

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 Filière  
science biologiques



Référence ..... /2024

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie appliquée

---

Présenté et soutenu par :

**Debla Fatma Ezzahra**

Le :

**Un bain de bouche contenant un inhibiteur qui cible le  
*Fusobacterium nucleatum*, bactérie de Flore orale qui favorise le  
développement de cancer**

---

**Jury :**

Mme. BEN HERZALALH Nawel	M.M. A	Université de Biskra	Président
Mme. CHARIFI Samia	M.A. B	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. MOKRANI Djamila	M.M. A	Université de Biskra	Examineur

**Année universitaire : 2023/2024**

## Remerciements

Tout d'abord, louange à Dieu pour ce succès et cette réussite.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers mon encadreur "**Samia Charifi**" pour sa supervision sérieuse et continue de ce travail, ainsi que pour sa contribution efficace à sa réussite. Nous remercions également Monsieur "**ZekkourNour Eddine**", directeur du laboratoire Zekkour pour les analyses médicales, et Monsieur "**Riad Mousaoui**", directeur du laboratoire Mousaoui pour la qualité des analyses, pour leur soutien précieux qui a grandement contribué à la réussite de ce projet.

Nous souhaitons également exprimer notre reconnaissance sincère au Docteur "**Kamel Debla**", au Professeur "**FatehDebla**", ainsi qu'au "**IzharDebla**", pour leur contribution remarquable à la réussite de ce travail.

Nous apprécions votre collaboration positive et attendons avec impatience un avenir brillant où nous pourrons continuer à faire preuve d'engagement et d'excellence ensemble.

## Dédicace

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers ma chère famille pour leur soutien constant et leur encouragement à exceller. Je suis très fière de faire partie de cette belle famille. Les mots ne suffisent pas pour vous rendre hommage. Je suis très heureuse de vous avoir à mes côtés à chaque étape de ma vie.

Je dédie mon succès au travail acharné de ma mère, à ses nuits blanches, à son soutien inconditionnel, et aux prières de ma tendre grand-mère.

Je remercie mon père et je suis reconnaissante d'avoir les oncles les plus merveilleux dans ma vie, ma fierté, mon soutien et mon modèle : **Debla Lazhar** "Mon deuxième père.", **Docteur Debla Kamel**, et Professeur **Debla Fateh, Salim et Abdelwahab**.

Et tout mon amour à mes frères et sœurs de parcours : **Hamza, Aya et Ritedje**, ma petite princesse, ainsi qu'à mes petits anges, **Yehya et Rahil**, les enfants de mon frère.

Un grand merci à la famille **Hassani**, y compris mes cousins et ma tante, pour leur soutien continu.

Et je n'oublie pas mes chères amies, **Toureche Dounia, kessabwidjaa et menoubilamis**.

Je vous dédie mon succès et ma gratitude. Que Dieu vous garde tous pour moi.

# Table des matières

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des photos	III
Liste des abréviations	IV
Introduction	01

## Première partie : Synthèse bibliographique

### Chapitre 01 : Généralité sur *Fusobacterium nucleatum* (Revue exhaustive et scientifique)

1.1 Définition	03
1.2 Taxonomie de <i>F.nucleatum</i>	03
1.3 Caractéristique	03
1.3.1 Caractéristiques morphologiques	03
1.3.2 Caractéristiques de croissance	04
1.3.3 Caractéristiques biochimiques et enzymatiques	04
1.4 structure cellulaire	05
1.5 Facteurs de virulence	05
1.6 Le métabolisme central	06
1.7 Capacités protéolytiques de <i>F.nucleatum</i> : Étude de ses activités enzymatiques	07
1.8 La parodontite chronique	07
1.9 <i>F.nucleatum</i> est le développement de cancer	08
1.10 Détection de <i>F.nucleatum</i> dans cancer buccal	09
1.11 Mécanisme de défense de l'hôte	10
1.12 Interactions entre <i>F.nucleatum</i> et cellules de l'hôte	11
1.13 <i>F.nucleatum</i> et réponse immunitaire	11
1.14 Rôle de <i>F.nucleatum</i> dans le cancer de la bouche	12
1.15 Interactions entre <i>F.nucleatum</i> et les facteurs de risque du cancer	12
1.15.1 Effet de nicotine (Tabac) sur <i>F.nucleatum</i>	12
1.15.2 Relation entre <i>F.nucleatum</i> et la consommation d'alcool	13

### Chapitre 02: Les huiles essentielles

2.1 Définition	15
2.2 Composants des huiles essentielles	15
2.3 Activités biologiques	15
2.3.1 Activité antibactériennes	15
2.3.2 Activité Anti-inflammatoire	16

<b>2.4 Extraction</b>	<b>16</b>
<b>2.4 .1 Extraction par hydro distillation</b>	<b>16</b>
<b>2.4.2 Extraction par solvant</b>	<b>16</b>
<b>2.4.3 Extraction à vapeur</b>	<b>16</b>
<b>2.4.4 Extraction assistée par micro-ondes</b>	<b>16</b>
<b>2.5 Domainesd'application</b>	<b>17</b>

**DeuxièmePartie:PartieExpérimentale**

**Chapitre 03: Materièl et Méthodes**

<b>3. Préparation de la souche</b>	<b>18</b>
<b>3.1. Prélèvement</b>	<b>18</b>
<b>3.2 Isolement et identification</b>	<b>18</b>
<b>3.3 colorations de Gram</b>	<b>18</b>
<b>3.4. test additifs</b>	<b>20</b>
<b>3.4.1Antibiogramme</b>	<b>20</b>
<b>3.4.2 Test oxydase</b>	<b>20</b>
<b>3.4.3 Test catalase</b>	<b>20</b>
<b>3.5 Acquisition des huiles essentielles pures</b>	<b>21</b>
<b>3.5.1 Analysedes huiles essentielles par chromatographie en Phase Gazeuse</b>	<b>22</b>
<b>3.5.2 Aromatogramme</b>	<b>22</b>
<b>3.6 Formulation de la bio Bain de bouche</b>	<b>23</b>
<b>3.7 Formulation d'Une pommade Thérapeutique pour l'inflammation de la langue et des gencives</b>	<b>23</b>
<b>3.8 Analyses de contrôle de qualité</b>	<b>24</b>

**Chapitre 04: Résultats et Discussion**

<b>4.Identification</b>	<b>25</b>
<b>4.1 Culture</b>	<b>25</b>
<b>4.2 Colorations de Gram</b>	<b>25</b>
<b>4.3 Antibiogramme</b>	<b>26</b>
<b>4.4 Test oxydase</b>	<b>26</b>
<b>4.5 Test catalase</b>	<b>27</b>

<b>4.6 Analyses des huiles essentielles par Chromatographie en Phase Gazeuse</b>	<b>27</b>
<b>4.7 Aromatogramme</b>	<b>29</b>
<b>4.8 Détermination de concentration minimale inhibitrice</b>	<b>30</b>
<b>4.9 Formulations de Bain de bouche et pommade anti-inflammatoire</b>	<b>30</b>
<b>4.10 Analyses de contrôle de qualité</b>	<b>31</b>
<b>4.11 Résultats du test de sensibilité aux huiles</b>	<b>32</b>
<b>4.12 Résultats d'utilisation d'un bain de bouche</b>	<b>32</b>

<b>Conclusion</b>	<b>34</b>
<b>Les références bibliographiques</b>	<b>35</b>
<b>Annexes</b>	<b>45</b>

## Liste des Tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre de tableaux</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Classification des caractéristiques biochimiques et enzymatiques par résultats.	04
<b>02</b>	Composition de l'huile de clou de girofle	15
<b>03</b>	Composition de l'huile de lavande	16
<b>04</b>	Présentation des espèces végétales	22
<b>05</b>	Composition de l'huile de thé vert	27
<b>06</b>	Composition de l'huile de <i>yalangyalang</i>	28
<b>07</b>	Composition de l'huile de menthe	29

## Liste des Figures

N°	Titre de Figure	page
01	<i>F. nucleatum</i> cultivé en BHI sans antimicrobiens. Cellules de 0,4 à 0,5 mm de diamètre, rondes et d'opacité électronique (28 000 X).	03
02	Schéma de l'effet de <i>F.nucleatum</i> sur la réponse immunitaire.	12
03	Lien entre <i>F.nucleatum</i> et la consommation d'alcool dans le développement de cancer de buccale.( laryngé_ cancer)	14
04	Courbe de susceptibilité de <i>F.nucleatum</i> contre les antibiotiques.	26



## Liste des photos

N°	Titre de photo	Page
01	Préparation de mileu gélose au sang et isolement de <i>f.nucleatum</i> .(originale )	18
02	Préparation de coloration de Gram d'un frottis de <i>F.nucleatum</i> (originale ).	19
03	Réalisation de test oxydase. (Originale).	20
04	Équipement pour analyser l'activité de la catalase dans un échantillon de <i>F.nucleatum</i> . (Originale)	21
05	Les huiles essentielles extraites par Biocare (huile de Clou de Grifole,huile de <i>rose CanangaOdorata</i> , lavande, Menthe , huile d'arbre de thé vert ,hydrolat de menthe) (originale).	21
06	Application de test aromatogramme (originale)	22
07	Matériel et produit utilisées à la formulation de Bain de bouche (originale)	23
08	Matériel et produit utilisées à la formulation de pommade (originale).	24
09	<i>F.nucleatum</i> isolée des 3 échantillons prélevés des 3 patients sur gélose au sang (originale)	25
10	Résultat du test catalase(originale).	27
11	Les produits après fabrication. (Originale).	31
12	Mesure de pH et T de pommade et de bain de bouche (originale).	32
13	Les résultats du test d'allergie aux huiles sur un groupe de 10 personnes. (Originale).	32
14	Effet de Bain de bouche après 9 jours	33

## Liste des abréviations

Abréviation	le sens
<i>F.nucleatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>P. Gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
ADH1B.	Alcool Déshydrogène 1B
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ATCC	Collection de culture de type Américain
°C	Degré Celsius
CD46	Protéine de Régulation Complément 46
CmpA	Protéine A exposé à la surface cellulaire
CMI	Concentration MinimaleInhibitrice
CRAPC	Centre de Recherche et d'analyses physico-chimiques
E. coli	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Éthylène Diamine Tétra-Acétique
EMT	Épithilio-mésenchymateuse
EPS	Substance polymériqueextracellulaire
Fap2	<i>Fusobacterium</i> adhésineprotéine
Fad D	Synthese de Coa d' Acyl gras D
HNP-1	Peptide Humain Neutrophile 1
H E	huileessentielle
ISO	Organisation International de normalisation
LT	Lymphocyte
LPS	Lipopolysaccharide
LSCC	CarcinomeÉpidermoide du Larynx
mcg	micro-grame
miR -155-5p	Micro ARN-155-5p
miR-205.	Micro ARN-205
mm	Millimètre
MMP-2,9,13	Matrice Métalloprotéines 2,9,13
Mo	micro_ organisms
OCSCC	CarciromeÉpidermoide de la cavité buccale
OSCC	CarcinomeÉpidermoide de l'Oropharynx

---

PNM	Polymorphonucléaire
TIGIT	Récepteur cellulaire de Transmission Intracellulaire de Gouttelettes Tégumentaires
TGFB2.	Facteur de Croissance Transformant Béta 2



---

# Introduction

---

## Introduction générale

Le micro biome oral se réfère à l'ensemble des micro-organismes présents dans la cavité buccale humaine (Gao et al. 2018). La parodontite est une pathologie chronique complexe résultant de multiples facteurs, se manifestant par une variété de phénotypes caractérisés principalement par une inflammation destructrice des tissus de soutien des dents (Tonetti *et al.* 2018). ***Fusobacteriumnucleatum*** est crucial à la fois pour la santé parodontale en maintenant l'équilibre microbien et pour la maladie parodontale en étant fréquemment détecté dans les échantillons de plaque sous-gingivale aussi bien sur les sites sains que malades (Moore WE et Moore LV, 1994 ; Brennan CA et Garrett WS, 2019). En tant que souche anaérobie dominante au sein du biofilm sous-gingival, présent à la fois en période de santé et de maladie, ***F.nucleatum*** est classé parmi les pathogènes opportunistes (Dickinson *et al.* 2011). Fortement associé à des résultats cliniques défavorables dans divers types de cancer (D. Slade, 2021), ***F.nucleatum*** joue un rôle crucial en tant que médiateur potentiel dans la progression du carcinome épidermoïde oral (CSCC) ( Healy CM et Moran GP, 2019 ; La Rosa GRM *et al.*, 2020 ; Vyhnalova T *et al.* 2021 ; Yang SF *et al.* 2022 ). La virulence de ***F. nucleatum*** découle de sa capacité à adhérer et à envahir les cellules épithéliales, facilitée par l'expression du facteur de virulence FadA à sa surface (Strauss *et al.* 2011 ; Li DH *et al.* 2021). Ces bactéries peuvent être caractérisées par plusieurs méthodes biochimiques, y compris les tests de sensibilité aux antibiotiques, de fermentation, entre autres (Chanzy *et al.* 1990). Dans cette étude, un échantillon de ***Fusobacteriumnucleatum*** prélevé dans la cavité buccale d'un patient atteint de cancer a été caractérisé. L'échantillon a été cultivé sur gélose au sang pendant 48 heures à 37 degrés Celsius. Pour confirmer l'identification bactérienne, des tests de coloration de Gram, d'oxydase, de catalase ainsi que des tests de sensibilité aux antibiotiques ont été réalisés. Dans le but de développer un inhibiteur bioactif contre ***Fusobacteriumnucleatum*** pour une solution de rinçage buccal, des propriétés inhibitrices, anti-inflammatoires et analgésiques ont été intégrées afin de réduire les effets nocifs de cette bactérie chez les patients atteints de cancer, en particulier ceux souffrant de cancer de la bouche. L'objectif était également d'atténuer les effets secondaires du traitement chimiothérapique sur la cavité buccale et de remplacer les solutions de rinçage buccal commercialisées contenant de l'alcool, susceptibles d'aggraver la situation pour cette population. Des huiles essentielles pures ont été extraites et leurs composants ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse. Ensuite, leur effet inhibiteur sur cette bactérie a été étudié à travers

---

Un test d'aromathérapie, en utilisant comme référence la concentration minimale inhibitrice





---

**Première partie :**

**Synthèse bibliographique**



---

**Chapitre I :**  
**Généralité sur**  
***Fusobacteriumnucleatum***



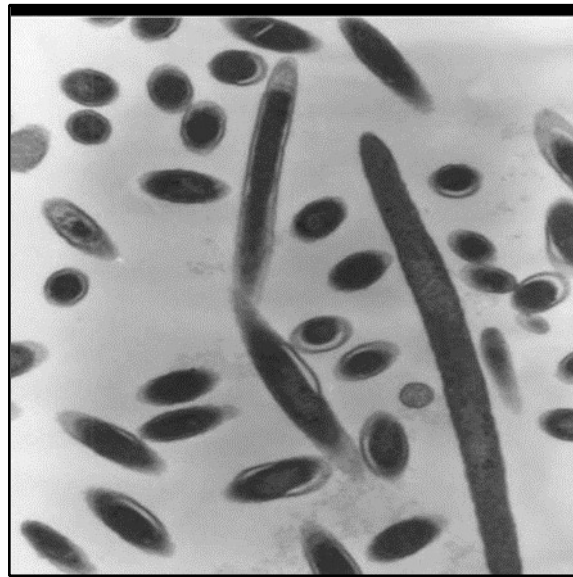
---

## 1.1. Définition

*F.nucleatum* est non sporulé, non mobile, et Gram négatif, avec un contenu G+C de 27 à 28 % en molécules et une taille de génome d'environ 2,4 millions de paires de bases (Bolstad, , 1994) *F.ucleatum* obtient de l'énergie par La production d'acide butyrique comme produit principal de la fermentation du glucose et de la peptone, ainsi que les constituants lipidiques caractéristiques, différencient les espèces de *Fusobacterium* des autres bâtonnets anaérobies, gram-négatifs et non sporulants.( Moncla *et al.*1990)

## 1.2. Taxonomie de *F.nucleatum*

*F.nucleatum* est l'espèce type du genre *Fusobacterium*, qui appartient à la famille des *Bacteroidaceae*. Le nom *Fusobacterium* provient de *fusus*, signifiant fuseau, et de *bacterion*, signifiant petite tige, faisant ainsi référence à sa morphologie en forme de tige fusiforme. Le terme *nucleatum* provient de l'apparence nucléée fréquemment observée dans les images au microscope optique et électronique en raison de la présence de granules intracellulaires (Hofstad, *et al.* 1981). (fig1)



**Figure 01.** *F.nucleatum* cultivé en BHI sans antimicrobiens. Cellules de 0,4 à 0,5 mm de diamètre, rondes et d'opacité électronique (28 000 X). (Braz .J. Microbial ,2002)

## 1.3. Caractéristique

### 1.3.1. Caractéristiques morphologiques

*F.nucleatum* est une bactérie anaérobie Gram négatif, non sporulant, non mobile, une forme de bâtonnet effilé. (Caitlin et Wendy, 2019) Cependant, il a été prouvé que cette bactérie est sujette à des changements morphologiques, comme en témoignent les variations observées chez la souche ATCC 25586, indiquant une augmentation du nombre de granules



---

Intracellulaires accumulés dans la cellule de *F.nucleatum*ssp. *nucleatum*. Cela reflète sa réponse à des concentrations croissantes de (Human Neutrophil Peptide-1) (A. Musrat *et al.* 2016).

### 1.3.2. Caractéristiques de croissance

Afin de favoriser la croissance de la bactérie anaérobie stricte, *F.nucleatum* nécessitent un milieu riche pour se développer et se développent généralement bien dans un milieu contenant de la trypticase, de la peptone ou un extrait de levure. (Bakken *et al.* 1990). Lorsqu'elle est cultivée sur gélose au sang, cette bactérie présente des petites colonies mates, grumeleuses et irrégulières, accompagnée d'une odeur désagréable. Elle est particulièrement sensible à l'oxygène de l'air, ce qui nécessite des repiquages immédiats dès l'ouverture des bouchons. Pour une culture en milieu liquide optimale, l'utilisation de bouillons régénérés adaptés aux anaérobies, tels que le thioglycolate, le Rosenow ou le Schaedler, sont recommandés.

### 1.3.3. Caractéristiques biochimiques et enzymatiques

La bactérie de *f.nucleatum* possède des caractéristiques biochimiques distinctives qui favorise leur survie ,leur reproduction et leur fonctionnement ,comme illustré dans le tableau 1.

**Tableau 01.** Classification des caractéristiques biochimiques et enzymatiques par résultats. (D. Clave, 2012)

Caractéristique	Résultat
Catalase	-
Oxydase	-
Indole spot	+
Lipase	+ (faible)
Disques antibiotiques	Chargés spécifiquement (à tester)
Antibiotiques à tester	
Vancomycine	Résistant
Kanamycine	Sensible

Colistine	Sensible
Bile	Sensible
Vert Brillant	Résistant
Autres caractéristiques	
Gazogénicité en glucose	Non gazogène

#### 1.4. Structure cellulaire

La membrane externe de *F.nucleatum* est typique des bactéries à Gram négatif. (Bakken, *et al*, 1989). L'enveloppe cellulaire de *F.nucleatum* est constituée de membranes externe et interne (cytoplasmique), séparées par un espace périplasmique qui contient la couche de peptidoglycane. Environ un tiers de la masse de la membrane externe des fusobactéries est constitué de protéines, lesquelles génèrent un profil protéique distinctif lors de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium (SDS-PAGE). (Bakken *et al*, 1986) Les bactéries adhèrent aux tissus hôtes par une interaction spécifique médiée par des macromolécules à la surface des bactéries, qui se combinent avec des structures complémentaires présentes à la surface des cellules hôtes (London, 1991)

#### 1.5. Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence fortement associés à la parodontite chez *Fusobacteriumnucleatum* comprennent les protéines de la membrane externe telles que RadD, CmpA, Aid1, FomA, Fap2 et FadA, ainsi que le lipopolysaccharide (LPS), les protéases à sérine et l'acide butyrique. Ces facteurs contribuent à la progression de la parodontite par divers mécanismes pathogènes. (Chen *et al*. 2022). Les autos transporteurs de type T5aSS : Un groupe de protéines qui peuvent être impliquées dans diverses fonctions telles que les adhésines, les sérines protéases et d'autres fonctions inconnues (Kaplan *et al*. 2010. Casasanta *et al*. 2017). Les adhésines sont des protéines qui le processus infectieux. RadD: Une protéine impliquée dans les interactions avec d'autres bactéries. Elle pourrait jouer un rôle dans la progression du cancer colorectal associé à *F.nucleatum*. CmpA est une protéine qui se lie à *Streptococcus gordonii* lors de la formation de biofilms oraux, contribuant ainsi aux infections orales. Fap2



---

Est quant à elle Une protéine similaire aux adhésines qui facilite l'adhésion de *F.nucleatum* aux cellules de l'hôte. Dans l'ensemble, ces facteurs de virulence contribuent à la capacité de *F.nucleatum* à coloniser les tissus de l'hôte, à éviter les réponses immunitaires et à participer à des maladies telles que le cancer colorectal et d'autres troubles gastro-intestinaux. (Umana *et al.* 2019).

**Le LPS** est un composant essentiel de la paroi cellulaire bactérienne, jouant un rôle crucial dans son interaction avec le système immunitaire. Il peut avoir un impact considérable sur la manière dont le système immunitaire réagit à la bactérie, ce qui peut entraîner des réponses inflammatoires ou immunitaires puissantes. (Garcia-Vello *et al.* 2021) FomA est une protéine qui contribue à la capacité de la bactérie *Fusobacteriumnucleatum* à adhérer aux cellules humaines et à les pénétrer, notamment dans la muqueuse intestinale. Cette protéine joue un rôle clé dans l'interaction entre la bactérie et l'hôte, lui permettant de provoquer une infection et de nuire aux tissus intestinaux, ce qui est associé au développement de la maladie inflammatoire de l'intestin et d'autres conditions de santé.(Zhang *et al.* 2023).

### 1.6. Le métabolisme central

*Fusobacteriumnucleatum* possède un métabolisme central adapté à son mode de vie anaérobie, lui permettant d'obtenir du carbone et de l'énergie à partir de différentes sources.

- **Sources alimentaires :** La bactérie dépend des glucides et des acides aminés comme source d'énergie, mais elle peut également utiliser différents sucres tels que le glucose, le galactose et le fructose.
- **Voies métaboliques :** La bactérie transforme les sucres en glucose-6-phosphate à travers différentes voies, notamment la voie de Leloir pour le galactose, la voie EmbdenMeyerhof pour le glucose, et la voie de système de phosphotransférase (PTS) pour le fructose.
- **Production de différents produits:** Le pyruvate peut être converti en lactate ou en acétate par l'intermédiaire de différentes enzymes, et il existe des groupes de gènes qui contrôlent ces voies métaboliques.

La flexibilité de *Fusobacteriumnucleatum* dans l'utilisation de sources alimentaires variées et de voies métaboliques diverses pour atteindre la croissance et produire de l'énergie. (Kapatra *et al.* 2001).

---

### 1.7. Capacités protéolytiques de *F.nucleatum*: Étude de ses activités enzymatiques

Les enzymes de *Fusobacteriumnucleatum* restent actives même dans les tissus malades, avec une plage de température optimale entre 35 et 40°C, similaire à celle du corps humain, ce qui renforce sa pathogénicité. Il semble que les enzymes des cellules vivantes humaines maintiennent une activité plus longue. La capacité limitée des enzymes bactériennes à hydrolyser le substrat BANA suggère l'inefficacité du test BANA pour identifier *Fusobacteriumnucleatum* dans les maladies parodontales marginales. Divers inhibiteurs, tels que l'EDTA et l'hydroxyde de calcium, suppriment efficacement l'activité enzymatique de *Fusobacteriumnucleatum*, offrant ainsi des applications pharmacologiques potentielles pour contrôler le métabolisme microbien et combattre plus efficacement les agents pathogènes. Plusieurs études ont démontré que les protéases sécrétées par *Fusobacteriumnucleatum* peuvent dégrader des composants clés des tissus parodontaux, tels que le collagène, la fibronectine et la laminine. Cependant, l'hôte possède des défenses naturelles, comme des inhibiteurs, qui entravent l'activité de ces protéases et atténuent ainsi les dommages tissulaires. (Ogawa *et al.* 2006).

### 1.8. La parodontite chronique

*Fusobacteriumnucleatum* joue un rôle significatif dans la parodontite chronique à travers divers mécanismes :

- **Coaggrégation et colonisation** : *F.nucleatum* coaggrège avec d'autres pathogènes parodontaux comme *Porphyromonasgingivalis*, facilitant leur survie et leur colonisation réussie dans les poches parodontales.
- **Induction de l'inflammation** : La présence de *F.nucleatum* entraîne la libération de radicaux oxygénés toxiques et d'enzymes lysosomales des cellules polymorphonucléaires (PMN), causant des dommages aux tissus parodontaux et exacerbant l'inflammation.
- **Production de sous-produits métaboliques** : *F.nucleatum* produit des sousproduits métaboliques comme le butyrate et des composés sulfurés volatils, qui peuvent causer des dommages supplémentaires à l'épithélium gingival et inhiber la prolifération des fibroblastes.

- 
- **Attachement et pénétration** : *F.nucleatum* améliore l'attachement des PMN, facilitant sa pénétration dans l'épithélium gingival et augmentant les dommages inflammatoires.
  - **Expression de facteurs de virulence** : Des composants comme les lipopolysaccharides (LPS) et les protéines porines de la membrane externe de *F.nucleatum* contribuent à la pathogenèse de la maladie parodontale en induisant une activité endotoxique, en favorisant l'inflammation et en agissant de manière synergique avec d'autres facteurs bactériens.
  - **Rôle dans la dysbiose** : La capacité de *F.nucleatum* à former des polymères intracellulaires à partir de sucres dans des conditions variables d'acides aminés permet sa survie et sa prolifération, contribuant à la dysbiose dans le microbiome oral associée à la parodontite. la contribution polyvalente de *Fusobacteriumnucleatum* à la coaggrégation l'induction de l'inflammation, l'activité métabolique et l'expression de facteurs de virulence souligne son rôle crucial dans le développement et la progression de la parodontite chronique. (Saputri *et al.* 2021)

### **1.9.F.nucleatum est le développement de cancer**

*F.nucleatum* est également associé à la promotion du cancer buccal. (Yamamoto *et al.* 2023).

Il est important de noter que *F.nucleatum* n'est pas une bactérie carcinogène, ce qui signifie qu'elle ne provoque pas directement le cancer, mais qu'elle joue un rôle dans la progression de la maladie. (Guret *al.*,2015).

*F.nucleatum* est également associé à la promotion du cancer buccal.(Yamamoto *et al.* 2023)

### 1.10. Détection de *F.nucleatum* dans cancer buccal

*Fusobacterium* est plus abondant dans les échantillons de cancer de la tête et du cou/oral que dans les échantillons ne présentant pas de cancer, ce qui suggère que *Fusobacterium* pourrait jouer un rôle dans le développement du cancer de la tête et du cou/oral. (Bronzato *et al.* 2020).

Dans une étude récente, ont investigué la présence de *Fusobacteriumnucleatum* dans des échantillons de tissus prélevés sur des patients atteints de cancer de la bouche. Les résultats ont révélé des concentrations significativement élevées de *F.nucleatum* dans les tissus des patients affectés, particulièrement chez les individus plus âgés et ceux ayant une faible consommation d'alcool. De manière intéressante, une corrélation a été observée entre la présence de *F.nucleatum* et des bénéfices cliniques tangibles, tels qu'une réduction du risque de récurrence et une amélioration de la survie. (Neuzillet *et al.* 2021)

Cette étude a impliqué la collecte minutieuse d'échantillons de tissus, leur analyse par PCR quantitative en temps réel pour la détection précise de *F.nucleatum*, ainsi que l'évaluation approfondie des associations entre la présence de cette bactérie, les paramètres cliniques des patients et leurs résultats thérapeutiques. Ces découvertes soulignent l'importance croissante de comprendre le micro biome oral dans le contexte du cancer de la bouche, ouvrant la voie à de nouvelles stratégies diagnostiques et thérapeutiques ciblées (Neuzillet *et al.* 2021)

### 1.11. Mécanisme de défense de l'hôte

La bactérie *F.nucleatum* interagit avec le système immunitaire de plusieurs façons:

- **Interaction avec les lymphocytes :** interaction entre *F.nucleatum* et les lymphocytes, entraîne une augmentation de l'inflammation chronique des gencives.
- **Effet sur la réponse immunitaire :** *F.nucleatum* contient des protéines qui inhibent la réponse immunitaire, ce qui affecte la capacité du système immunitaire à lutter contre les infections.
- **Stimulation des cellules B et de l'immunoglobuline :** *F.nucleatum* stimule la sécrétion des cellules B et augmente l'immunoglobuline, ce qui aggrave l'inflammation et la maladie.

Ces interactions contribuent à créer un environnement favorable à la survie de *F.nucleatum* dans la cavité buccale, aggravant ainsi l'inflammation chronique des gencives et la maladie associée.

D'autres interactions entre *F.nucleatum* et le système immunitaire comprennent:

1. **Interaction avec LPS :** *F.nucleatum* contient des pyrogènes qui stimulent les cellules B et activent les plasmocytes, agissant en coordination avec LPS. Il existe une similitude entre le LPS de *F.nucleatum* et certaines souches d'*Escherichia coli*, ce qui entraîne des interactions telles que la modulation des cellules B, l'activation des cellules B pluri-nucléées et la stimulation de la production d'interleukine-1 par les plasmocytes. Cette stimulation excessive peut augmenter la réponse du système immunitaire de l'hôte et l'inflammation dans les zones touchées.
2. **Interaction avec les PMN :** L'interaction entre *F.nucleatum* et les neutrophiles peut entraîner la libération de radicaux oxygénés toxiques et d'enzymes lysosomales, pouvant causer des dommages aux gencives.
3. **Production de sulfates :** La production de sulfates par *F.nucleatum* peut permettre à la bactérie d'échapper au système immunitaire en interférant avec le mécanisme d'opsonisation des bactéries hôtes. (Gravel ,1999)

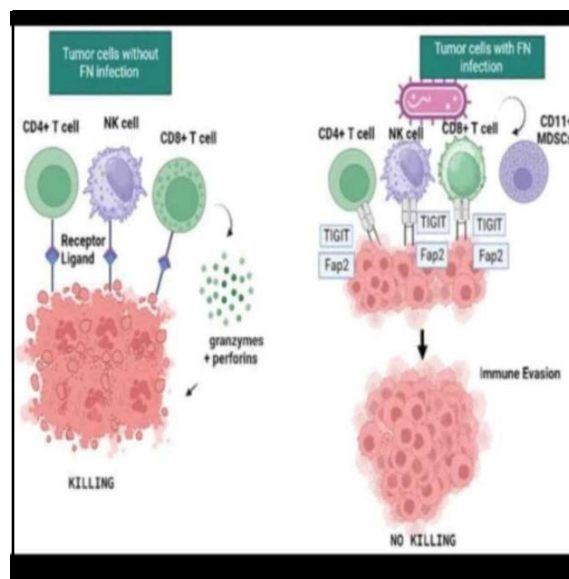
### 1.12. Interactions entre *F.nucleatum* et cellules de l'hôte

Les recherches sur les interactions de *Fusobacteriumnucleatum*(*F.nucleatum*) avec les cellules de l'hôte dans la bouche ont révélé une dynamique complexe, montrant une bactérie commensale qui renforce la réponse immunitaire innée, notamment en stimulant la production de bêta-défensine humaine (Cody *et al.* 2021), ce qui soutient la surveillance immunitaire appropriée des surfaces muqueuses liées à des agents pathogènes potentiels. De plus, les extraits de paroi cellulaire de *F. nucleatum* augmentent considérablement les inhibiteurs de protéase de l'hôte, ce qui atténue les dommages causés par la libération de protéases neutrophiles pendant les infections orales, et peut également interférer avec les activités de protéases associées à la virulence de divers pathogènes buccaux tels que *Porphyromonasgingivalis*, *Treponema denticola* et *Tannerellaforsythensis*. En revanche, *F. nucleatum* favorise l'adhérence et l'invasion de *P. gingivalis* dans les cellules orales humaines. Il est également connu que *F. nucleatum* stimule la sécrétion d'interleukine-8 et plusieurs autres cytokines pro-inflammatoires, ainsi que la mort cellulaire chez les lymphocytes humains, et favorise également la libération de métalloprotéinases MMP-2, MMP-9 et MMP13. La stimulation de la libération de MMP-9 a été associée à la liaison des bactéries à la protéine de régulation du complément CD46, qui sert de récepteur important pour plusieurs pathogènes notoires, tels que *Streptococcus pyogenes* et les espèces pathogènes de *Neisseria*. Compte tenu de ces rôles multiples et contradictoires, l'impact de la colonisation de

*F. nucleatum* sur le développement des maladies parodontales reste encore peu clair, ce qui mérite une recherche scientifique plus approfondie pour déterminer ses effets précis. (Emma Allen-Vercoe 2011)

### 1.13.F.nucleatum et réponse immunitaire

*Fusobacteriumnucleatum* est une bactérie du microbiote qui modifie la réponse immunitaire contre les tumeurs. (Zitvogel *et al.*2016). Elle agit sur les cellules T et NK en se liant à des récepteurs spécifiques comme TIGIT (Chauvin. *et al.* ,2015), ce qui inhibe leur capacité à attaquer les cellules tumorales. (Mima *et al.*2015. Gur. *et al.*2015). Cela génère un environnement tumoral immunosuppresseur, contribuant à l'avancement des cancers. (fig 02)



**Figure 02.** Schéma de l'effet de *F.nucleatum* sur la réponse immunitaire . (Pignatelli et al 2023)

#### 1.14. Rôle de *F.nucleatum* dans le cancer de la bouche

*Fusobacteriumnucleatum* joue un rôle crucial dans la pathogenèse du cancer oral en favorisant des infections chroniques qui accroissent le risque de carcinogenèse (Brennan et Garrett , 2019; Groeger et Meyle , 2019).

Ce pathogène oral stimule la production de cytokines pro-inflammatoires et d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), entraînant des altérations cellulaires propices à la formation des tumeurs (Han, 2015 ; Atanasova et Yilmaz , 2015).

De plus, *F.nucleatum* est fréquemment observé chez les patients atteints de cancers de la cavité buccale, cervicaux et de la tête, en particulier dans les zones tumorales, où il favorise la migration cellulaire et perturbe la fonction de l'E-cadhérine. Ceci facilite la transition épithéliomésenchymateuse (EMT) et augmente la capacité proliférative des cellules cancéreuses (Zhang *et al.* 2020). En outre, il endommage l'ADN via la voie Ku70/p53, ce qui contribue à la progression tumorale (Geng *et al.* 2020).

**1.15. Interactions entre *F.nucleatum* et les facteurs de risque du cancer buccal****1.15.1. Effet de nicotine (Tabac) sur *F.nucleatum***

Extra cellular polymeric substances EPS les "extra cellular polymeric substances", ou substances polymériques extracellulaires, sont des matériaux complexes sécrétés par les microorganismes, notamment les bactéries. La nicotine, surtout lorsqu'elle est utilisée en

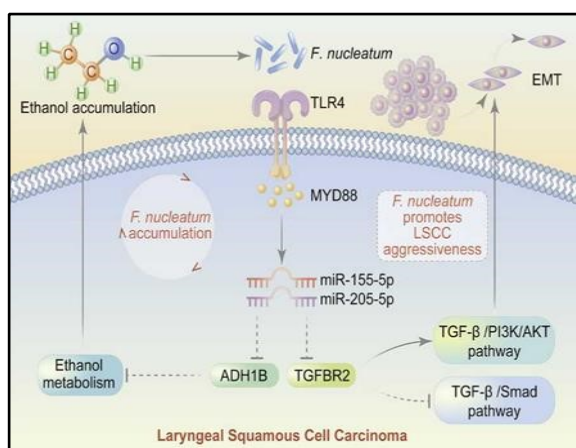


Combinaison avec du sucre, augmente significativement la production d'EPS dans les biofilms contenant *F.nucleatum*, ce qui suggère son rôle dans l'accélération du développement de ces biofilms et donc le risque accru de problèmes de santé bucco-dentaire. De plus, il apparaît que la nicotine stimule également la croissance de *F.nucleatum*, renforçant ainsi son impact néfaste sur la santé bucco-dentaire et augmentant le risque de problèmes tels que la gingivite et le cancer de la bouche. (Adaias *et al.* 2023)

### 1.15.2. Relation entre *F.nucleatum* et la consommation d'alcool

La recherche pionnière de Hsuehet *al.*, 2022, révèle un lien remarquable entre une consommation excessive d'alcool et l'abondance de *F.nucleatum* chez les patients atteints de LSCC. Elle met en lumière une disparité significative dans les niveaux de *F.nucleatum* entre les tissus de LSCC et les tissus épithéliaux normaux, particulièrement prononcée chez les individus ayant une consommation excessive d'alcool. De manière remarquable, l'ampleur de la consommation d'alcool est directement corrélée à la concentration de *F.nucleatum* dans les tissus de LSCC, comme le démontre une association positive avec l'indice de consommation d'alcool. Cela souligne non seulement les effets néfastes de l'alcool sur la santé bucco-dentaire, mais éclaire également les ramifications biologiques potentielles de cette corrélation bactérienne dans la progression du LSCC.

Les interactions et les effets mutuels entre la consommation d'alcool et la bactérie *F.nucleatum* sont détaillés dans le schéma suivant(**fig 03**) :



**Figure 03.** Le lien entre *F.nucleatum* et consommation d'alcool dans le cancer de laryngé\_ cancer buccale (Hsueh *et al.*2022) .

L'augmentation de l'expression de miR-155-5p et miR-205-5p par *F.nucleatum* supprime l'expression d'ADH1B et de TGFBR2 en activant les signaux immunitaires innés, ce qui entraîne une reprogrammation du métabolisme de l'alcool pour permettre l'accumulation de

*F.nucleatum* et l'activation de la voie PI3K/AKT pour favoriser la transition épithéliale-mésenchymateuse. Cela conduit à une progression et une propagation incontrôlées du cancer des cellules squameuses du larynx. En conséquence, le cercle vertueux entre *F.nucleatum* et la reprogrammation du métabolisme de l'alcool favorise la prolifération cellulaire et son impact sur les résultats des patients atteints de cancer des cellules squameuses du larynx. La quantité de *F.nucleatum* pourrait être un marqueur pronostique potentiel, offrant ainsi un aperçu précieux dans la gestion clinique pour améliorer les résultats oncologiques des patients atteints de cancer des cellules squameuses du larynx.

# **Chapitre II :**

# **Les huiles essentielles**

## 2.1. Définition

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux obtenus à partir de plantes aromatiques. Ces plantes, présentes dans leurs feuilles, fruits, graines, écorces ou racines, renferment un large éventail de molécules aromatiques qui constituent les éléments actifs fondamentaux. (ZIABET ,2016) Ils présentent une solubilité dans des substances telles que l'alcool, l'éther et les huiles fixes, tout en restant insolubles dans l'eau en raison de leur nature hydrophobe. Ces composés volatils se manifestent généralement sous forme de liquides incolores à température ambiante, mettant en valeur leurs propriétés biochimiques. ( Dhifi, *et al.*2016).

## 2.2.Composants des huiles essentielles

Les huiles essentielles, constituées des éléments vitaux du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène, réagissent de manière complexe pour former une multitude de composés tels que les hydrocarbures, les alcools et les acides. Le terme "terpène" désigne spécifiquement les composés carbonés et hydrogénés, tandis que "terpénoïde" englobe ceux qui incorporent également de l'oxygène (Price et Price, 2007). Ces substances sont un assemblage riche de terpènes et de composés aromatiques tels que les phénols et les phénylpropanes (Hoffmann, 2020). Comme exemples ,les composition de huile de clou de girofle et de lavande : (tableau 02 et 03 )

**Tableau 02.** Compositions de clou de girofle

Composant	Pourcentage
Eugénol	74,28%
B coryphyllene	24,8%
$\alpha$ Humelene	
Euzenel acetate	2,7%
$\alpha$ Copaene	0,17%
Chavicol	0,08%
Methyl salicylate	0,20%

(El Asbahani *et al.* 2015 ;A.M.Bakry *et al.* 2016 ;Frolichet *et al.* 2019 ;Ameur *et al.* 2021)

**Tableau 03.** Compositions de lavande

<b>Composant</b>	$\alpha$ -Thujene
	$\alpha$ -Pinene
	Camphene
	Sabinene
	1-Octene-3-ol
	3-Octtanone
	$\beta$ -Pinene
	Butyl butyrate
	3-Carene
	1-Isopropyl-3-methylbenzene
	$\alpha$ -Phellandrene

( Xiaotionet *al.* 2019)

## 2.3. Activités biologiques

### 2.3.1. Activité antibactériennes

Selon Osei-Safo et al. (2010), Cavaret *al.* (2012), et Teixeira *et al.* (2013), certaines huiles essentielles provenant de diverses sources végétales présentent des propriétés puissantes contre les bactéries, ce qui les rend très utiles dans les industries alimentaires et pharmaceutique.

### 2.3.2. Activité Anti-inflammatoire

De Lavoret *al.* (2018), ainsi que Zuoet *al.* (2020), ont démontré les applications biologiques des huiles essentielles dans la modulation de la réponse inflammatoire, en s'inspirant de leurs utilisations médicinales traditionnelles. Dans des études menées par Sienkiewiczet *al.* (2013), Orchard et van Vuuren (2017) , l'efficacité de l'huile essentielle de géranium a été examinée. Traditionnellement utilisée en médecine pour traiter les affections cutanées inflammatoires, elle est appréciée pour ses propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, antifongiques et antibactériennes.

## **2.4. Extraction**

Les huiles essentielles peuvent être extraites de différentes parties de diverses plantes à travers une variété de méthodes d'extraction. Le choix de la méthode d'extraction revêt une importance capitale car elle influe significativement sur la qualité de l'huile essentielle. Une méthode d'extraction inappropriée peut causer des dommages ou altérer la composition chimique distinctive de l'huile essentielle. (Tongnuanchan et Benjakul, 2014).

### **2.4 .1. Extraction par hydro distillation**

L'hydro distillation est réalisée à l'aide d'un appareil de type Clevenger. (CLEVENGER ., 1928).Elle est effectuée selon le système de cohobage, c'est-à-dire un système de recyclage, conforme « Pharmacopée européenne ».

### **2.4.2. Extraction par solvant**

Ce procédé repose sur l'utilisation de divers solvants tels que l'acétone, l'hexane, l'éther de pétrole, le méthanol et l'éthanol pour extraire les huiles essentielles à partir de matériaux végétaux fragiles qui ne supportent pas la chaleur. (Areias et al.(2000), Pizzale et al. (2002), Kosar et al. (2005).

### **2.4.3. Extraction à vapeur**

Dans cette méthode, l'extraction par vapeur est appliquée sans nécessité de macération préalable, ce qui signifie que les matières végétales ne sont pas immergées dans de l'eau ou un solvant avant d'être exposées à la vapeur chaude. (Campoloet *al.*2018;Nadjib et Amine, 2019).

### **2.4.4. Extraction assistée par micro-ondes**

La technique d'extraction assistée par micro-ondes" vise à améliorer la vitesse, l'efficacité et la sélectivité de l'extraction des composés chimiques à partir de matières végétales. Cette méthode utilise l'énergie micro-ondes pour accélérer le processus d'extraction, réduisant ainsi les temps traditionnellement longs d'extraction sans compromettre son efficacité ni sa sélectivité. (J. Soc. Ouest-Afr. Chim.).

## **2.5. Domaines d'application**

Les huiles essentielles sont utilisées en médecine alternative. Freirset *al.* (2015) ont mis en lumière l'activité des huiles essentielles contre les bactéries cancérogènes et leur efficacité

potentielle dans la prévention de la carie dentaire. Quant à Roller et Sheedhar (2002), ils ont étudié l'effet des composants des huiles essentielles et leurs activités dans la lutte contre le pourrissement microbien des aliments.





**Deuxième Partie :**  
**Partie Expérimentale**

# **Chapitre III : Matériel et Méthodes**

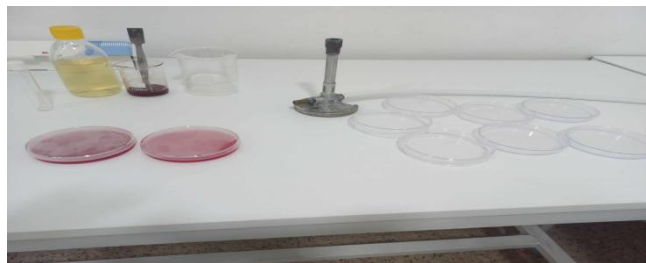
### 3. Préparation de la souche

#### 3.1. Prélèvement

Un prélèvement de salive a été effectué sur trois patients atteints de cancer à l'aide des écouvillons stériles dans le service d'oncologie au niveau d'hôpital EL Hakim Saadan. Les échantillons ont été transportés dans des conditions anaérobies, enveloppés avec parafilm et ont été placés dans un sac stérile à l'intérieur d'une boîte de transport maintenue à une température de 4 degrés Celsius, avant d'être acheminé vers le laboratoire d'analyses de contrôle de qualité Moussaoui.

#### 3.2. Isolement et identification

L'isolement de *Fusobacteriumnucleatum* est effectué conformément à la technique classique d'isolement des anaérobies, telle que décrite par Sutter *et al.* (1985). Les trois échantillons ont été isolés à raison de trois répétitions pour chaque échantillon, en utilisant un milieu gélosé au sang enrichi en vitamine K1 en raison des difficultés rencontrées pour obtenir un milieu spécifique pour *F.nucleatum*. (La gélose au sang permet de vérifier la pureté et le caractère anaérobie d'une bactérie. (A.Sedallian, 1990)).(photo01)



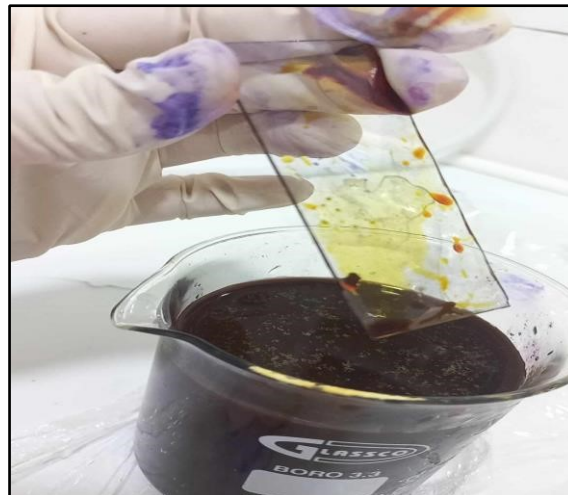
**Photo 01.** Préparation de milieu gélose au sang et isolement de *f.nucleatum* .(originale )

#### 3.3. Colorations de Gram

Après avoir obtenu des cultures positives, un prélèvement de culture positive a été réalisé à l'aide d'un frottis préparé pour effectuer le test de coloration de Gram. Le protocole de coloration de Gram, tel que décrit par Delarras (2007), se déroule comme suit:

- un frottis est préparé à partir d'une culture bactérienne pure.

- le violet de gentiane est appliqué sur le frottis pendant 1 minute puis rincé à l'eau distillée.
- Du
- lugol est ajouté et laissé agir pendant 1 minute avant d'être rincé à nouveau à l'eau distillée.
- La décoloration est réalisée avec de l'alcool à 95%, suivie d'un rinçage à l'eau distillée.
- Enfin, une recoloration est effectuée avec de la fuchsine pendant 10 à 30 secondes, suivie d'un rinçage à l'eau distillée.
- Le frottis est ensuite séché au-dessus de la flamme du bec bunsen. (**Photo02**)



**Photo 02.** Préparation de coloration de Gram d'un frottis de *F.nucleatum*(originale ).

### 3.4. Tests additifs

#### 3.4.1. Antibiogramme

Pour effectuer ce test, un inoculum de 1UFC /ml. Un équipement spécifique est essentiel pour une culture réussie, incluant des milieux (Muller Hinton) enrichis en facteurs de croissance comme la vitamine K et l'hémine pour favoriser la croissance d'espèces anaérobies, ainsi que des systèmes d'incubation sans oxygène tels que des jarres ou des chambres anaérobies. (Regnault, Loïc. (2015) Après l'ensemencement de bactérie à tester sur les pastilles de papier buvard contenant des antibiotiques (amoxiciline 25 mcg, amoxicilline 30 mcg, vancomycine 5mcg, métronidazole 5 mcg, Azithromycine 30 mcg) sont déposées sur la

gélose et incubées pendant 48h à 37. (F.jehlet *al.* ,2015). Les résultats sont analysés en évaluant les zones d'inhibition, identifiables par des auréoles dépourvues de croissance autour de chaque disque, conformément aux directives de Morad (2011).

### 3.4.2. Test oxydase

un disque imprégné d'une substance sensible à l'enzyme oxydase, placé sur une lame propre. Après humidification du disque avec de l'eau stérile, une colonie bactérienne est écrasée dessus. Tout changement de couleur du disque est observé, et un changement en violet indique une réaction positive, confirmant la présence de l'enzyme oxydase dans la bactérie testée (Carbonnelle *et al.* 1988). (**Photo03**)



**Photo03.** Réalisation de test oxydase. (Originale).

### 3.4.3. Tests catalase

Notre échantillon positive choisi a été soumis au test catalase, en commençant par ajouter 4 à 5 gouttes de  $H_2O_2$  à 3% dans un tube à essai. Ensuite, utilisez un bâtonnet en bois pour transférer un échantillon d'organisme d'une colonie bien isolée dans le tube, en évitant l'agar. Enfin, observez immédiatement la formation de bulles sur un fond sombre. (K.Reiner, 2010). (**photo04**)



**Photo 04.** Équipement pour analyser l'activité de la catalase dans un échantillon de *F.nucleatum*. (Originale)

### 3.5. Acquisition des huiles essentielles pures

Les huiles essentielles pures à 100 % sont spécialement extraites par la société Biocare, société libelée et spécialisée dans la production de matières premières et d'extraits naturels thérapeutiques et cosmétiques, selon un montage de type Clevenger par l'entraînement à la vapeur.

(Photo05)



**Photo 05.** Les huiles essentielles extraites par Biocare (huile de Clou de Grifole, huile de rose *CanangaOdorata*, lavande, Menthe, huile d'arbre de thé vert, hydrolat de menthe) (originale).

**Tableau 04.** Presentationdes espèces végétales

Plante	Espèce
Thé vert	<i>Melaleucaalternifolia</i>
Yalangyalang (rose)	<i>Canangaodorata</i>
Clou de grifole	<i>Syzygium aromatum</i>
Menthe	<i>Menthaspicata</i>
Lavande	<i>Lavandulaangustifolia</i>

### 3.5.1. Analyse des huiles essetielles par Chromatographie en Phase Gazeuse

Les compositions chimiques des huiles essentielles étudiées sont analysées en utilisant la chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse, comme d'écrit dans l'étude d'Adams (1993). Nos huilles, notamment celles de thé vert ,*yalangyalan*get menthe ont été analysées au centre de recherche CRAPSY.

Le chromatographe est essentiel pour la séparation des constituants d'un mélange. La chromatographie en phase gazeuse, adaptée à l'analyse de composés volatils et thermiquement stables, comprend généralement trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans un four, et un détecteur, tel qu'un spectromètre. (Bouchonnet et Libong ,2004)

### 3.5.2. Aromatogramme

Dans cette approche modifiée de la méthode de Kirby-Bauer, traditionnellement utilisée pour les antibiogrammes, les antibiotiques sont remplacés par des huiles essentielles spécifiques. Ces huiles sont choisies en fonction de leurs propriétés antimicrobiennes et sont utilisées pour évaluer la sensibilité des bactéries étudiées à leur égard. L'essai s'est déroulé en plaçant des disques imbibés d'huiles essentielles sur une gélose positive La sensibilité est évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne autour de chaque disque, ce qui nous permet de déterminer l'efficacité des huiles essentielles contre les bactéries testées. Ce type d'approche offre une alternative intéressante dans la recherche sur les agents antimicrobiens Dans notre cas, chaque test a été réalisé a raison de deux répétitions pour garantir la précision et la reproductibilité des résultats.. (**Photo06**)



**Photo06.** Application de test aromagramme (originale)

### 3.6.préparation de Bio Bain de bouche

Les ingrédients utilisés dans la fabrication de ce produit sont des substances naturelles thérapeutiques, fabriquées à partir d'un mélange d'huiles essentielles pures.

Les matériaux et l'équipement sont les suivants :

- Huile d'arbre à thé vert
- Huile de menthe
- Huile de clou de girofle
- Huile de menthe
- Huile de cananga odorata
- Huile de lavande
- Hydrolat de menthe
- Hydrolat de clou de girofle
- Vitamine E
- eau distillée

L'homogénéisation a été réalisée à l'aide d'un agitateur magnétique dans un flacon bleu foncé.





**Photo 07.** Matériel et produit utilisées à la formulation de Bain de bouche (originale)

### 3.7.préparation d'Une pommadeThérapeutique pour l'inflammation de la langue et des gencives

- Huiled'arbre à thé vert
- Huile de clou de grifole
- Huile de lavande
- Huile de coco (base de crème)
- Vit E
- cire d'abeille(pour la cohésion et l'omogénéité )(photo08)



**Photo 08.** Étape del'agitation lors de la préparation pommade (originale).

### 3.8 Analyses de contrôle de qualité

Les analyses microbiologiques et physico-chimiques des produits sont réalisées par le laboratoire de contrôle de qualité Moussaoui Selon le protocole d'ISO, par les étapes suivantes. Détection *d'E. Coli* (NI /ISO ,21150). Détection de *staphylococcus aureus* (NI/ISO ,22718). Détection des MO spécifiées et non spécifiées (NI /ISO ,18415). Détection de

*candida albicans* (NI/ISO, 18416). Détection de *pseudomonas aeruginosa* (NI/ISO, 22717).  
Dénombrement des levures et moisissures (NI/ISO 16212) Dénombrement des bactéries  
aérobies      mésophiles      (NI/ISO,      21149).      Annexe      03).

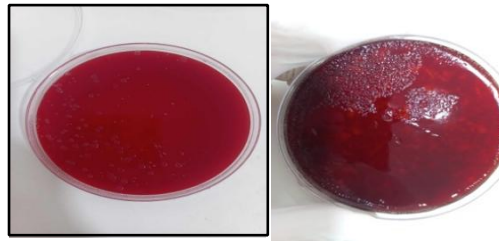
**Chapitre :**  
**Résultats et Discussion**



## 4. Identification

### 4.1. Culture

Après incubation et examen des boîtes de Pétride échantillons ont révélés la présence des colonies (colonies dispersées échantillon 1,coloniées non dispersées échantillon 2) présentant une forme irrégulière et une transparence ,la troisième échantillon a présenté juste une contamination . Le diamètre de ces colonies varie entre 1,2 et 1,7 mm sur le milieu de culture sanguine, comme le montre la figure 6. En comparant ces observations à la description morphologique de *Fusobacteriumnucleatum* dans l'Atlas de biologie buccale (2015), nous constatons une concordance remarquable entre les résultats (**photo09**) obtenus et la description référencée.



**Photo 09.***F.nucleatum* isolée des 3 échantillons prélevés des 3 patients sur gélose au sang (originale)

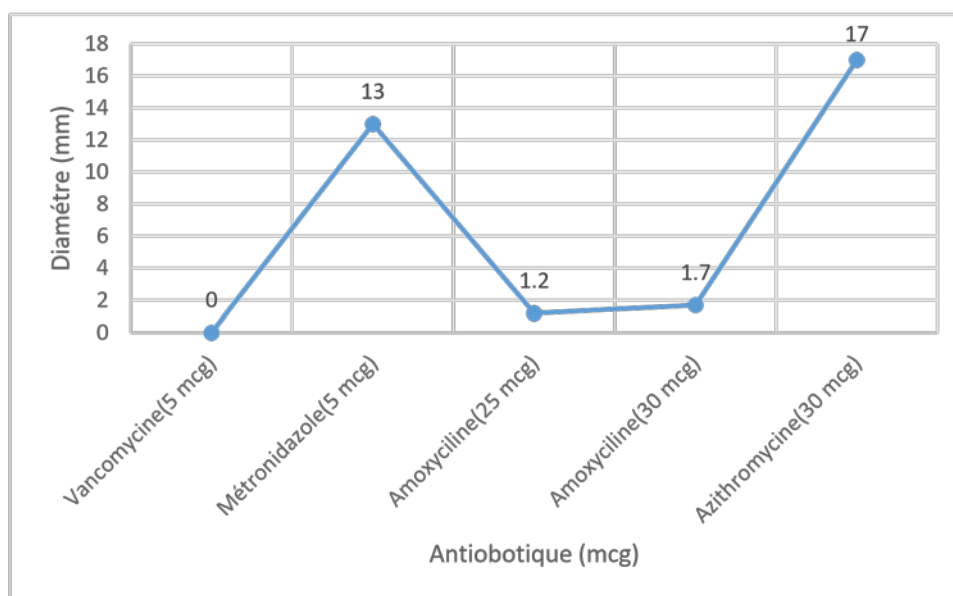
### 4.2. Coloration de Gram

La coloration de Gram, basée sur l'affinité des bactéries pour les colorants, révèle leur morphologie, distinguant les bacilles allongés des cocci arrondis en fonction de leur paroi cellulaire. (Astiver, Hélène *et al.* "Théfense." 2014.)

Les résultats de l'observation microscopique révèlent la présence de bacilles de couleur rose dans les 2 échantillons positifs examinés. Ces résultats sont interprétés en référence à M. Spangler *et al.* (1978), qui ont démontré que la coloration de Gram permet de différencier les bactéries Gram-positives, qui retiennent le cristal violet après décoloration, des bactéries Gram-négatives, qui tendent à perdre ce pigment primaire lors du processus de décoloration. Ainsi, le résultat indique la présence de bactéries Gram-négatives, notamment *Fusobacterium* dans cette étude.

### 4.3. Antibiogramme

Les résultats de l'analyse des antibiotiques ont montré que la bactérie *F.nucleatum* isolé d'une seul échantillon prelvé après la culture présente une sensibilité variable à plusieurs antibiotiques. Des niveaux de sensibilité différents ont été enregistrés, avec un diamètre de sensibilité de 17 mm pour le métronidazole, 1,2 mm pour l'amoxicilline (25 microgrammes) et 1,7 mm pour l'amoxicilline (30 microgrammes), ainsi qu'un diamètre de sensibilité de 13 mm pour l'azithromycine. Il convient de noter que la bactérie *F.nucleatum* a montré une résistance à la vancomycine. Ces résultats sont clairement visibles sur le graphique ci-joint.



**Figure 04.** Courbe de susceptibilité de *F.nucleatum* contre les antibiotiques

Dans le cadre des études et des tests de sensibilité de *F.nucleatum* aux antibiotiques, une étude menée par M. Marita *et al.* (2015) a démontré la sensibilité de cette bactérie à l'amoxicilline, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 32 µg. De plus, les résultats de l'étude ont montré une sensibilité à l'azithromycine selon des valeurs de CMI variant entre 0,5 et 8 µg. Dans une autre étude menée par A. Dublanche et al. (1977), la sensibilité de *F.nucleatum* au métronidazole a été établie avec une CMI de 0,5 µg. Ces études mettent en lumière la réponse de *F.nucleatum* au traitement antibiotique et enrichissent notre compréhension de sa sensibilité variable à ces médicaments.

### 4.4. Test oxydase

La bactérie ne montre pas de réaction positive au disque révélateur d'oxydase (Kovacs). En référençant de p.Shields et Cathcart (2010), la bactérie qui ne présente pas de changement

de couleur ou pernnent plus de 2 minutes est considéré comme négatif à l'oxydase. Ça veut dire que *F.nucleatum* est négatif à l'oxydase.

#### 4.5. Test catalase

Après une période de 40 secondes, aucune réaction n'a été détectée entre l'échantillon de *F. nucleatum* et le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Selon H. Khatoon *et al.* (2022), Un test est considéré positif lorsque des bulles se forment immédiatement, témoignant d'une réaction vigoureuse. À l'inverse, une réaction plus faible est notée par la présence de quelques bulles. Un test négatif se manifeste par l'absence de bulles ou par l'apparition de seulement quelques-unes après 20 secondes comme il présente sur le photo.



**Photo10.**Résultat du test catalase.

#### 4.6. Analyse des huiles essentielles par Chromatographie en Phase Gazeuse

Les résultats des analyses chimiques des huiles essentielles diviées au centre d'analysCRAPC sont comme suit :

**Tableau 03.** Composition d'huile de thé vert

Huile	Composants	Composant principale
Thé vert	48 Composants (Cymene, Pinene, Beta terpineol, Alpha terpineol, Limonene, Cadinene)	Terpineol

--	--	--

Le principe actif d'huile de thé est terpinen-4-ol, en se référant à Chia-Jung Lee *et al.* 2013. Cette étude confirme les résultats obtenus.

L'analyse chromatographique du thé vert a révélé la présence de 48 composants distincts, parmi lesquels le Terpeneol se distingue comme le composant principal. Le Terpeneol, un alcool monoterpénique, est reconnu pour ses propriétés aromatiques et ses effets potentiels bénéfiques pour la santé, tels que ses activités antibactériennes et antioxydantes (Jang et al 2011). Les autres composants identifiés, tels que le Cymène, le Pinène, le Beta terpinéol, l'Alpha terpinéol et le Limonène, contribuent également à l'arôme caractéristique du thé vert et peuvent posséder divers effets physiologiques et applications potentielles. Cette diversité chimique souligne la complexité du thé vert en tant que source de composés bioactifs, ouvrant ainsi des perspectives intéressantes pour la recherche en alimentation, en médecine traditionnelle et en cosmétique (Zhang et al 2012).

**Tableau 05.** Composition d'huile de *yalangyalang*

Huile	Composants	Composant principale
<i>Yalangyalang</i>	14 composants(benzylbenzoate, Geranyl alpha terpinene, cinnamyl acetate E.)	Benzyl benzoate

Selon recherche de Vittoria *et al*(2022) ,les composants de huile de *yalangyalang* sont ,germacrene D, l inlool , cinnamylacetate , benzylacetate , qui concordent avec ceux de cette analyse.

L'huile essentielle d'Ylang Ylang est composée de 14 composants, parmi lesquels le Benzyl Benzoate se distingue comme le composant principal. Le Benzyl Benzoate est un ester aromatique utilisé couramment en parfumerie et en cosmétique, connu pour ses propriétés apaisantes et son agréable odeur sucrée-amère (Smith et al 2005) , tandis que les autres



composants notables incluent le Geranyl alpha terpinène et l'acétate de cinnamyle, qui contribuent à l'arôme caractéristique et aux potentiels effets thérapeutiques de l'huile d'Ylang Ylang. Cette composition diversifiée offre des perspectives intéressantes pour son utilisation en aromathérapie et dans d'autres applications cosmétiques et médicinales (smith et al 2005).

**Tableau 06.** Composition d'huile de menthe

Huile	Composants	Composant principale
Menthe	42 composants (Carvone Camphene, Linalol, Alpha trepineol, Germacrene D.)	Carvone

Les principaux composants de cette huile (*Menthaspicata*) sont carvone ,linalol ,alpha trepinol et autres ,il sont en concordance avec les résultats corroborés avec la recherche de Reddy *et al* (2019) et Mekhelfiet *al* (2023).

L'huile essentielle de menthe est composée de 42 composants, parmi lesquels la Carvone se distingue comme le composant principal. La Carvone est un monoterpène présentant des propriétés aromatiques caractéristiques, notamment dans la menthe, où elle contribue à son arôme rafraîchissant et mentholé ( Baser etBuchbauer 2010). Les autres composants présents en plus petites quantités, tels que l'acétate d'eugényle, le méthyl salicylate, et le chavicol, contribuent également aux propriétés pharmacologiques variées du clou de girofle, notamment en matière de santé buccale, de soulagement de la douleur et de lutte contre les infections.

(Annexe 3)

#### 4.7. Aromatogramme

L'aromatogramme, représentant l'efficacité des huiles essentielles contre les bactéries *F.nucleatum*, a montré des résultats encourageants. La plus grande sensibilité a été enregistrée avec l'huile d'arbre à thé avec un diamètre de 22 mm, suivie par l'huile de menthe avec un diamètre de 18 mm, puis l'huile de lavande avec un diamètre de 17 mm Aucune sensibilité n'a été enregistrée envers l'huile de clou de girofle et l'huile de Canangaodorata. Plusieurs études antérieures soutiennent fermement les résultats de cette expérience. Une étude menée par Thosaret *al.* (2013) a démontré l'efficacité de l'huile d'arbre à thé contre les

bactéries buccales. De plus, l'efficacité de l'huile d'arbre à thé et de l'huile de lavande a été confirmée par une étude menée par Takarada *et al.* (2004), avec la détermination de la valeur CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) pour chacune (CMI pour l'huile d'arbre à thé = 0,12, CMI pour l'huile de lavande = 0,5). Une autre étude menée par A. Ben Lagha *et al.* (2020) a également confirmé l'efficacité de la menthe poivrée contre les bactéries *F.nucleatum*.

#### 4.8. Détermination de concentration minimale inhibitrice

Sur la base de la constatation que l'huile d'arbre à thé est l'ingrédient principal inhibiteur dans le produit souhaité, la valeur minimale de concentration inhibitrice requise est déterminée pour cette seule huile. Selon les résultats de l'étude menée par Takarada *et al.* (2004), l'huile essentielle de thé présente une activité inhibitrice vis-à-vis des bactéries appartenant au genre *Fusobacterium*, dans une plage de concentrations comprise entre 0,527mg/ml. Alors il est conclu que la concentration minimale inhibitrice de la croissance des bactéries du genre *Fusobacterium* est de 0,527mg/ml.

#### 4.9.Préparation de Bain de bouche et pommade anti-inflammatoire

Tous les ingrédients utilisés dans la fabrication du bain buccal et de la crème anti-inflammatoire ont été étudiés avec précision conformément aux recherches scientifiques établies. Chaque ingrédient possède des propriétés thérapeutiques liées au nettoyage de la cavité buccale, comme indiqué dans les résultats de l'analyse de l'aromatogramme des études antérieures menées par Ben Lagha *et al.* (2020), Takarada *et al.* (2004), ainsi que d'autres chercheurs ayant démontré l'efficacité des huiles essentielles de l'arbre à thé, de la lavande et de la menthe. L'huile de clou de girofle possède une propriété anti-inflammatoire. (Atero *et al.* 2024) Selon une étude menée par Taher *et al.* (2015), une expérience a été réalisée sur la patte des souris enflammée et enflée, et les résultats de l'étude ont montré l'efficacité et la rapidité de l'huile de clou de girofle dans l'inhibition de l'inflammation. Ylang ylang démontre des propriétés antibactériennes puissantes et possède des capacités antiinflammatoires, ce qui le rend efficace pour inhiber la formation de biofilm. (Stashenko *et al.* 1993). Dans une étude, Nevin et Rajmohan a démontré les propriétés hydratantes de l'huile de noix de coco. Pour la vitamine E est un puissant antioxydant., selon G.W.Burton *et al.* (1983), la vitamine E empêche la formation de particules nocives d'oxygène réactif pendant la dégradation des

grasses et les réactions de chaîne des radicaux libres. L'alpha, gamma et delta-tocophérols, principaux composants de la vitamine E, jouent un rôle crucial dans la lutte contre le cancer. Par exemple, on pense que l'alpha-tocophérol limite la production de certaines protéines, démontrant ainsi son efficacité contre le cancer. (Gysin *et al.* 2002). (**Photo11**)



**Photo 11.** Les produits après fabrication. (Originale).

#### 4.10. Analyse de contrôle de qualité des produits

Le rapport d'analyse provenant du laboratoire Moussaoui confirme la conformité des résultats des tests microbiologiques pour les deux produits, en accord avec les normes internationales de l'ISO. Notamment, le bain de bouche démontre une absence de germes, attribuable aux conditions de stérilité rigoureuses de l'environnement de travail ainsi qu'à la procédure de stérilisation des flacons d'emballage effectuée dans l'autoclave. En revanche, la pommade révèle la présence de germes aérobies, néanmoins dans des limites acceptables selon les critères établis. Pour le bain de bouche, le pH est de 7.38 à une température de 20°C. Tandis que pour la pommade, le pH est de 7.15 à une température de 19°C. (**photo12**)



**Photo12.** Mesure de ph et T de pommade et de bain de bouche (originale).

#### 4.11. Résultats du test de sensibilité aux huiles

Les résultats sont bons, aucune réaction allergique, irritation ou sensibilité n'a été observée chez les personnes testées après l'application de gouttes d'huiles légèrement diluées sur leurs mains. (**Photo13**)



**Photo 13.** Les résultats du test d'allergie aux huiles sur un groupe de 10 personnes.  
(Originale).

#### 4.12. Résultat de l'utilisation d'un bain de bouche

Après 9 jours d'utilisation de bain bouche par un malade atteint de gingivite, les résultats sont étai montrés dans la **photo14**.



**Photo 14.** Effet de Bain de bouche après 9 jours

Nous avons noté que La couleur des gencives devient claire et saignement des gencives s'arrête lorsque le patient se brosse les dents.

# Conclusion

## Conclusion

L'étude sur *Fusobacteriumnucleatum* met en lumière son rôle significatif dans la pathogenèse des maladies buccales et son lien avec le développement de cancers, notamment le cancer buccal. L'identification précise de *F.nucleatum* à partir trois d'échantillons des patients atteints de cancer buccal, ainsi que les méthodes dediagnostique microbiologique, ont été rigoureusement détaillées. Les effets de la chimiothérapie ont été observé à travers des entretiens avec des patients, mettant en évidence les défis liés à l'inflammation des tissus buccaux, exacerbés par certains traitements comme les rince-bouches à base d'alcool.

Pour répondre à ces défis, une approche a été entreprise avec la préparation d'un bain de bouche thérapeutique à base d'huiles essentielles naturelles, spécifiquement formulé pour les patients atteints de cancer. Les tests de sensibilité et l'analyse des composés chimiques des huiles essentielles ont validé leur efficacité contre *F.nucleatum*. La production et l'évaluation du rince-bouche ont été réalisées sous des normes strictes de stérilité et de qualité, démontrant une amélioration notable de l'état des gencives chezle patients traité.

En conclusion, cette étude ouvre la voie à des approches thérapeutiques innovantes pour atténuer les complications buccales chez les patients atteints de cancer, en mettant l'accent sur des solutions naturelles efficaces et bien tolérées.

# **Les références Bibliographique**





## Les références bibliographiques

1. **Adams, R. P. (2001).** *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. Allured publishing corporation.
2. **Ameur, E., Sarra, M., Yosra, D., Mariem, K., Nabil, A., Lynen, F., & Larbi, K. M. (2021).** Chemical composition of essential oils of eight Tunisian Eucalyptus species and their antibacterial activity against strains responsible for otitis. *BMC complementary medicine and therapies*, 21, 1-16.
3. **Allen-Vercoe, E., Strauss, J., & Chadee, K. (2011).** *Fusobacterium nucleatum*: an emerging gut pathogen?. *Gut microbes*, 2(5), 294-298
4. **Atanasova, K. R., & Yilmaz, Ö. (2015).** Prelude to oral microbes and chronic diseases: past, present and future. *Microbes and Infection*, 17(7), 473-483.
5. **Areias, F., Valentão, P., Andrade, P. B., Ferreres, F., & Seabra, R. M. (2000).** Flavonoids and phenolic acids of sage: influence of some agricultural factors. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(12), 6081-6084.
6. **Bakken, V., & Jensen, H. B. (1986).** Outer membrane proteins of *Fusobacterium nucleatum* Fev1. *Microbiology*, 132(4), 1069-1078.
7. **Bakken, V., S. Aarø, and H. B. Jensen. 1989.** Purification and partial characterization of a major outer-membrane protein of *Fusobacterium nucleatum*. *J. Gen. Microbiol.* 135:3253–3262)
8. **BAKKEN, V., HÖGH, B. T., & JENSEN, H. B. (1990).** Growth conditions and outer membrane proteins of *Fusobacterium nucleatum*. *European Journal of Oral Sciences*, 98(3), 215-224.
9. **Bakry, A. M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M. Y., Mousa, A., & Liang, L. (2016).** Microencapsulation of oils: A comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 15(1), 143-182.
10. **Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966).** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4\_ts), 493-496.
11. **Boukhatem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une*, 3(4), 1653-1659

12. **Bouchonnet, S., & Libong, D. (2004).** Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. *Actualité Chimique*, 7-14.
13. **Brennan, C. A., & Garrett, W. S. (2019).** *Fusobacterium nucleatum*—symbiont, opportunist and oncobacterium. *Nature Reviews Microbiology*, 17(3), 156-166.
14. **Bronzato, J. D., Bomfim, R. A., Edwards, D. H., Crouch, D., Hector, M. P., & Gomes, B. P. (2020).** Detection of *Fusobacterium* in oral and head and neck cancer samples: A systematic review and meta-analysis. *Archives of oral biology*, 112, 104669.
15. **Carbonnelle D., Kouyoumdjian S., Audurier A., (1988).** Bactériologie médicale techniques usuelles. *Méd. Mal. Inf. France*. 251
16. **Casasanta, M. A., Yoo, C. C., Smith, H. B., Duncan, A. J., Cochrane, K., Varano, A. C., ... & Slade, D. J. (2017).** A chemical and biological toolbox for Type Vd secretion: Characterization of the phospholipase A1 autotransporter FplA from *Fusobacterium nucleatum*. *Journal of Biological Chemistry*, 292(49), 20240-20254
17. **Ćavar, S., Maksimović, M., Vidic, D., & Parić, A. (2012).** Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia annua* L. from Bosnia. *Industrial crops and products*, 37(1), 479-485.
18. **Chanzy, B., Miscopein, G., Bouchet, A., Martin, C., & Sedallian, A. (1990).** *Fusobacterium nucleatum*, origines cliniques et identification. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 20, 97-99
19. **Chauvin, J. M., Pagliano, O., Fourcade, J., Sun, Z., Wang, H., Sander, C., ... & Zarour, H. M. (2015).** TIGIT and PD-1 impair tumor antigen-specific CD8+ T cells in melanoma patients. *The Journal of clinical investigation*, 125(5), 2046-2058.
20. **CHEMAT, F., & LUCCHESI, M. E. (2005).** Extractions assistées par micro-ondes des huiles essentielles et des extraits aromatiques. *Journal de la Société ouest africaine de chimie*, (20), 77-99.
21. **Chen, Y., Huang, Z., Tang, Z., Huang, Y., Huang, M., Liu, H., ... & Zhao, J. (2022).** More than just a periodontal pathogen—the research progress on *Fusobacterium nucleatum*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 815318.
22. **Chen, X., Zhang, L., Qian, C., Du, Z., Xu, P., & Xiang, Z. (2020).** Chemical compositions of essential oil extracted from *Lavandula angustifolia* and its prevention of TPA-induced inflammation. *Microchemical Journal*, 153, 104458.
23. **Chinn, S. B., & Myers, J. N. (2015).** Oral cavity carcinoma: current management, controversies, and future directions. *Journal of clinical oncology*, 33(29), 3269

24. **Clave, D. (2012).** *Fiche technique ET bactériologique*. Laboratoire de Bactériologie Hygiène, CHU Toulouse.
25. **Clevenger, J. F. (1928).** Apparatus for the determination of volatile oil. *The Journal of the American Pharmaceutical Association* (1912), 17(4), 345-349
26. **Delarras C., (2007).** *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôlesanitaire*. Edition. Lavoisier: Tec & Doc. Paris.
27. **Despins, C. A., Brown, S. D., Robinson, A. V., Mungall, A. J., Allen-Vercoe, E., & Holt, R. A. (2021).** Modulation of the host cell transcriptome and epigenome by *Fusobacterium nucleatum*. *Mbio*, 12(5), 10-1128.
28. **Dickinson, B. C., Moffatt, C. E., & Hagerty, D. (2011).** Interaction of oral bacteria with gingival epithelial cell multilayers. *Molecular Oral Microbiology*. Dr. Dimitra Lamprinaki, Dr. Anna Notaro
29. **Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016).** Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*, 3(4), 25.
30. **DZIA, A. W. (2016).** Evaluation of the tea tree oil activity to anaerobic bacteria-in vitro study. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 73, 389.
31. **El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E. A., Casabianca, H., ... & Elaissari, A. (2015).** Essential oils: From extraction to encapsulation. *International journal of pharmaceutics*, 483(1-2), 220-243.
32. **Fardini, Y., Wang, X., Témoïn, S., Nithianantham, S., Lee, D., Shoham, M., & Han, Y. W. (2011).** *Fusobacterium nucleatum* adhesin FadA binds vascular endothelial cadherin and alters endothelial integrity. *Molecular Microbiology*, 82(6), 1468-1480.
33. **Freires, I. A., Denny, C., Benso, B., Alencar, S. M. D., & Rosalen, P. L. (2015).** Antibacterial activity of essential oils and their isolated constituents against cariogenic bacteria: a systematic review. *Molecules*, 20(4), 7329-7358
34. **Finlay, B. B., & Falkow, S. (1997).** Common themes in microbial pathogenicity revisited. *Microbiology and molecular biology reviews*, 61(2), 136-169.

35. **Frohlich, P. C., Santos, K. A., Palu, F., Cardozo-Filho, L., da Silva, C., & da Silva, E. A. (2019).** Evaluation of the effects of temperature and pressure on the extraction of eugenol from clove (*Syzygium aromaticum*) leaves using supercritical CO<sub>2</sub>. *The Journal of Supercritical Fluids*, 143, 313-320.
36. **Gao, L., Xu, T., Huang, G., Jiang, S., Gu, Y., & Chen, F. (2018).** Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein & cell*, 9(5), 488500.
37. **Garcia ... & De Castro, C. (2021).** Structure of the O -Vello, P., Di L  
Lipopolysaccharide of *Fusobacterium nucleatum* ATCC -Antigen and the Lipid A fr  
51191. *ChemBioChem*, 22(7), 1252-1260.
38. **Gendrot, M. (2021). Geng, F., Zhang, Y., Lu, Z., Zhang, S., & Pan, Y. (2020).** *Fusobacterium nucleatum* caused DNA damage and promoted cell proliferation by the  
Ku70/p53 pathway in oral cancer cells. *DNA and cell biology*, 39(1), 144-151
39. **Gravel, C. (1999).** Effets de paramètres environnementaux sur *Fusobacterium nucleatum*.  
Université Laval.
40. **Groeger, S., & Meyle, J. (2019).** Oral mucosal epithelial cells. *Frontiers in immunology*, 10, 423006
41. **Gur, C., Ibrahim, Y., Isaacson, B., Yamin, R., Abed, J., Gamliel, M., ... & Mandelboim, O. (2015).** Binding of the Fap2 protein of *Fusobacterium nucleatum* to human inhibitory receptor TIGIT protects tumors from immune cell attack. *Immunity*, 42(2), 344-355.
42. **Han, Y. W., & Wang, X. (2013).** Mobile microbiome: oral bacteria in extra-oral infections and inflammation. *Journal of dental research*, 92(6), 485-491.
43. **Han, Y. W. (2015).** *Fusobacterium nucleatum*: a commensal-turned pathogen. *Current opinion in microbiology*, 23, 141-147.
44. **Healy, C. M., & Moran, G. P. (2019).** The microbiome and oral cancer: More questions than answers. *Oral oncology*, 89, 30-33.

45. **Hofstad, T. (1992).** The genus *Fusobacterium*. In *The prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications* (pp. 4114-4126). New York, NY: Springer New York
46. **Hsueh, C. Y., Lau, H. C., Huang, Q., Gong, H., Sun, J., Cao, P., ... & Zhou, L. (2022).** *Fusobacterium nucleatum* impairs DNA mismatch repair and stability in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer*, 128(17), 31703184.
47. **International Organization for Standardization. (2017).** ISO 16212: Enumeration of yeasts and molds in cosmetic microbiology (6th ed.).
48. **International Organization for Standardization. (2017).** ISO 18415: Detection of specified and unspecified microorganisms in cosmetic microbiology (6th ed.).
49. **International Organization for Standardization. (2016).** ISO 18416: Detection of *Candida albicans* in cosmetic microbiology (1st ed., corrected version 2016-12-15).
50. **International Organization for Standardization. (2017).** ISO 21149: Detection and enumeration of aerobic mesophilic bacteria in cosmetic microbiology (6th ed.).
51. **International Organization for Standardization. (2015).** ISO 21150: Detection of *Escherichia coli* in cosmetic microbiology (1st ed.).
52. **International Organization for Standardization. (2015).** ISO 22718: Detection of *Staphylococcus aureus* in cosmetic microbiology (1st ed.).
53. **Jehl, F., Chabaud, A., & Grillon, A. (2015).** L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? *Journal Des Anti-Infectieux*, 17(4), 125–139.
54. **Kaplan, C. W., Ma, X., Paranjpe, A., Jewett, A., Lux, R., Kinder-Haake, S., & Shi, W. (2010).** *Fusobacterium nucleatum* outer membrane proteins Fap2 and RadD induce cell death in human lymphocytes. *Infection and immunity*, 78(11), 4773-4778.
55. **Kosar, M., Tunalier, Z., Özek, T., Kürkcüoğlu, M., & Can Baser, K. H. (2005).** A simple method to obtain essential oils from *Salvia triloba* L. and *Laurus nobilis* L. by using microwave-assisted hydrodistillation. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 60(5-6), 501-504.
56. **Khaton, H., Anokhe, A., & Kalia, V. (2022).** Catalase Test: A Biochemical Protocol for Bacterial Identification. *AgriCos e-Newsletter*, 3(1), 53-55.

57. **La Rosa, G. R. M., Gattuso, G., Pedullà, E., Rapisarda, E., Nicolosi, D., & Salmeri, M. (2020).** Association of oral dysbiosis with oral cancer development. *Oncology letters*, 19(4), 3045-3058.
58. **Lee, C. J., Chen, L. W., Chen, L. G., Chang, T. L., Huang, C. W., Huang, M. C., & Wang, C. C. (2013).** Correlations of the components of tea tree oil with its antibacterial effects and skin irritation. *Journal of Food and Drug Analysis*, 21(2), 169176.
59. **Li, D. H., Li, Z. P., Zhang, Y., Zhou, G. Z., Ren, R. R., Zhao, H. J., ... & Yang, Y. S. (2021).** Fecal *Fusobacterium nucleatum* harbored virulence gene *fadA* are associated with ulcerative colitis and clinical outcomes. *Microbial Pathogenesis*, 157, 104964.
60. **Matos, A. O., Barão, V. A. R., & Gregory, R. L. (2023).** Nicotine is a potent extracellular polysaccharide inducer in *Fusobacterium nucleatum* biofilms. *Brazilian Journal of Oral Sciences*, 22, e231137.
61. **Martin, I. (2007).** Aromatherapy for massage practitioners. Lippincott Williams & Wilkins.
62. **Microbes, S. (2015).** Atlas of Oral Microbiology.
63. **Mima, K., Sukawa, Y., Nishihara, R., Qian, Z. R., Yamauchi, M., Inamura, K., ... & Ogino, S. (2015).** *Fusobacterium nucleatum* and T cells in colorectal carcinoma. *JAMA oncology*, 1(5), 653-661.
64. **Moore, W. E. C., & Moore, L. V. (1994).** The bacteria of periodontal diseases. *Periodontology* 2000,5(1), 66-77.
65. **Moncla, B. J., Braham, P., & Hillier, S. (1990).** Sialidase (neuraminidase) activity among gram-negative anaerobic and capnophilic bacteria. *Journal of clinical microbiology*, 28(3), 422-425.
66. **Neuzillet, C., Marchais, M., Vacher, S., Hilmi, M., Schnitzler, A., Meseure, D., ... & Bieche, I. (2021).** Prognostic value of intratumoral *Fusobacterium nucleatum* and association with immune-related gene expression in oral squamous cell carcinoma patients. *Scientific Reports*, 11(1), 7870.

67. **Osei-Safo, D., Addae-Mensah, I., Garneau, F. X., & Koumaglo, H. K. (2010).** A comparative study of the antimicrobial activity of the leaf essential oils of chemo-varieties of *Clausenaanisata* (Willd.) Hook. f. ex Benth. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 634-638.
68. **Okamoto, A. C., Arana-Chavez, V. E., & Avila-Campos, M. J. (2002).** Influence of subinhibitory concentrations of antimicrobials on hydrophobicity, adherence and ultra-structure of *Fusobacterium nucleatum*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 33, 178-184.
69. **Ogawa, A. T., de Uzeda, M., Jankevicius, J. V., & Jankevicius, S. I. (2006).** Characterization of proteolytic activities of *Fusobacterium nucleatum*. *Journal of Endodontics*, 32(6), 521-523.
70. **Osei-Safo, D., Addae-Mensah, I., Garneau, F. X., & Koumaglo, H. K. (2010).** A comparative study of the antimicrobial activity of the leaf essential oils of chemovarieties of *Clausenaanisata* (Willd.) Hook. f. ex Benth. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 634-638.
71. **Pignatelli, P., Nuccio, F., Piattelli, A., & Curia, M. C. (2023).** The role of *Fusobacterium nucleatum* in oral and colorectal carcinogenesis. *Microorganisms*, 11(9), 2358.
72. **Pizzale, L., Bortolomeazzi, R., Vichi, S., Überegger, E., & Conte, L. S. (2002).** Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. onites*) extracts related to their phenolic compound content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(14), 1645-1651.
73. **Reddy, D. N., & Al-Rajab, A. J., et al. (2019).** Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of *Mentha × Piperita* L. (peppermint) essential oils. *Journal of King Saud University - Science*, 31(4).
74. **Roller, S., & Seedhar, P. (2002).** Carvacrol and cinnamic acid inhibit microbial growth in fresh *Leucoselinum*. *Letters in Applied Microbiology*, 35(5), 390-394.
75. **Saputri, D., Abrar, M., & Mubarak, Z. (2021).** The Role of *Fusobacterium Nucleatum* on Chronic Periodontitis (Literature Review). In 1st Aceh International Dental Meeting (AIDEM 2019), Oral Health International Conference On Art, Nature And Material Science Development 2019 (pp. 17-21). Atlantis Press.
76. **Sedallian, A. (1990).** Isolement et identification des bacteries anaerobies strictes: Principaux germes isolés de produits pathologiques. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 20, 83-88.
77. **Shields, P., & Cathcart, L. (2010).** Oxidase test protocol. *American Society for Microbiology*, 1-9.
77. **Slade, D. J. (2021).** New roles for *Fusobacterium nucleatum* in cancer: target the bacteria, host, or both? *Trends in Cancer*, 7(3), 185-187.



78. **Strauss, J., Kaplan, G. G., Beck, P. L., Rioux, K., Panaccione, R., DeVinney, R., ... & Allen-Vercoe, E. (2011).** Invasive potential of gut mucosa-derived *Fusobacterium nucleatum* positively correlates with IBD status of the host. *Inflammatory bowel diseases*, 17(9), 1971-1978.
79. **Sutter, V. L., Citron, D. M., & Finegold, S. M. (1980).** Wadsworth anaerobic bacteriology manual. (No Title).
80. **Tarak, M., Manel, Z. D. D., & El, B. M. L. M. N. (2023).** Spearmint (*Mentha spicata* L) essential oil cultivated in Algerian Sahara (Ouargla): Chemical composition and comparison with other regions of Algeria and Mediterranean area. *Tobacco Regulatory Science (TRS)*, 2524-2540.
81. **Takarada, K., Kimizuka, R., Takahashi, N., Honma, K., Okuda, K., & Kato, T. (2004).** A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. *Oral microbiology and immunology*, 19(1), 61-64.
82. **Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018).** Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of periodontology*, 89, S159-S172.
83. **Umaña, A., Sanders, B. E., Yoo, C. C., Casasanta, M. A., Udayasuryan, B., Verbridge, S. S., & Slade, D. J. (2019).** Utilizing whole *Fusobacterium* genomes to identify, correct, and characterize potential virulence protein families. *Journal of Bacteriology*, 201(23), 10-1128.
84. **Vander Haar, E. L., So, J., Gyamfi-Bannerman, C., & Han, Y. W. (2018).** *Fusobacterium nucleatum* and adverse pregnancy outcomes: Epidemiological and mechanistic evidence. *Anaerobe*.
85. **Vyhnalova, T., Danek, Z., Gachova, D., & Linhartova, P. B. (2021).** The role of the oral microbiota in the etiopathogenesis of oral squamous cell carcinoma. *Microorganisms*, 9(8), 1549.
86. **Wu, P., Zhou, J., Wu, Y., & Zhao, L. (2021).** The emerging role of Interleukin 37 in bone homeostasis and inflammatory bone diseases. *International Immunopharmacology*, 98, 107803
87. **Xu, M., Yamada, M., Li, M., Liu, H., Chen, S. G., & Han, Y. W. (2007).** FadA from *Fusobacterium nucleatum* utilizes both secreted and nonsecreted forms for functional oligomerization for attachment and invasion of host cells. *Journal of Biological Chemistry*, 282(34), 25000-25009

88. **Yang, S. F., Lin, C. W., Chuang, C. Y., Lee, Y. C., Chung, W. H., Lai, H. C., ... & Su, S. C. (2022).** Host genetic associations with salivary microbiome in oral cancer. *Journal of Dental Research*, 101(5), 590-598
89. **Zaibet, W. (2016).** Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de *Daucus aureus* (Desf) et de *Reuterolutea* (Desf.) Maire, et leur application comme agents antimicrobiens dans le polyéthylène basse densité (PEBD) (Doctoral dissertation, Université Ferhat Abbas).
90. **Zhang, X., Xiao, H., Zhang, H., & Jiang, Y. (2023).** *Lactobacillus plantarum* surface-displayed FomA (*Fusobacterium nucleatum*) protein generally stimulates protective immune responses in mice. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1228857.
91. **Zhang, S., Li, C., Liu, J., Geng, F., Shi, X., Li, Q., ... & Pan, Y. (2020).** *Fusobacterium nucleatum* promotes epithelial nsite research regulation of the IncRNA MIR4435 The GBIR; 2021, 587(12), SNAI1 signaling 4032-4047.
92. **Zitvogel, L., Ayyoub, M., Routy, B., & Kroemer, G. (2016).** Microbiome and anticancer immunosurveillance. *Cell*, 165(2), 276-287.
93. **Zuo, X., Gu, Y., Wang, C., Zhang, J., Zhang, J., Wang, G., & Wang, F. (2020).** A systematic review of the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of essential oils of herbs. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2020, 1-12. 8878927.
94. **Jang, H.J., Kim, K.H., Han, J.M., Kim, M.G., Kwon, Y.S.,** 2011. Volatile compounds and aroma active compounds in green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43, 363-369.
95. **Kim, Y.H., Kim, D.H., Lim, H., Baek, D.Y., Shin, H.K., Kim, J.K.,** 2012. Inhibition of platelet aggregation and thrombosis by indole-3-carbinol in mice. *Nutr. Res. Pract.* 6, 457-463.
96. **Smith, R.L., Adams, T.B., Doull, J., Feron, V.J., Goodman, J.I., Marnett, L.J., Portoghese, P.S., Waddell, W.J., Wagner, B.M., Rogers, A.E.,** 2005. Safety assessment of allylalkoxybenzene derivatives used as flavouring substances - methyl eugenol and estragole. *Food Chem. Toxicol.* 43, 1241-1275.
97. **Baser, K.H., Buchbauer, G.,** 2010. *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications.* CRC Press, Boca Raton, FL.<sup>12</sup>



# **Annexes**

## Annexe 01

### Entretien avec un chirurgien maxillo-facial

1. Avez-vous des patients actuels ou passés diagnostiqués avec un cancer de la bouche ?

-Oui, certains de mes patients ont été diagnostiqués avec un cancer de la bouche, tant dans le passé que récemment. J'ai diagnostiqué 5 cas jusqu'à présent.

2. Y a-t-il des patients se plaignant de symptômes suspects indiquant un cancer de la bouche ?

- Oui, je suis actuellement en charge de patients qui présentent des symptômes tels que des ulcérations buccales et des gonflements inhabituels, nécessitant un examen clinique minutieux et d'autres tests pour exclure la possibilité de cancer de la bouche.

3. Des opérations chirurgicales ont-elles été effectuées sur des patients atteints de cancer de la bouche récemment ?

-J'ai réalisé des interventions chirurgicales sur plusieurs patients, impliquant l'ablation de la tumeur et la restauration des fonctions de la bouche et du visage. Cependant, la plupart des cas sont diagnostiqués à un stade avancé, ce qui retarde parfois l'intervention chirurgicale en raison d'un dépistage tardif des premiers symptômes.

4. Des patients ont-ils été référés à des centres spécialisés dans le traitement du cancer de la bouche ?

-Oui, j'ai déjà référé des patients à des centres spécialisés pour un traitement avancé, y compris la chimiothérapie.

5. Y a-t-il des stratégies ou des programmes spécifiques de prévention du cancer de la bouche appliqués dans votre clinique ?

-Les programmes de prévention que nous appliquons dans ma clinique mettent l'accent sur les examens réguliers de la cavité buccale et la sensibilisation aux modes de vie sains.

6. Croyez-vous qu'il y ait une relation entre l'activité bactérienne dans la bouche et les chances de développer un cancer de la bouche ?

-La relation entre l'activité bactérienne et le risque de cancer de la bouche est illustrée par l'importance de maintenir une bonne hygiène buccale comme mesure préventive.

## **Annexe 02**

### **Entretien**

Pendant mon stage au laboratoire d'analyses médicales du service d'oncologie du Centre Hospitalier Hakim Saadane, j'ai observé que la majorité des patients souffraient de problèmes buccaux tels que des ulcérations, des inflammations et des gonflements. Ces problèmes sont attribués dans certains cas à une exposition à un traitement chimiothérapique, tandis que dans d'autres cas, ils sont liés à une négligence en matière d'hygiène buccale.

## Annexe 03



Laboratoire Moussaoui de contrôle de qualité et de conformité  
Agréé par le ministère du commerce (Autorisation : N°015/2020)  
R.C. : 07/00-1252801 A 16  
NIF: 189070105414193  
N°ART : 07016703407

## BULLETIN D'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE -N°444

Date de prélèvement : --/05/2024  
Date de réception : 28/05/2024  
Nature: Bain de boche bio

Demandeur : **Dabla Fatima**  
Adresse : **Biskra.**  
Mobile : **0668196229**

## ANALYSE MICROBIOLOGIQUE

Tableau d'analyse :

		Résultats						
	Détermination	Ech 01	Ech 02	Ech 03	Ech 04	Ech 05	Spécification	Méthode
01	Escherichia coli	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence dans 1 ml ou 1g	ISO 21150
02	Micro-organismes aérobies mésophiles	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	$\leq 10^3$ à $\leq 2 \times 10^3$	ISO 21149
03	Levures et Moisissures (20-25°C)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	$\leq 10^2$	ISO 16212
04	Staphylococcus aureus à (37°)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence dans 1 ml ou 1g	ISO 22718
05	Pseudomonas Aëroginosa à (37°)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence dans 1 ml ou 1g	ISO 22717
06	Candida albicans	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence dans 1 ml ou 1g	ISO 18416

## CONCLUSION :

En application des dispositions de l'arrêté interministériel (21/10/2019) relatif aux spécifications microbiologiques des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle publiées au journal officiel N° 16 - 24/03/2020, ce produit est d'une qualité microbiologique **satisfaisante..**

Fait à Biskra le : 04.06.2024

Cachet et signature



07.70.27.16.18  
05.60.17.09.14

033.50.37.05

moussaouilabo.07@outlook.com

177 logements individuels  
Biskra



Laboratoire Moussaoui de contrôle de qualité et de conformité  
Agréé par le ministère du commerce (Autorisation : N°015/2020)  
R.C. : 07/00-1252801 A 16  
NIF: 189070105414193  
N°ART : 07016703407

### BULLETIN D'ANALYSEPHYSICO-CHEMIQUE -N°443

Date de prélèvement : --/05/2024  
Date de réception : 28/05/2024  
Nature: Bain de boche bio

Demandeur : **Dabla Fatima**  
Adresse : **Biskra.**  
Mobile : **0668196229**

#### Analyse physico-chimique

Tableau d'analyse :

Détermination	Résultats	Méthode
01 pH à 20°C	7.38	pH Mètre

Fait à Biskra le : 01.06.2024

Cachet et signature



07.70.27.16.18  
05.60.17.09.14



033.50.37.05



moussaouilabo.07@outlook.com



177 logements individuels  
Biskra





Laboratoire Moussaoui de contrôle de qualité et de conformité  
Agréé par le ministère du commerce (Autorisation : N°015/2020)  
R.C. : 07/00-1252801 A 16  
NIF : 189070105414193  
N°ART : 07016703407

### BULLETIN D'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE -N°446

Date de prélèvement : --/05/2024 Demandeur : **Dabla Fatima**  
Date de réception : **28/05/2024** Adresse : **Biskra.**  
Nature: **Pommade anti-inflammatoire (pour la bouche et les gencives)** Mobile : **0668196229**

### ANALYSE MICROBIOLOGIQUE

Tableau d'analyse :

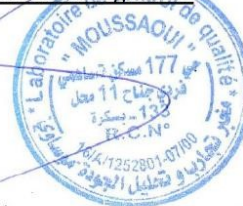
	Détermination	Résultats					Spécification	Méthode
		Ech 01	Ech 02	Ech 03	Ech 04	Ech 05		
01	Escherichia coli	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence dans 1 ml ou 1g	ISO 21150
02	Micro-organismes aérobies mésophiles	3.5x10 <sup>2</sup>	3.5x10 <sup>2</sup>	3.8x10 <sup>2</sup>	3.1x10 <sup>2</sup>	3.6x10 <sup>2</sup>	≤10 <sup>3</sup> à ≤2x10 <sup>3</sup>	ISO 21149
03	Levures et Moisissures (20-25°C)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	≤10 <sup>2</sup>	ISO 16212
04	Staphylococcus aureus à (37°)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence dans 1 ml ou 1g	ISO 22718
05	Pseudomonas Aérogénosa à (37°)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence dans 1 ml ou 1g	ISO 22717
06	Candida albicans	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence dans 1 ml ou 1g	ISO 18416

### CONCLUSION :

En application des dispositions de l'arrêté interministériel (21/10/2019) relatif aux spécifications microbiologiques des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle publiées au journal officiel N° 16 - 24/03/2020, ce produit est d'une qualité microbiologique **satisfaisante..**

Fait à Biskra le : 04.06.2024

Cachet et signature



07.70.27.16.18  
05.60.17.09.14



033.50.37.05



moussaouilabo.07@outlook.com



177 logements individuels  
Biskra



Laboratoire Moussaoui de contrôle de qualité et de conformité  
Agréé par le ministère du commerce (Autorisation : N°015/2020)  
R.C. : 07/00-1252801 A 16  
NIF: 189070105414193  
N°ART : 07016703407

### BULLETIN D'ANALYSEPHYSICO-CHEMIQUE -N°445

Date de prélèvement : --/05/2024

Demandeur : **Dabla Fatima**

Date de réception : **28/05/2024**

Adresse : **Biskra.**

Nature: **Pommade anti-inflammatoire (pour la bouche et les gencives)**

Mobile : **0668196229**

#### Analyse physico-chimique

Tableau d'analyse :

Détermination	Résultats	Méthode
01 pH à 20°C	7.15	pH Mètre

Fait à Biskra le : 01.06.2024

Cachet et signature



07.70.27.16.18  
05.60.17.09.14



033.50.37.05



moussaouilabo.07@outlook.com



177 logements individuels  
Biskra



## PTAPC BISKRA Rapport d'analyse GC-MS

### Sample Information

Analyzed by : ALMI  
 Analyzed : 24/06/2024 17:00:52  
 Sample Name : 1  
 Vial # : 4  
 Injection Volume : 0.50  
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Test Echantillon\1.qgd  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Data\Test Echantillon\1.qgd  
 Method File : C:\GCMSsolution\Data\Test Echantillon\huile essentielle.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\Data\Test Echantillon\huile essentielle.qgm  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1 Tuning 05032023.qgt  
 Modified by : Admin  
 Modified : 25/06/2024 10:52:05

### Method

[Comment]

==== Analytical Line 1 =====

[AOC-20i+]

```

# of Rinses with Presolvent :5
# of Rinses with Solvent(post) :5
# of Rinses with Sample :1
Punger Speed(Suction) :Low
Viscosity Comp. Time :0.2 sec
Punger Speed(Injection) :Low
Syringe Insertion Speed :Low
Injection Mode :Normal
Pumping Times :5
Inj. Port Dwell Time :0.3 sec
Terminal Air Gap :No
Punger Washing Speed :High
Washing Volume :8uL
Syringe Suction Position :0.0 mm
Syringe Injection Position :0.0 mm
Solvent Selection :only B
Column Oven Temp. :60.0 °C
Injection Temp. :250.00 °C
Injection Mode :Split
Flow Control Mode :Column Flow
Pressure :10.9 kPa
Total Flow :43.5 mL/min
Column Flow :0.50 mL/min
Linear Velocity :25.8 cm/sec
Purge Flow :3.0 mL/min
Split Ratio :80.0
High Pressure Injection :OFF
Carrier Gas Saver :OFF
Splitter Hold :OFF
Oven Temp. Program
Rate Temperature(°C) Hold Time(min)
- 60.0 8.00
5.00 280.0 10.00
Oven Cooling Rate :Middle
< Ready Check Heat Unit >
  Column Oven :Yes
  SPL1 :Yes
  MS :Yes
< Ready Check Detector(FTD BID) >
< Ready Check Baseline Drift >
< Ready Check Injection Flow >
  SPL1 Carrier :Yes
  SPL1 Purge :Yes
< Ready Check APC Flow >
< Ready Check Detector APC Flow >
External Wait :No
Equilibrium Time :3.0 min
Auto-flame On :OFF
Auto-flame Off :ON
Reignite :OFF
Auto-zero after Ready :ON
PrepRun Start :Auto
  
```



## PTAPC BISKRA Rapport d'analyse GC-MS

### Sample Information

Analyzed by : ALMI  
 Analyzed : 24/06/2024 19:01:09  
 Sample Name : 2  
 Vial # : 5  
 Injection Volume : 0.50  
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Test Echantillon\2.qgd  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Data\Test Echantillon\2.qgd  
 Method File : C:\GCMSsolution\Data\Test Echantillon\huile essentielle.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\Data\Test Echantillon\huile essentielle.qgm  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1 Tuning 05032023.qgt  
 Modified by : Admin  
 Modified : 25/06/2024 10:47:49

### Method

[Comment]

==== Analytical Line 1 =====

[AOC-20i+]

```

# of Rinses with Presolvent :5
# of Rinses with Solvent(post) :5
# of Rinses with Sample :1
Plunger Speed(Suction) :Low
Viscosity Comp. Time :0.2 sec
Plunger Speed(Injection) :Low
Syringe Insertion Speed :Low
Injection Mode :Normal
Pumping Times :5
Inj. Port Dwell Time :0.3 sec
Terminal Air Gap :No
Plunger Washing Speed :High
Washing Volume :8uL
Syringe Suction Position :0.0 mm
Syringe Injection Position :0.0 mm
Solvent Selection :only B
Column Oven Temp. :60.0 °C
Injection Temp. :250.00 °C
Injection Mode :Split
Flow Control Mode :Column Flow
Pressure :10.9 kPa
Total Flow :43.5 mL/min
Column Flow :0.50 mL/min
Linear Velocity :25.8 cm/sec
Purge Flow :3.0 mL/min
Split Ratio :80.0
High Pressure Injection :OFF
Carrier Gas Saver :OFF
Splitter Hold :OFF
Oven Temp. Program
Rate Temperature(°C) Hold Time(min)
- 60.0 8.00
5.00 280.0 10.00
Oven Cooling Rate :Middle
< Ready Check Heat Unit >
  Column Oven :Yes
  SPL1 :Yes
  MS :Yes
< Ready Check Detector(FTD BID) >
< Ready Check Baseline Drift >
< Ready Check Injection Flow >
  SPL1 Carrier :Yes
  SPL1 Purge :Yes
< Ready Check APC Flow >
< Ready Check Detector APC Flow >
External Wait :No
Equilibrium Time :3.0 min
Auto-flame On :OFF
Auto-flame Off :ON
Reignite :OFF
Auto-zero after Ready :ON
PrepRun Start :Auto
  
```



## PTAPC BISKRA Rapport d'analyse GC-MS

### Sample Information

Analyzed by : ALMI  
 Analyzed : 24/06/2024 21:01:32  
 Sample Name : 3  
 Vial # : 6  
 Injection Volume : 0.50  
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Test Echantillon\3.qgd  
 Org Data File : C:\GCMSsolution\Data\Test Echantillon\3.qgd  
 Method File : C:\GCMSsolution\Data\Test Echantillon\huile essentielle.qgm  
 Org Method File : C:\GCMSsolution\Data\Test Echantillon\huile essentielle.qgm  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1 Tuning 05032023.qgt  
 Modified by : Admin  
 Modified : 25/06/2024 10:57:09

### Method

[Comment]

==== Analytical Line 1 =====

[AOC-20i+]

```

# of Rinses with Presolvent :5
# of Rinses with Solvent(post) :5
# of Rinses with Sample :1
Punger Speed(Suction) :Low
Viscosity Comp. Time :0.2 sec
Punger Speed(Injection) :Low
Syringe Insertion Speed :Low
Injection Mode :Normal
Pumping Times :5
Inj. Port Dwell Time :0.3 sec
Terminal Air Gap :No
Punger Washing Speed :High
Washing Volume :8uL
Syringe Suction Position :0.0 mm
Syringe Injection Position :0.0 mm
Solvent Selection :only B
Column Oven Temp. :60.0 °C
Injection Temp. :250.00 °C
Injection Mode :Split
Flow Control Mode :Column Flow
Pressure :10.9 kPa
Total Flow :43.5 mL/min
Column Flow :0.50 mL/min
Linear Velocity :25.8 cm/sec
Purge Flow :3.0 mL/min
Split Ratio :80.0
High Pressure Injection :OFF
Carrier Gas Saver :OFF
Splitter Hold :OFF
Oven Temp. Program
Rate Temperature(°C) Hold Time(min)
- 60.0 8.00
5.00 280.0 10.00
Oven Cooling Rate :Middle
< Ready Check Heat Unit >
  Column Oven :Yes
  SPL1 :Yes
  MS :Yes
< Ready Check Detector(FTD BID) >
< Ready Check Baseline Drift >
< Ready Check Injection Flow >
  SPL1 Carrier :Yes
  SPL1 Purge :Yes
< Ready Check APC Flow >
< Ready Check Detector APC Flow >
External Wait :No
Equilibrium Time :3.0 min
Auto-flame On :OFF
Auto-flame Off :ON
Reignite :OFF
Auto-zero after Ready :ON
PrepRun Start :Auto
  
```

## الملخص:

بكتيريا النواة المغزلية هي بكتيريا نباتية متعايشة في الفم، سالبة الغرام، مغزلية، ولاهوائية. تساهم هذه البكتيريا في تكوين البيوفيليمات مع باقي بكتيريا الفم، ومنها يتشكل ترسب الطبقات.

تسبب بكتيريا النواة المغزلية مختلف أمراض الفم واللثة، وترتبط بتطور الأمراض الجهازية وتزيد من خطورة الإصابة بأنواع مختلفة من السرطان، حيث تعزز تطورها وتثبط الاستجابة المناعية للجسم، خاصة في حالات سرطان الفم.

في هذه الدراسة، تم أخذ عينة من فم مريض مصاب بسرطان، وقد تم تشخيصه بواسطة عدة تحاليل. تم عزل بكتيريا النواة المغزلية في وسط دم مغذى بفيتامين K1 ، في ظروف لا هوائية، وتم حضنها لمدة 48 ساعة عند 37 درجة مئوية. ثم استخدمت تقنية تلوين الغرام للتأكد من هوية البكتيريا المعزولة بعد الحضنة، بالإضافة إلى اختبار حساسية المضادات الحيوية، واختبارات إضافية للكاتالاز والأوكسيداز، وجميع النتائج أكدت من كونها لبكتيريا النواة المغزلية.

نظرا لتأثير هذه البكتيريا على مرضى السرطان ومشاكلهم التي تنجم عن العلاج الكيميائي على الفم، تم إجراء مقابلات مع مرضى السرطان في قسم الأورام في مستشفى الحكيم سعدان في بسكرة، الجزائر، وأظهرت أن معظم المرضى يعانون من التهابات في اللثة واللسان وجدار الفم.

كما أكدت المقابلة مع طبيب جراح في الفك والوجه، الدكتور العربي، أن استخدام غسول الفم التجاري الكحولي يزيد من المشكلات بالنسبة لمرضى السرطان ويزيد من الالتهابات ويبطئ من عملية الشفاء. لذا ركزت هذه الدراسة على تطوير مثبت طبيعي علاجي موجه لمرضى السرطان، وصنعت غسول فم يحتوي على زيوت أساسية 100% طبيعية.

تم تحليل المركبات الكيميائية للزيوت الأساسية المستخدمة، واختبار حساسية البكتيريا المغزلية لهذه الزيوت، وقياس أدنى تركيز يثبط نمو البكتيريا، بالإضافة إلى اختبار حساسية مجموعة من الأشخاص للزيوت المستخدمة.

تم تصنيع الغسول في ظروف معقمة جدا وفحص جودة ونظافة المنتج من قبل مختبر تحليل الجودة. ظهرت نتائج وفعالية المنتج على اللثة خلال أيام من الاستخدام، مما يدل على نجاح المنتج في تحقيق الهدف .

## Résumé :

*Fusobacterium nucleatum* est une bactérie anaérobie Gram négatif, de forme fusiforme, faisant partie de la flore buccale. Cette bactérie contribue à la formation de biofilms avec d'autres bactéries buccales, à partir desquels se forment des dépôts en couches. d'autres bactéries buccales, à partir desquels se forment des dépôts en couches.

*F. nucleatum* est responsable de diverses maladies des gencives et de la bouche, et est associée à l'évolution de maladies systémiques, augmentant ainsi le risque de divers types de cancers en favorisant leur développement et en inhibant la réponse immunitaire, notamment dans le cas du cancer buccal.

Dans cette étude, un échantillon a été prélevé à partir de la bouche d'un patient atteint de cancer buccal. Dans le cas du cancer buccal.

Dans cette étude, un échantillon a été prélevé à partir de la bouche d'un patient atteint de cancer buccal, diagnostiqué à l'aide de plusieurs analyses. *F. nucleatum* a été isolé dans un milieu sang enrichi en vitamine K1, dans des conditions anaérobies, puis incubé pendant 48 heures à 37°C. La technique de coloration de Gram a été utilisée pour confirmer l'identité des bactéries isolées après l'incubation, ainsi que le test de sensibilité aux antibiotiques, catalase et oxydase, confirmant tous qu'il s'agissait bien de *F. nucleatum*.

En raison de l'impact de ces bactéries sur les patients atteints de cancer et des problèmes liés aux traitements de chimiothérapie sur la bouche, des entretiens ont été menés avec des patients au service d'oncologie de l'Hôpital El Hakim Saadane à Biskra, en Algérie, montrant que la plupart des patients souffrent d'inflammations des gencives, de la langue et du palais.

L'entretien avec le chirurgien maxillo-facial, le Dr Arabi, a confirmé que l'utilisation de rince-bouche commercial à base d'alcool aggrave les problèmes pour les patients atteints de cancer, augmentant l'inflammation et ralentissant la guérison. Par conséquent, cette étude s'est concentrée sur le développement d'un inhibiteur thérapeutique naturel ciblé pour les patients atteints de cancer, en fabriquant un rince-bouche contenant exclusivement des huiles essentielles 100% naturelles.

L'entretien avec le chirurgien maxillo-facial, le Dr Arabi, a confirmé que l'utilisation de rince-bouche commercial à base d'alcool aggrave les problèmes pour les patients atteints de cancer, augmentant l'inflammation et ralentissant la guérison. Par conséquent, cette étude s'est concentrée sur le développement d'un inhibiteur thérapeutique naturel ciblé pour les patients atteints de cancer, en fabriquant un rince-bouche contenant exclusivement des huiles essentielles 100% naturelles.

L'entretien avec le chirurgien maxillo-facial, le Dr Arabi, a confirmé que l'utilisation de rince-bouche commercial à base d'alcool aggrave les problèmes pour les patients atteints de cancer, augmentant l'inflammation et ralentissant la guérison. Par conséquent, cette étude s'est concentrée sur le développement d'un inhibiteur thérapeutique naturel ciblé pour les patients atteints de cancer, en fabriquant un rince-bouche contenant exclusivement des huiles essentielles 100% naturelles.

Les composés chimiques des huiles essentielles utilisées ont été analysés, leur sensibilité à *F.nucleatum* a été testée, et la concentration minimale inhibitrice mesurée, ainsi qu'un test de sensibilité auprès d'un groupe de personnes aux huiles utilisées.

Le rince-bouche a été fabriqué dans des conditions très stériles, sa qualité et sa propreté ont été vérifiées par un laboratoire d'analyse de qualité. Les résultats et l'efficacité du produit sur les gencives sont apparus en quelques jours seulement, démontrant ainsi le succès du produit dans l'atteinte de l'objectif souhaité.

### Summary:

*Fusobacterium nucleatum* is a Gram-negative anaerobic bacterium with a spindle-shaped morphology, part of the oral flora. This bacterium contributes to the formation of biofilms with other oral bacteria, leading to layered deposits.

*F.nucleatum* is responsible for various gum and mouth diseases and is associated with the progression of systemic diseases, thereby increasing the risk of various cancers by promoting their development and inhibiting immune responses, particularly in cases of oral cancer.

In this study, a sample was taken from the mouth of a cancer patient diagnosed through multiple analyses. *F.nucleatum* was isolated in a blood medium enriched with vitamin K1 under anaerobic conditions, and then incubated for 48 hours at 37°C. Gram staining was used to confirm the identity of the isolated bacteria post-incubation, along with antibiotic sensitivity tests, catalase and oxidase tests, all confirming it to be *F.nucleatum*.

Due to the impact of these bacteria on cancer patients and the issues related to chemotherapy treatments on the mouth, interviews were conducted with patients at the oncology department of El Hakim Saadane Hospital in Biskra, Algeria, showing that most patients suffer from gum, tongue, and palate inflammations.

An interview with maxillofacial surgeon Dr. Arabi confirmed that the use of commercial alcohol-based mouthwash exacerbates problems for cancer patients, increasing inflammation and delaying healing. Therefore, this study focused on developing a targeted natural therapeutic inhibitor for cancer patients, manufacturing a mouthwash containing exclusively 100% natural essential oils.



The chemical compounds of the essential oils used were analyzed, their sensitivity to *F.nucleatum* was tested, and the minimum inhibitory concentration was measured, along with sensitivity tests on a group of individuals to the oils used.

The mouthwash was manufactured under highly sterile conditions, and its quality and cleanliness were verified by a quality analysis laboratory. The results and effectiveness of the product on the gums appeared within a few days, demonstrating the success of the product in achieving the desired goal.