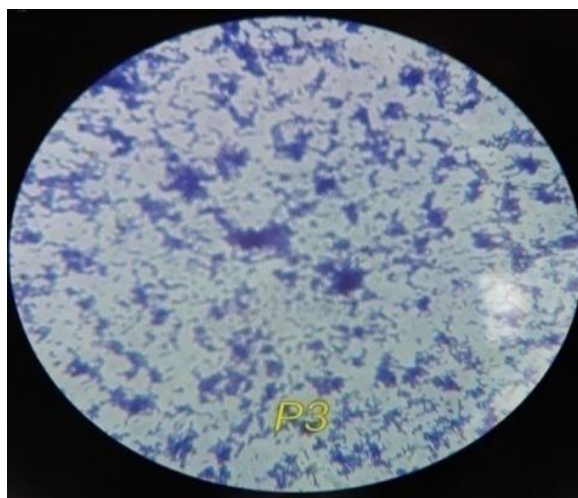


Figure 11. Observation microscopique de souche clinique (p3)

4.2.3. Test de catalase

Le test de catalase s'est révélé négatifs pour tous les isolats et les souches de références (ATCC 49452, ATCC 29212) figure 12. Ceci indique que toutes les souches sont dépourvues d'une activité catalases, permettant de les classer parmi les streptocoques et les entérocoques

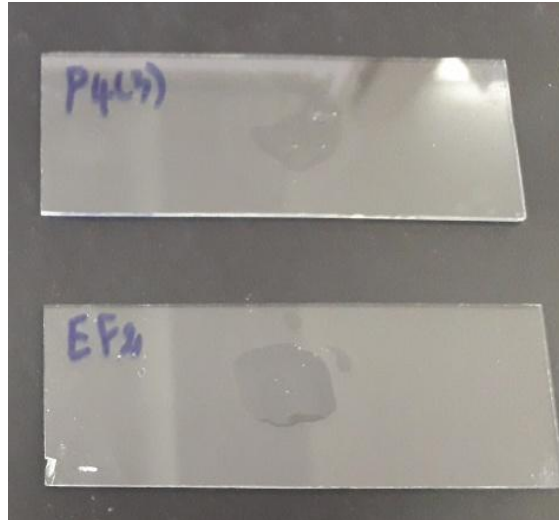


Figure 12. Résultat de test catalase de la souche de référence (ATCC 29212) et souche clinique (p4)

4.2.4. Test de Résistance à la chaleur 60°C/30min et test de Croissance sur bouillon hyper salée

Les entérocoques et les streptocoques partagent les mêmes critères macroscopiques (types de colonies) et microscopiques (coques, Gram+ en diplocoques ou en petites chaînettes).

Donc, pour différencier entre ces deux genres (Streptocoques et Entérocoques) les tests de résistance à la chaleur et de croissance sur un milieu hyper salé sont toujours utilisés pour distinguer entre ces deux genres.

Les résultats obtenus montrent que toutes les souches testées, que ce soit cliniques ou bien de références, sont capables de résister au traitement thermique de 63°C pendant 30 minutes et peuvent croître dans un milieu hyper salé de 6.5 % de NaCl figure 13/14.

Ainsi, nous avons la possibilité de dire que toutes les souches prélevées à partir des infections dentaires étaient des Entérocoques (Schleifer et Kilpper-Bälz, 1987).

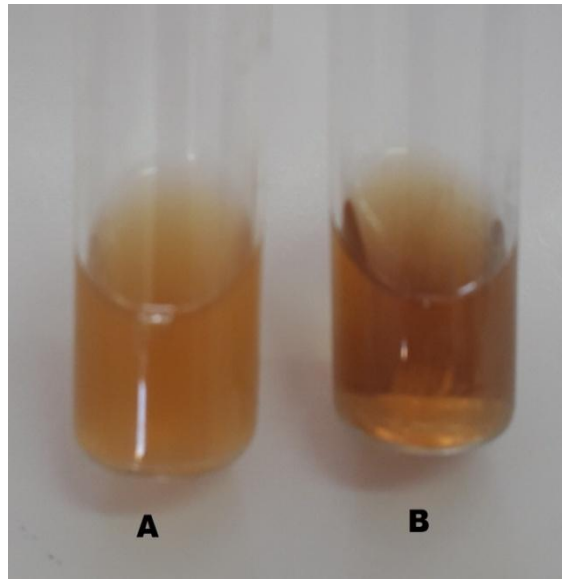


Figure 13. Résultat de résistance à la chaleur (60°C pendant 30 min) de la souche clinique avant (A) et après (B) l'incubation.



Figure 14. Résultat de la croissance sur bouillon hyper salé de la souche clinique après l'incubation

4.2.5. Test de la réduction de tellurite de potassium

La croissance en présence de tellurite de potassium est une caractéristique des Entérocoques notamment l'espèce *Enterococcus faecalis*. En effet plus de 90 % des souches de cette espèce peuvent se multiplier en présence de 0,04 % de tellurite de potassium en donnant des colonies noires (Bouvet et Couvry, 1994).

Par conséquent, nous avons ajouté ce test pour trancher que les souches cliniques étudiées appartiennent belle et bien au genre *Enterococcus*. Pour cela, un bouillon additionné de tellurite de potassium a été utilisé. Les résultats de notre étude montrent que l'ensemble de souches isolées sont de croître dans ce bouillon en donnant des colonies noires figure 15.

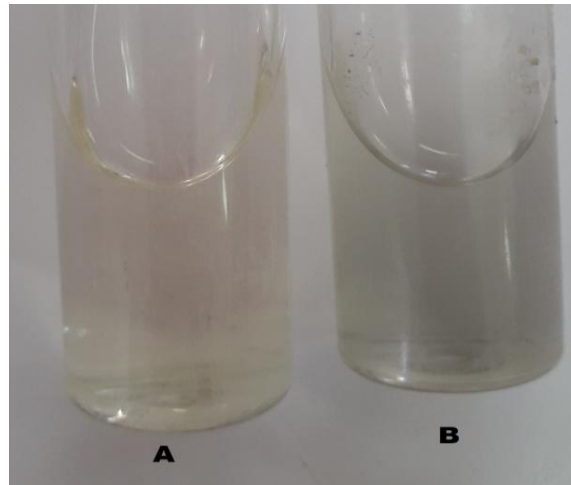


Figure 15. Résultat de test de la réduction de tellurite de potassium avant (A) et après (B) l'incubation

4.3. Les résultats d'antibiogramme

Quatorze souches ont été identifiées par des tests biochimiques comme étant des Entérocoques. Les résultats de l'antibiogramme de ces souches d'*Enterococcus spp* sont reportés (voir annexe 2). D'après ces résultats, nous avons remarqué que toutes les isolats sont sensibles vis-à-vis de l'amoxicilline (2 μ g), et la ciprofloxacine (5 μ g) qui sont parmi les antibiotiques les plus utilisés dans le traitement des différents infections de la cavité buccale (Pye *et al.*, 2009). D'autre part, des résistances envers la Gentamicine (30 μ g) ont été constatées avec un taux de (35.71%).

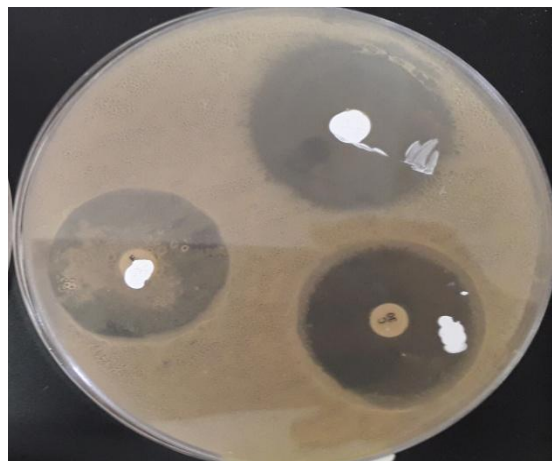


Figure 16. Résultat d'antibiogramme

En comparant nos résultats avec ceux obtenus par d'autres auteurs, nous avons persuadé des similarités. Par exemple Benbelaid (2015) a étudié la résistance des souches d'*Enterococcus faecalis* isolées des infections des racines dentaires. Cet auteur a trouvé un même taux de sensibilité équivalent de 100% vis-à-vis de l'amoxicilline, un taux de sensibilité envers la gentamicine proche de le nôtre. Tandis que le taux de résistance vis-à-vis Ciprofloxacine (16,92%) est différent par rapport à nos souches qui sont en sensibles.

D'autres auteurs ont trouvé des résultats pareils Pinheiro *et al.* (2004) ont constaté que des *Enterococcus faecalis* provenant de canaux dentaires avec des lésions péri apicales se sont révélés sensibles à 100% envers l'amoxicilline et à 80.9% à la ciprofloxacine.

4.4. Effets des huiles essentielles envers *Entérocooccus faecalis*

Pour les tests d'activité antimicrobienne des huiles essentielles, seulement trois souches cliniques ont été sélectionnées (y compris deux souches résistantes envers la Gentamicine et une seule sensible aux antibiotiques) et deux souches de référence *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Enterococcus faecalis* ATCC 49452 (tab. 5).

Tableau 5. Données sur les souches d'entérocoques sélectionnées.

Souches	CIP	GEN	AML	Origine
<i>E. spp₁</i>	S	R	S	Pulpite
<i>E. spp₂</i>	S	R	S	Gangrène
<i>E. spp₃</i>	S	S	S	Abcès dentaire
ATCC 29212	S	R	S	
ATCC 49452	S	S	S	

E.spp (1.2.3): *Enterococcus spp*, CIP : Ciprofloxacine, GEN : Gentamicine, AML : Amoxicilline, R: résistant. S: sensible.

4.4.1. Diamètres des zones d'inhibition

Dans cette partie du travail, nous nous sommes intéressés à étudier l'activité antibactérienne des huiles essentielles des trois plantes médicinales envers les souches d'Entérocoques. Les résultats des diamètres des zones d'inhibitions des huiles essentielles sont présentés dans le (tab.6) ci-dessous.

Tableau 6. Diamètres d'inhibitions des huiles essentielles des trois plantes

Souches	Diamètre (mm)		
	Huile de AHA	Huile de AV	Huile de OG
<i>E.SPP</i> ₁	7.5	15	20
<i>E.SPP</i> ₂	10	15	19
<i>E.SPP</i> ₃	7.5	15	21
R1	7.5	25	29.5
R2	7.5	15	25
Moyenne	8	17	22.9

E. spp (1, 2,3) : *Enterococcus spp*, R1 : souche de référence (ATCC 29212), R2 : souche de référence (ATCC 49452) AHA : *Artemisia herba-alba*. AV: *Ammoides pusilla*, OG : *Origanum vulgare subsp.glandulosum*.

D'après les résultats obtenus figure 17, on remarque que l'huile essentielle la plus active contre les souches cliniques et références d'Entérocoques est l'*Origanum vulgare subsp. glandulosum* avec formation des larges zones d'inhibition (19-29.5 mm). L'huile d'*Ammoides pusilla* a également montré une bonne activité antibactérienne traduite par des zones d'inhibitions plus au moins larges comprises entre 15-25 mm. Par contre, les zones d'inhibition formées par l'huile essentielle *Artemisia herba-alba* étaient réduites (7.5-10 mm) signifiant une activité antimicrobienne modeste. Selon les moyennes des diamètres des zones d'inhibitions on peut classer les huiles essentielles par ordre décroissant comme suit : *Origanum vulgare subsp. glandulosum* (22.9 mm), *Ammoides pusilla* (17 mm), *Artemisia herba-alba* (8 mm).

D'autre part, en comparant entre la sensibilité des souches de référence avec celle des souches cliniques vis-à-vis les huiles étudiées on remarque que les deux souches des références (ATCC 29212, ATCC 49452) sont plus sensibles par rapport aux souches cliniques, notamment envers l'huile d'*Origanum vulgare subsp. glandulosum*.

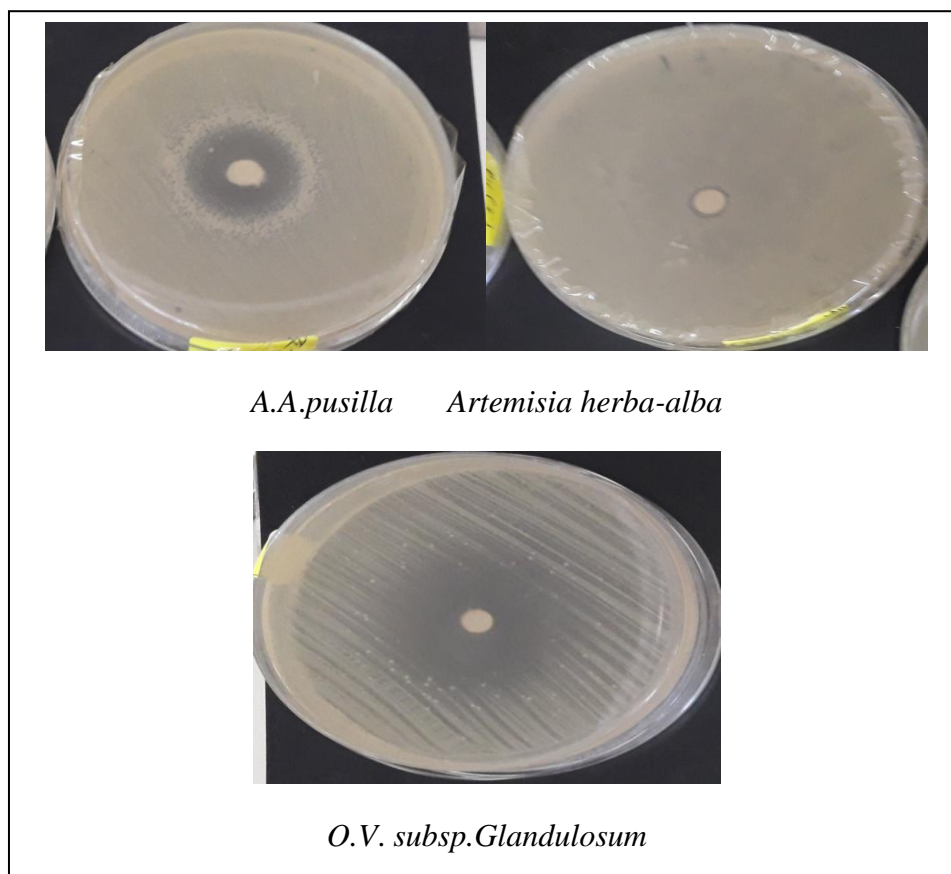


Figure 17. Résultat de l'aromatogramme des trois HEs

En revenant à la bibliographie nous avons remarqué que nos résultats sont concordants avec ceux obtenus par (Abdoune, 2013). A travers cette étude, l'auteur a étudié la sensibilité des souches bactériennes à Gram positif vis-à-vis les mêmes huiles essentielles étudiées dans notre travail. Cet auteur a constaté également que l'huile essentielle d'*A. pusilla* et d'*O. vulgare subsp.glandulosum* possèdent le plus remarquable effet inhibiteur sur *E. faecalis* avec des diamètres de 35 mm et 31 mm, respectivement. Aussi, il à noter que l'huile essentielle d'*A. herba-alba* avait un effet inhibiteur modeste avec formation des étroites zones d'inhibition (14 mm).

4.4.2. Détermination des Concentration Minimales Inhibitrices CMI

La détermination de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles étudiées a été effectuée par la méthode des dilutions en milieu liquide. C'est une technique quantitative qui permet la détermination de l'intervalle des concentrations inhibant effectivement la croissance bactérienne. Les résultats obtenus sont représentés dans le (tab.7) ci-dessous.

Tableau 7. Concentration minimal inhibitrice (%) des trois huiles essentielles

Souches	Concentration minimale inhibitrice CMI %		
	AV	AHA	OG
<i>E. spp₁</i>	0.250	2.000	0.250
<i>E. spp₂</i>	0.250	1.000	0.125
<i>E. spp₃</i>	0.250	1.000	0.125
R ₁	0.250	0.500	0.125
R ₂	0.250	0.500	0.125

E.spp : *Enterococcus spp*, R1 : souche de référence (ATCC 29212), R2 : souches de références (ATCC 49452), AHA: *Artemisia herba-alba*, AV: *Ammoides pusilla*, OG: *Origanum vulgare subsp.glandulosum*

D'après les résultats ci-dessus on constate que les huiles essentielles les plus efficaces dans l'inhibition de la croissance des souches d'Entérocoques étudiées sont celle de l'*Origanum vulgare subsp. glandulosum* et celle d'*Ammoides pusilla* avec des concentration très faibles allant de 0.125% à 0.250%, respectivement. Tandis que l'huile essentielle d'Armoise blanche s'est avérée faible par rapport aux autres huiles étudiées avec une fourche plus au moins étendue allant de 0.5% à 2%, mais ça quand-même une activité antimicrobienne intéressante.

Lorsqu'on compare les résultats des CMI obtenus avec ceux des zones d'inhibitions (aromatogramme) on constate une concordance parfaite tant que pour le classement des huiles actives mais également pour la sensibilité des souches dans laquelle on remarque que les souches cliniques sont moins sensible vis-à-vis les huiles étudiées que les souches de références, notamment l'espèce *Enterococcus spp1*.



Figure 18. Résultat de détermination des CMI de HES d'*Origanum vulgare subsp.glandulosum*

Des travaux antérieurs rapportent l'inhibition de la croissance d'Entérocoques, notamment l'espèce *E. faecalis* par l'huile essentielle d'*Origanum vulgare subsp.glandulosum* (Bouhaddouda, 2015). Dans cette étude, l'auteur a constaté que la souche *E. faecalis* ATCC 29212 était extrêmement sensible vis-à-vis l'huile essentielle d'*O. vulgare subsp.glandulosum* avec une CMI égale à 0.78 mg/ml. On déduit alors que nos résultats obtenus sont très proches de ceux constatés dans cette étude.

4.4.3. Détermination de la CMI de la formation de biofilms CMIB

Les résultats obtenus pour les CMI de la formation de biofilms sont récapitulés dans le (tab.8).

Tableau 8. Concentration minimal inhibitrice (CMI) de la formation de biofilm

Souches	CMI de l'inhibition des biofilms %		
	AV	AHA	OG
<i>E.spp₁</i>	0.063	0.500	0.016
<i>E.spp₂</i>	0.125	0.500	0.016
<i>E.spp₃</i>	0.250	0.500	0.008
R ₁	0.250	0.500	0.008
R ₂	0.125	0.500	0.008

E.spp (1.2.3): *Enterococcus.spp*, R1: souche de référence (ATCC 29212), R2: souches de références (ATCC 49452), AHA: *Artemisia herba-alba*, AV: *Ammoides pusilla*, OG: *Origanum vulgare subsp. glandulosum*.

D'après les résultats ci-dessus on s'aperçoit en premier lieu que les concentrations d'inhibition des biofilms sont nettement inférieures à celles d'inhibition des cellules planctoniques, cela était remarqué pour toutes les souches et les huiles. L'huile essentielle la plus efficace dans l'inhibition de formation des biofilms est l'*O. vulgare subsp. glandulosum* avec de concentrations minimales inhibitrices très faibles allant de 0.008% à 0.016%. Par la suite, l'huile d'*Ammoides pusilla* à inhibé la formation des biofilms des souches d'Entérocoques avec des concentrations faibles ainsi intéressantes de l'ordre 0.250 % jusqu'à 0.063% envers la souche *Enterococcus spp* 1. Alors que l'huile essentielle de l'Armoise blanche était la plus faible parmi les huiles étudiées avec des concentrations d'inhibition des biofilms de 0.5% pour toutes les souches. Ces concentrations restent de toute façon très intéressantes.

On remarque en outre que l'huile essentielle de l'*Ammoides pusilla* a montré des concentrations d'inhibition de biofilm variables entre les souches d'Entérocoques. Tandis que la concentration inhibitrice de biofilm de l'huile d'*Artemisia herba-alba* est constante tant que pour les différentes souches cliniques et les deux souches de référence. Alors que l'huile étudiée la plus active, celle d'Origan, était plus inhibitrice envers les biofilms des souches sensibles aux antibiotiques, y compris les deux souches de référence, que celles ayant présenté des résistances envers l'antibiotique (Gentamicine).

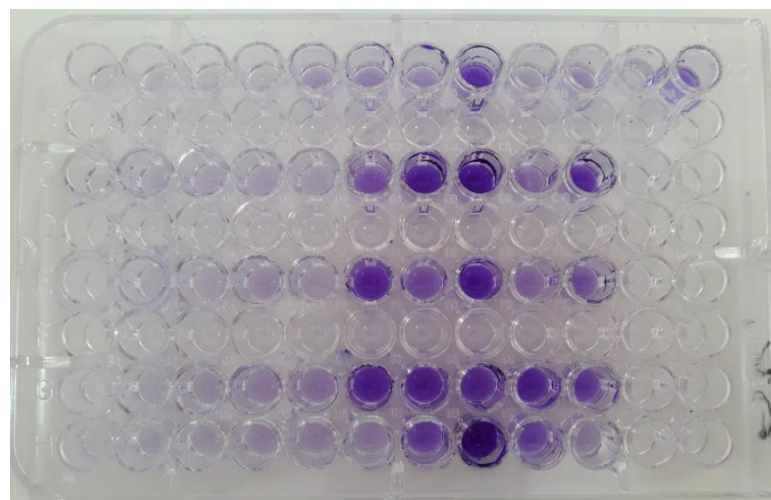


Figure 19. Résultat de détermination de CMIB de HEs d'*Origanum vulgare subsp. glandulosum*

C'est dans cette optique que s'inscrit notre étude qui consiste à tester l'effet des huiles essentielles sur des biofilms déjà formés. La littérature n'apporte aucune information sur l'utilisation de ces huiles essentielles pour l'inhibition de la formation de biofilms. Il y a une seule étude qui rapporte l'effet de l'huile essentielle de *T. capitata* sur la réduction du métabolisme du biofilm déjà formé de *C. albicans* à 62,71 % et sur la réduction de sa biomasse à 71,96 % à une concentration de 0,64 µl/ml (Abdoune, 2013).

D'autres auteurs ont étudié l'effet des huiles essentielles sur des biofilms déjà formés à savoir Nostro *et al.* (2007) ont rapporté que l'effet de l'huile essentielle d'*O. vulgare subsp. Vulgare* et ses composés majoritaires, le carvacrol et le thymol, sur l'éradication des biofilms de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Ils ont trouvé que les CIB (concentration inhibitrice de biofilm) étaient de l'ordre de 0,031–0,500 % (v/v) qui étaient plus élevées que les CMI de la croissance planctonique (0,015–0,125 % (v/v)).

Conclusion

Conclusion

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie (Université de Mohamed Khider Biskra). Les objectifs tracés étaient isoler et identifier des souches d'Entérocoques responsable d'infections dentaires et d'origine dentaire, puis étudier leur phénotype de résistance aux antibiotique et évaluer l'effet des huiles essentielles contre ces souches pathogènes à l'état planctonique et biofilm. Le but final de ce modeste travail était de proposer des solutions d'irrigation alternatives à base des huiles essentielles.

En ce qui concerne les résultats de l'antibiogramme, la plupart de ces souches sont sensibles aux antibiotiques, en particulier l'amoxicilline et la ciprofloxacine, ainsi de très faibles taux de résistances vis-à-vis de la gentamicine ont été constatés.

Trois plantes aromatiques médicinales, largement utilisées par les populations locales, ont été testées dans cette étude à savoir: *Origanum glandulosum*, *Artemisia herba-alba* et *Ammoides pusilla*. Les huiles essentielles issues de ces plantes ont été extraites par hydro-distillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger.

L'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielle des plantes étudiées nous a révélé que l'huile l'*Origanum glandulosum* est la plus active vis-à-vis les souches d'Entérocoques, en donnant de larges zones d'inhibition et des valeurs de CMI très faibles (19 à 29.5 mm ; 0.125 à 0.25%). L'activité antibactérienne effective d'huile d'*Origanum glandulosum* peut s'expliquer par sa richesse en phénols et en mono terpènes oxygénés.

Vu les résultats obtenus, il serait très intéressant de valoriser et de commercialiser des solutions à base d'huile essentielles des plantes étudiées, telles que des bains de bouche et des solutions d'irrigation. Il serait aussi intéressent d'évaluer d'autres métabolites, synthétisés par les plantes, dans les traitements endodontiques.

Références Bibliographiques

Abdoune M. A. (2013). L'effet préventif de quelques huiles essentielles contre la croissance et la formation de biofilms de certains pathogènes de la cavité buccale, Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen. Algeria, 109p.

Arias-Moliz M. T., Ferrer-Luque C. M., Espigares-Rodríguez E., Liébana-Ureña J., Espigares-García M. (2008). "Bactericidal activity of phosphoric acid, citric acid, and EDTA solutions against *Enterococcus faecalis*." Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology 106(2): 84-89.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008). "Biological effects of essential oils—a review." Food and chemical toxicology 46(2): 446-475.

Bauer A., Kirby W., Sherris J. C., Turck M. (1966). "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method." American journal of clinical pathology 45(4): 493-496.

Belaid C., Hocine H. (2017). Isolement et caractérisation des souches d'entérocoques multirésistants en clinique au niveau de l'hôpital d'Amizour. Master, Université A. MIRA - Bejaia. Algeria.

Benbelaid F. (2015). Effets des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur *Enterococcus faecalis* responsable d'infections d'origine dentaire Université de Tlemcen Algeria.

Benbelaïd F., Khadir A., Abdoune M. A., Bendahou M., Muselli A., Costa J. (2014). "Antimicrobial activity of some essential oils against oral multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* in both planktonic and biofilm state." Asian Pacific journal of tropical biomedicine 4(6): 463-472.

Berger L. (2010). Le biofilm bactérien en endodontie DOCTEUR, Université HENRY POINCARÉ. France.

Blobel G., Dobberstein B. (1975). "Transfer of proteins across membranes. II. Reconstitution of functional rough microsomes from heterologous components." The Journal of cell biology 67(3): 852-862.

Boisseau J. (2010). Les irrigants en endodontie: données actuelles, UHP-Université Henri Poincaré. France.

Bouhaddouda N. (2015). Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Doctorat, Université d'ANNABA. Algeria.

Bouhdid S., Abrini J., Baudoux D., Manresa A., Zhiri A. (2012). "Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan: pouvoir antibactérien et mécanisme d'action." *Journal de Pharmacie Clinique* 31(3): 141-148.

Bouvet A., Couvry G. (1994). "Identification des entérocoques en microbiologie clinique." *Médecine et maladies infectieuses* 24: 132-140.

Chuard C., Reller L. (1998). "Bile-esculin test for presumptive identification of enterococci and streptococci: effects of bile concentration, inoculation technique, and incubation time." *Journal of clinical microbiology* 36(4): 1135-1136.

El Amri J., Elbadaoui K., Zair T., Bouharb H., Chakir S., Alaoui T. (2014). "Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées." *Journal of Applied Biosciences* 82(1): 7481-7492.

Européenne P. (2012). *Huiles essentielles*, Conseil de l'Europe.

Franz C., Holzappel W. H. (2004). "The genus *Enterococcus*: biotechnological and safety issues." *Food science and technology* 139: 199-248.

Goetz P., Ghedira K. (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*, Springer

Jain H., Mulay S., Mullany P. (2016). "Persistence of endodontic infection and *Enterococcus faecalis*: Role of horizontal gene transfer." *Gene reports* 5: 112-116.

Jett B. D., Huycke M. M., Gilmore M. S. (1994). "Virulence of enterococci." *Clinical microbiology reviews* 7(4): 462-478.

Labrecque J., Bodet C., Chandad F., Grenier D. (2006). "Effects of a high-molecular-weight cranberry fraction on growth, biofilm formation and adherence of *Porphyromonas gingivalis*." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 58(2): 439-443.

Le Sidaner F. (2016). *Rôle du biofilm dans les infections endodontiques et prise en charge thérapeutique*, éditeur inconnu

Lins R. X., de Oliveira Andrade A., Junior R. H., Wilson M. J., Lewis M. A., Williams D. W., Fidel R. A. S. (2013). "Antimicrobial resistance and virulence traits of *Enterococcus faecalis* from primary endodontic infections." *Journal of dentistry* 41(9): 779-786.

Mohamed J. A., Huang D. B. (2007). "Biofilm formation by enterococci." *Journal of medical microbiology* 56(12): 1581-1588.

Muller C., Sanguinetti M., Riboulet E., Hébert L., Posteraro B., Fadda G., Auffray Y., Rincé A. (2008). "Characterization of two signal transduction systems involved in intracellular macrophage survival and environmental stress response in *Enterococcus faecalis*." *Journal of molecular microbiology and biotechnology* 14(1-3): 59-66.

Nair P. (2006). "On the causes of persistent apical periodontitis: a review." *International endodontic journal* 39(4): 249-281.

Nostro, A., Roccaro, A. S., Bisignano, G., Marino, A., Cannatelli, M. A., Pizzimenti, F. C., & Blanco, A. R. (2007). Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Journal of medical microbiology*, 56(4), 519-523.

Pinheiro E., Gomes B., Drucker D., Zaia A., Ferraz C.,Souza-Filho F. (2004). "Antimicrobial susceptibility of *Enterococcus faecalis* isolated from canals of root filled teeth with periapical lesions." *International endodontic journal* 37(11): 756-763.

Pye A., Lockhart D., Dawson M., Murray C.,Smith A. (2009). "A review of dental implants and infection." *Journal of Hospital infection* 72(2): 104-110.

Rodríguez-Niklitschek C.,Oporto G. H. (2015). "Implicancias clínicas de la contaminación microbiana por *Enterococcus faecalis* en canales radiculares de dientes desvitalizados: Revisión de la literatura." *Revista odontológica mexicana* 19(3): 181-186.

Schleifer K.,Kilpper-Bälz R. (1987). "Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci: a review." *Systematic and Applied Microbiology* 10(1): 1-19.

Simon S., Machtou P.,Pertot W.-j. (2012). *Microbiologie endodontique. Endodontie.* Lionet E. , Lahellec P. Woltres Kluwer France, 2012: 40.

Sinha D. J., Nandha K. D., Jaiswal N., Vasudeva A., Tyagi S. P.,Singh U. P. (2017). "Antibacterial effect of *Azadirachta indica* (Neem) or *Curcuma longa* (Turmeric) against *Enterococcus faecalis* compared with that of 5% sodium hypochlorite or 2% chlorhexidine in vitro." *The Bulletin of Tokyo Dental College* 58(2): 103-109.

Siqueira Jr J. F.,Rôças I. N. (2008). "Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures." *Journal of endodontics* 34(11): 1291-1301.

Siqueira Jr J. F.,Sen B. H. (2004). "Fungi in endodontic infections." *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 97(5): 632-641.

Sundqvist G.,Figdor D. (2003). "Life as an endodontic pathogen: Ecological differences between the untreated and root-filled root canals." *Endodontic Topics* 6(1): 3-28.

Tavares P. B., Bonte E., Boukpepsi T., Siqueira Jr J. F.,Lasfargues J.-J. (2009). "Prevalence of apical periodontitis in root canal-treated teeth from an urban French population: influence of the quality of root canal fillings and coronal restorations." *Journal of endodontics* 35(6): 810-813.

Terzaghi B. E., Sandine W. (1975). "Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages." *Appl. Environ. Microbiol.* 29(6): 807-813.

Testing E. C. o. A. S. (2019). Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST, EUCAST, Fance.

Van Lenten B. J., Hama S. Y., de Beer F. C., Stafforini D. M., McIntyre T. M., Prescott S. M., La Du B. N., Fogelman A. M., Navab M. (1995). "Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response. Loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic wall cell cocultures." *The Journal of clinical investigation* 96(6): 2758-2767.

Wiegand I., Hilpert K., Hancock R. E. (2008). "Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances." *Nature protocols* 3(2): 163-174.

Annexe 1

1-*Ammoïdes pusilla*

Règne: *Plantae*

Classe : *Dicotylédones*

Embranchement : *Spermatophytes*

S/ Embranchement : *Angiospermes*

Ordre : *Apiales*

Famille : *Apiécées* ou *Ombellifères*

Genre : *Ammoïdes* (Koch)

Espèce : *pusilla* ou *verticillata* (Briq)

Nom vernaculaire : Nûnkha



Figure 20. *Ammoïdes pusilla*

2-*Artemisia herba-alba*

Règne: *Plantae*

Division: *Magnoliophyta*

Classe: *Magnoliopsida*

Ordre: *Asterales*

Famille: *Asteraceae*

Genre: *Artemisia*

Espèce: *Artemisia herba alba*



Figure 21. *Arteamisa herba alba*

3- *Origanum vulgare subsp. glandulosum*

Classe : Equisetopsida C.Agardh

Sous-classe : Magnoliidae Novak ex Takht

Sous-ordre : Asteranae Takht

Famille : *Lamiaceae Martinov*

Genre: *origanum* L.

Espèce: *origanum vulgare* L.



Figure 22. *Origanum vulgare subsp glandulosum*

Annexe 2

Tableau 9. Résultats d'antibiogramme des souches d'Entérocoques cliniques.

Souche	CIP	GEN	AML	Origine
<i>E spp1</i>	S	R	S	Pulpite
<i>E spp2</i>	S	R	S	Gangrène
<i>E spp3</i>	S	R	S	Pulpite
<i>E spp4</i>	S	R	S	Dentinite
<i>E spp5</i>	S	S	S	Pulpite
<i>E spp6</i>	S	S	S	Pulpite
<i>E spp7</i>	S	S	S	Abcès dentaire
<i>E spp8</i>	S	S	S	Nécrose
<i>E spp9</i>	S	S	S	Granulons inflammatoire
<i>E spp10</i>	S	S	S	Pulpite
<i>E spp11</i>	S	S	S	Pulpite
<i>E spp12</i>	S	S	S	Pulpite
<i>E spp13</i>	S	R	S	Pulpite
<i>E spp14</i>	S	S	S	Pulpite

ملخص

لا تزال العدوى اللبية المستمرة من بين المشاكل المستعصية لدى أطباء الأسنان. كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الزيوت الأساسية المستخرجة من النباتات الطبية المحلية (*Origanum glandulosum* ، *Artemisia herba-alba* ، *Ammoides pusilla*) ضد *Enterococcus faecalis* ، العامل المسبب لفشل العلاجات اللبية. وتعرضت ثلاث سلالات من المكورات المعوية السريرية وسلالتين مرجعيتين من المعوية البرازية لتأثير الزيوت الأساسية الثلاثة المدروسة في حالة العوالق والبيوفيلم. أظهرت نتائجنا أن الزيت العطري *Origanum glandulosum* كان الأكثر نشاطاً بمتوسط مناطق تثبيط يبلغ 29.5 ملم ومؤشر MIC يبلغ 0.125% و CMIB = 0.008%. بينما أثبتت بقية الزيوت الأساسية أنها أقل فعالية.

الكلمات المفتاحية: التهابات اللبية المستمرة ؛ *Enterococcus faecalis* ؛ الزيوت الأساسية ؛ *Origanum glandulosum* ، *Artemisia herba-alba* ، *Ammoides pusilla*.

Résumé

L'infection endodontique persistante demeure parmi les problèmes incurables pour les chirurgiens-dentistes. L'objectif de cette étude était l'évaluation des huiles essentielles extraites de plantes médicinales locales (*Origanum glandulosum*, *Artemisia herba-alba*, *Ammoides pusilla*) envers *Enterococcus faecalis* l'agent étiologique d'échec endodontique. Trois souches d'Entérocoques cliniques et deux souches de référence *Enterococcus faecalis* ont été soumises à l'effet des trois huiles essentielles étudiées à l'état planctonique et biofilm. Nos résultats montre que l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* était la plus active avec une moyenne des zones d'inhibition de 29.5mm, des CMI de 0.125% et des CMIB=0.008%. Alors que les deux autres huiles essentielles sont s'avérées moins efficaces.

Mots clés : Infections endodontiques persistantes ; *Enterococcus faecalis* ; Huiles essentielles ; *Origanum glandulosum* ; *Artemisia herba-alba* ; *Ammoides pusilla*

Abstract

Persistent endodontic infection remains among the incurable problems for dentists. The objective of this study was to evaluate the essential oils extracted from local medicinal plants (*Origanum glandulosum*, *Artemisia herba-alba*, *Ammoides pusilla*) against *Enterococcus faecalis*, the etiological agent of endodontic failure. Three strains of clinical enterococci and two reference strains *Enterococcus faecalis* were subjected to the effect of the three studied essential oils in their planktonic and biofilm state. Our results show that *Origanum vulgare* essential oil was the most active with an average of inhibition zones of 29.5mm, MICs of 0.125% and CMIB = 0.008%. While the rest of essential oils has proven less effective.

Keywords: Persistent endodontic infections; *Enterococcus faecalis*; Essential oils; *Origanum glandulosum*; *Artemisia herba-alba*; *Ammoides pusilla*.