



Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique

**Thèse**

En vue de l'obtention du diplôme de

**Doctorat de troisième cycle**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

Présentée par

M<sup>elle</sup> LAKHAL Hafsa

**Thème**

**Étude des altérations du microbiote lingual en milieu hospitalier  
dans la région de Tlemcen**

Soutenue le : 23/02/2026

Devant le jury composé de :

Président	Pr. AZZI Rachid	Université de Tlemcen
Directeur de thèse	Pr. SEGHIR Abdelfettah	Université de Tlemcen
Co-directrice de thèse	Dr. HASSAINE-LAHFA Imane	Université de Tlemcen
Examineurs	Pr. ZIANE Mohammed	Université de Ain Témouchent
	Dr. BELHACHEMI Mohammed Habib	Université de Ain Témouchent

*Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux :*

*"Louange à Allah à qui appartient tout ce qui est dans les cieux et tout ce qui est sur la terre.*

*Et louange à lui dans l'au-delà. Et c'est lui le Sage, le Parfaitement Connaisseur"*

*Seigneur, accorde ta prière, ta paix et tes bénédictions, à notre Prophète Mouhammad, ainsi qu'à sa famille et ses compagnons, une prière et une paix permanentes*

## الملخص

يحتوي اللسان على مجموعة كبيرة ومتنوعة من الكائنات الحية الدقيقة التي تتواجد في حالة توازن نشط. يؤدي اختلال هذا التوازن إلى العديد من الأمراض الفموية والعامية. ارتكزت هذه الدراسة على عدة أهداف: عزل البكتيريا والخمائر المتواجدة على السطحين الظهري والبطني للسان لدى مرضى يعانون من أمراض فموية وآخرين أصحاء في المركز الاستشفائي الجامعي الدكتور تيجاني دمرجي - تلمسان بالجزائر، وتقييم قدرة بعض السلالات المعزولة على تكوين الأغشية الحيوية مخبرياً، بالإضافة إلى تحديد التركيز المثبط الأدنى للمضادات الحيوية ومضادات الفطريات والمستخلصات النباتية (*Salvia officinalis* والصمغ العربي) ضد هذه السلالات في كل من طور العوالق وطور الأغشية الحيوية.

أظهرت النتائج وجود اختلاف في مدى الإصابة بأمراض الفم بين الرجال والنساء ( $P = 0,014$ ). بلغ معدل العزل الإجمالي للكائنات الحية الدقيقة من عينات اللسان 74%. علاوة على ذلك، لم تكن هناك اختلافات ذات دلالة إحصائية في تنوع الكائنات الحية الدقيقة بين سطحي اللسان ( $P = 0,706$ ). كان النوع البكتيري السائد الذي تم عزله هو *Staphylococcus aureus* (13% في جفاف الفم، 13% في التهاب اللثة، 16% في التهاب دواعم السن، 18% في نخر الأسنان و 24% لدى الأفراد الأصحاء). بالإضافة إلى ذلك، كان النوع الفطري الأكثر شيوعاً هو *Candida albicans* (39% في جفاف الفم، 36% في التهاب اللثة، 18% في التهاب دواعم السن، 25% في نخر الأسنان و 21% لدى الأفراد الأصحاء).

كشفت نتائج اختبارات تكوين الأغشية الحيوية أن جميع السلالات التي تم اختبارها أظهرت قدرة على إنتاج أغشية حيوية بدرجات متفاوتة في أوساط الزرع الثلاثة المختارة. وأظهرت اختبارات تحديد التركيز المثبط الأدنى في طور العوالق أن المكورات العنقودية كانت حساسة لغالبية المضادات الحيوية التي تم اختبارها، في حين أن 60% من البكتيريا سلبية الغرام كانت متعددة المقاومة. أما بالنسبة للخمائر، فقد كانت جميع عزلات *Candida spp.* حساسة للأمفوتريسين B. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت المستخلصات النباتية نسبة تحلل دموي منخفضة وكانت قادرة على تثبيط غالبية السلالات البكتيرية بالإضافة إلى جميع السلالات الفطرية. في طور الأغشية الحيوية، كانت التركيزات المثبطة الدنيا للأغشية الحيوية للمضادات الميكروبية والمستخلصات النباتية الأولية أعلى من تلك المسجلة في حالة العوالق. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت مستخلصات أسيتات الإيثيل لـ *S. officinalis* والصمغ العربي نشاطاً ملحوظاً مضاداً للأغشية الحيوية يعزى إلى تركيبها الغنية بمركبات نشطة بيولوجياً مثل حمض الكافيين والكيرسيتين، كما أكد ذلك التحليل باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة-مطياف الكتلة الترادفي.

**الكلمات المفتاحية:** اللسان، الميكروبات، أمراض الفم، الأغشية الحيوية، *Salvia officinalis*، الصمغ العربي.

## Résumé

La langue abrite une grande diversité de microorganismes qui coexistent dans un état d'équilibre dynamique. La perturbation de cet équilibre peut entraîner diverses maladies bucco-dentaires et systémiques. Cette étude avait pour objectifs : l'isolement et l'identification des bactéries et des levures présentes sur les surfaces linguales (dorsale et ventrale) de patients souffrant de maladies bucco-dentaires et de patients sains au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Dr. Tidjani Damerdji de Tlemcen, en Algérie; l'évaluation de la capacité de certaines souches isolées à former des biofilms *in vitro*; et la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des antibiotiques, des antifongiques et des extraits végétaux (*Salvia officinalis* et gomme arabique) vis-à-vis de ces souches, aussi bien en phase planctonique qu'en phase biofilm.

Les résultats ont montré une différence de prévalence des maladies bucco-dentaires entre les hommes et les femmes ( $p = 0,014$ ). Au total, 74 % des échantillons de la langue présentaient une colonisation microbienne. De plus, aucune différence significative n'a été observée dans la détection microbienne entre les deux surfaces linguales ( $p = 0,706$ ). L'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée était *Staphylococcus aureus* (13% dans les cas de xérostomie, 13 % dans la gingivite, 16 % dans la parodontite, 18 % dans la carie dentaire et 24 % chez les patients sains). L'espèce fongique la plus fréquente était *Candida albicans* (39 % dans la xérostomie, 36 % dans la gingivite, 18 % dans la parodontite, 25 % dans la carie dentaire et 21 % chez les patients sains).

Les tests de formation de biofilm ont révélé que toutes les souches testées étaient capables de former des biofilms, à des degrés variables, dans les trois milieux de culture utilisés. Par ailleurs, les tests de CMI en phase planctonique ont montré que les staphylocoques étaient sensibles à la majorité des antibiotiques testés, tandis que 60 % des bactéries à Gram négatif présentaient une multirésistance. En ce qui concerne les levures, toutes les souches de *Candida spp.* étaient sensibles à l'amphotéricine B. De plus, les extraits végétaux ont montré de faibles taux d'hémolyse et ont inhibé la majorité des souches bactériennes ainsi que la totalité des souches fongiques.

En phase biofilm, les concentrations minimales inhibitrices des biofilms (SCMIs) des agents antimicrobiens et des extraits végétaux bruts étaient supérieures à celles observées en phase planctonique. Enfin, les fractions d'acétate d'éthyle de *S. officinalis* et de la gomme arabique ont présenté une remarquable activité anti-biofilm, attribuable à leur composition riche en substances bioactives telles que l'acide caféique et la quercétine, comme l'a révélé l'analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).

**Mots clés :** Langue, microorganismes, maladies bucco-dentaires, biofilms, *Salvia officinalis*, gomme arabique.

## Abstract

The tongue harbours a wide variety of microorganisms that exist in a dynamic equilibrium. The disruption of this equilibrium can lead to a number of oral and systemic diseases. This study aimed to achieve the following objectives: to isolate and identify the bacteria and yeasts present on the dorsal and ventral surfaces of the tongue in patients suffering from oral diseases and in healthy patients at the Dr. Tidjani Damerdji University Hospital Center in Tlemcen, Algeria; to evaluate the ability of some isolated strains to form biofilms *in vitro*; and to determine the minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibiotics, antifungals, and plant extracts (*Salvia officinalis* and gum arabic) against these strains in both the planktonic and biofilm phases.

The results showed a difference in the prevalence of oral diseases between men and women ( $P = 0,014$ ). Microbial alteration was observed in 74 % of the tongue samples. Furthermore, there were no significant differences in the detection of microorganisms between the two tongue surfaces ( $P = 0,706$ ). The most frequently isolated bacterial species was *Staphylococcus aureus* (13 % in xerostomia, 13 % in gingivitis, 16 % in periodontitis, 18 % in dental caries, and 24 % in healthy patients). In addition, the most common fungal species was *Candida albicans* (39 % in xerostomia, 36 % in gingivitis, 18 % in periodontitis, 25 % in dental caries, and 21 % in healthy patients).

The biofilm formation assays revealed that all tested strains were capable of producing biofilms to varying degrees in the three selected culture media. MIC determination in the planktonic phase revealed that staphylococci were sensitive to the majority of the tested antibiotics, while 60 % of Gram-negative bacteria were multi-drug resistant. As for yeasts, all *Candida* spp. strains were sensitive to amphotericin B. Furthermore, the plant extracts showed low hemolysis rates and were able to inhibit the majority of bacterial strains as well as all fungal strains.

In the biofilm phase, the sessile minimum inhibitory concentrations (SMICs) of the antimicrobials and crude plant extracts were higher than those observed in the planktonic state. Moreover, the ethyl acetate fractions of *S. officinalis* and gum arabic showed remarkable anti-biofilm activity, attributable to their composition rich in bioactive substances such as caffeic acid and quercetin, as revealed by analysis using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

**Keywords:** Tongue, microorganisms, oral diseases, biofilms, *Salvia officinalis*, gum arabic.

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A moi-même, pour toutes les fois où j'ai douté, mais avancé quand même, pour mon incroyable capacité à me relever. Parce que si je suis arrivée jusqu'ici, c'est que je suis plus forte que je ne le pense, merci à moi pour tout.*

*A ma mère, la meilleure maman du monde, merci pour ta présence dans ma vie, pour tout l'amour que tu me donnes sans jamais rien attendre en retour, pour ton soutien, et tes encouragements précieux.*

*A mon père, merci pour ton soutien indéfectible, ta protection rassurante, pour tes conseils et ton amour inestimable.*

*A mon frère Youcef, je me sens chanceuse de t'avoir dans ma vie, tu sais toujours comment me redonner le sourire, me transmettre la force et le courage de continuer de poursuivre mes rêves.*

*A mon frère Mohammed, merci pour ton amour, ton soutien sans faille et tes conseils toujours empreints de sagesse.*

*A ma grand-mère, merci pour ton amour et pour tes prières.*

*A ma meilleure amie Samira, une amie comme toi c'est génial ! j'ai beaucoup de chance de te connaître, tu es toujours là pour moi, merci pour tout.*

*Hafsa*

## Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : physicochimie, synthèse et activité biologique » de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen.

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse **M. Seghir Abdelfettah**, Professeur au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, pour avoir dirigé ce travail et m'avoir offert des conseils scientifiques inestimables. Ses connaissances approfondies, sa disponibilité et sa patience ont grandement contribué à l'aboutissement de ce travail. Recevez l'expression de mon profond respect.

Mes remerciements vont également à **M<sup>me</sup> Hassaine-Lahfa Imane**, Maître de conférence classe B au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, pour son co-encadrement, ses précieux conseils et pour ses qualités scientifiques et pédagogiques. Je vous exprime ma profonde gratitude.

Je remercie également tous les membres du jury pour leur intérêt pour ce travail de recherche.

Je remercie **M. Azzi Rachid**, Professeur au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, qui nous fait l'honneur de présider ce jury de thèse. Je lui adresse l'expression de ma profonde reconnaissance pour la qualité de son enseignement, la richesse de ses conseils et les précieux savoirs qu'il m'a transmis tout au long de mon parcours universitaire.

Je tiens à exprimer ma gratitude envers **M. Ziane Mohammed**, Professeur au département de Biologie, Facultés des Sciences et Technologie, Université de Ain Témouchent BELHADJ Bouchaib pour avoir accepté d'examiner et de discuter ce travail.

J'exprime mes remerciements à **M. Belhachemi Mohammed Habib**, Maître de conférences classe A au département de Biologie, Facultés des Sciences et Technologie, Université de Ain Témouchent BELHADJ Bouchaib pour avoir accepté d'être membre de mon jury.

Mes sincères remerciements à **M. Dergal Fayçal**, Directeur de recherche au Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) – Tipaza, pour son soutien et son aide précieuse. Je vous adresse toute ma gratitude.

Je remercie **M. Lakhel Abdelhafid**, Maître de conférences classe B au Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, pour son aide précieuse, son soutien et ses conseils scientifiques inestimables. Recevez l'expression de mon profond respect et de ma sincère gratitude.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance à **M. Bettioui Reda Ali**, Maître assistant classe A au Département d'Ecologie et Environnement, Faculté des Sciences de la Nature et

de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, pour son aide précieuse et ses conseils.

Je souhaite également à remercier **M<sup>me</sup> Adida Houria**, Maître de conférences classe A au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen.

Je tiens aussi à remercier **M<sup>me</sup> Boucherit-Otmani Zahia**, Professeur au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, pour la qualité de son enseignement.

Je souhaite remercier sincèrement **M<sup>me</sup> Mezouar Dounia**, Maître de conférences classe A au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, Directrice du laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, synthèse et activité biologique (LapSab) ».

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à **M<sup>me</sup> Medjdoub Houria**, Maître de conférences classe A au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen pour son aide précieuse.

J'adresse également mes sincères remerciements à **M<sup>me</sup> Belmir Sarra**, Maître de conférence classe B au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, pour son soutien.

Ma gratitude va aussi à **M<sup>me</sup> Boumediene Karima**, Maître de conférence classe B au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, pour ses conseils scientifiques et son aide précieuse.

J'exprime toute ma reconnaissance à **M. Moussa-Boudjemâa Boumedine**, Professeur au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, pour son soutien, ses orientations pertinentes et ses précieux conseils.

Un grand remerciement à **M. Benahmed Abdeselem**, Docteur en biologie, pour son aide et la qualité de ses conseils tout au long de la réalisation de ce travail. Je vous adresse toute ma gratitude.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à **M<sup>elle</sup> Saadi Fatima Zahra**, Docteur en biologie, pour son soutien inestimable. Sa disponibilité et ses conseils éclairés ont été d'une grande aide durant ce travail.

Enfin, je remercie tous les doctorants et les techniciens du laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique (LapSab) » pour leur soutien, leur bonne humeur et leur précieuse collaboration tout au long de cette aventure.

## Sommaire

<b>Première partie : Synthèse bibliographique .....</b>	<b>1</b>
<b>Deuxième partie : Matériel et méthodes .....</b>	<b>13</b>
1. Déclaration d'éthique .....	13
2. Population d'étude .....	13
3. Prélèvements .....	13
4. Isolement et purification .....	14
5. Identification des souches .....	14
6. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques vis-à-vis des bactéries .....	14
7. Détermination des concentrations minimales inhibitrices de l'amphotéricine B vis-à-vis des levures .....	15
8. Sélection du matériel végétal .....	16
9. Préparation des extraits bruts hydro-méthanoliques.....	16
10. Fractionnement par acétate d'éthyle.....	16
11. Détermination du rendement de l'extraction des produits végétaux .....	17
12. Évaluation de la cytotoxicité des extraits végétaux.....	17
13. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des extraits végétaux vis-à-vis des cellules planctoniques bactériennes et fongiques.....	18
14. Évaluation de la capacité des souches co-isolées d'un même prélèvement lingual a former <i>in vitro</i> des biofilms mono et multi-espèces .....	18
15. Quantification de la biomasse dans le biofilm par la méthode de coloration au cristal violet .....	19
16. Détermination des concentrations minimales inhibitrices sessiles (SCMIS) des agents antimicrobiens et des extraits végétaux vis-a-vis de <i>Staphylococcus lentus</i> et <i>Candida albicans</i> co-isolées d'un même prélèvement lingual .....	19
17. Test de réduction au tétrazolium(MTT) .....	21
18. Analyse chimique des extraits végétaux par LC-MS/MS.....	21

19. Analyse statistique .....	22
<b>Troisième partie : Résultats et discussion.....</b>	<b>14</b>
1. Description de la population d'étude.....	24
1.1. Répartition des patients selon les caractéristiques sociodémographiques .....	25
1.2. Répartition des maladies bucco-dentaires par sexe .....	26
1.3. Répartition des groupes de patients selon les habitudes d'hygiène bucco-dentaire.....	28
1.3.1. Répartition des groupes de patients selon la pratique de brossage lingual.....	28
1.3.2. Répartition des groupes de patients selon la fréquence de brossage dentaire.....	29
1.3.3. Répartition des groupes de patients selon l'usage de bains de bouche .....	31
1.4. Répartition des groupes de patients selon la consommation de sucres ajoutés.....	33
1.5. Répartition des groupes de patients selon la consommation du tabac.....	35
1.6. Répartition des groupes de patients selon le port de prothèses dentaires .....	37
1.7. Répartition des maladies systémiques chez les groupes de patients .....	39
2. Analyse microbiologique des prélèvements .....	41
3. Identification des souches isolées.....	43
3.1. Identification des souches isolées des surfaces linguales .....	43
3.2. Identification des souches isolées chez les groupes de patients.....	45
3.2.1. Identification des souches isolées chez les patients atteints de xérostomie .....	46
3.2.2. Identification des souches isolées chez les patients atteints de gingivite .....	48
3.2.3. Identification des souches isolées chez les patients atteints de parodontite .....	49
3.2.4. Identification des souches isolées chez les patients atteints de carie dentaire.....	51
3.2.5. Identification des souches isolées chez les patients sains .....	53
4. Sélection des souches microbiennes.....	55
5. Tests de sensibilité des bactéries en phase planctonique aux antibiotiques.....	55

6. Tests de sensibilité des levures en phase planctonique à l'amphotéricine B .....	60
7. Rendement d'extraction des extraits végétaux.....	61
8. Évaluation de la cytotoxicité des extraits végétaux.....	63
9. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des extraits végétaux vis-à-vis des souches bactériennes en phase planctonique .....	65
10. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des extraits végétaux vis-à-vis des souches fongiques en phase planctonique .....	68
11. Évaluation de la capacité des souches co-isolées d'un même prélèvement lingual a former <i>in vitro</i> des biofilms mono et multi-espèces .....	69
12. Inhibition des biofilms mono et multi-espèces formés par <i>S. lentus</i> et <i>C. albicans</i> co-isolées d'un même prélèvement lingual par des agents antimicrobiens et des extraits végétaux .....	80
12. 1. Agents antimicrobiens .....	80
12. 2. Extraits végétaux .....	82
13. Identification des composés phytochimiques présents dans les fractions acétate d'éthyle de <i>S. officinalis</i> et de la gomme arabique par la méthode de LC-ESI-MS/MS .....	85
13.1. Identification des composés phytochimiques présents dans la fraction acétate d'éthyle de <i>S. officinalis</i> .....	85
13.2. Identification des composés phytochimiques présents dans la fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique .....	88
<b>Quatrième partie : Conclusion générale.....</b>	<b>95</b>
<b>Cinquième partie : Références bibliographiques .....</b>	<b>99</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>137</b>

## Liste des figures

<b>Figure N°1.</b> Étapes de formation du biofilm bactérien sur la face dorsale de la langue.. .....	<b>3</b>
<b>Figure N° 2.</b> <i>Salvia officinalis</i> .....	<b>10</b>
<b>Figure N° 3.</b> (A) arbre à exsudats de gomme arabique ; (B) Granules de gomme arabique ...	<b>11</b>
<b>Figure N° 4.</b> Étapes de l'analyse LC-MS/MS .....	<b>22</b>
<b>Figure N° 5.</b> Répartition des patients par sexe et par tranche d'âge.....	<b>25</b>
<b>Figure N° 6.</b> Répartition des groupes de patients selon la pratique de brossage lingual .....	<b>29</b>
<b>Figure N° 7.</b> Répartition des groupes de patients selon la fréquence de brossage dentaire.....	<b>30</b>
<b>Figure N° 8.</b> Répartition des groupes de patients selon l'usage de bains de bouche .....	<b>32</b>
<b>Figure N°9.</b> Répartition des groupes de patients selon la consommation de sucres ajoutés ...	<b>34</b>
<b>Figure N° 10.</b> Répartition des groupes de patients selon la consommation du tabac.....	<b>36</b>
<b>Figure N° 11.</b> Répartition des groupes de patients selon le port de prothèses dentaires .....	<b>38</b>
<b>Figure N° 12.</b> Répartition des groupes de patients selon les maladies systémiques .....	<b>40</b>
<b>Figure N° 13.</b> Taux d'altérations microbiennes des prélèvements de la langue.....	<b>42</b>
<b>Figure N° 14.</b> Distribution des familles microbiennes isolées des groupes de patients selon les surfaces linguales .....	<b>44</b>
<b>Figure N° 15.</b> Rendement d'extraction des extraits bruts et de leurs fractions acétate d'éthyle. .....	<b>62</b>
<b>Figure N° 16.</b> Taux d'hémolyse des extraits bruts hydro-méthanoliques et de leurs fractions acétate d'éthyle.....	<b>64</b>
<b>Figure N° 17.</b> Biomasse des biofilms mono et multi-espèces formés sur milieu RPMI 1640 (contrôle négatif= 0,144).....	<b>70</b>
<b>Figure N°18.</b> Biomasse des biofilms mono et multi-espèces formés sur milieu BHIB (contrôle négatif= 0,143) .....	<b>72</b>
<b>Figure N° 19.</b> Biomasse des biofilms mono et multi-espèces formés sur milieu TSB (contrôle négatif= 0,122).....	<b>74</b>
<b>Figure N° 20.</b> Classification des biofilms mono-espèces après 24 h d'incubation.....	<b>77</b>

<b>Figure N°21.</b> Classification des biofilms mono-espèces après 48 h d'incubation .....	<b>79</b>
<b>Figure N° 22.</b> SCMI <sub>80</sub> des extraits végétaux vis-à-vis des biofilms mono et multi-espèces de 24 h .....	<b>82</b>
<b>Figure N°23.</b> SCMI <sub>80</sub> des extraits végétaux vis-à-vis des biofilms mono et multi-espèces de 48 h .....	<b>83</b>
<b>Figure N°24.</b> Chromatogramme LC-ESI-MS/MS de la fraction acétate d'éthyle de <i>S. officinalis</i> .....	<b>85</b>
<b>Figure N° 25.</b> Chromatogramme LC-ESI-MS/MS de la fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique.....	<b>89</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau N° 1.</b> Programme de gradient de la méthode LC-MS/MS .....	<b>22</b>
<b>Tableau N° 2.</b> Maladies bucco-dentaires signalées par les groupes de patients en fonction du sexe .....	<b>26</b>
<b>Tableau N°3.</b> Souches microbiennes isolées chez les patients de xérostomie.....	<b>46</b>
<b>Tableau N° 4.</b> Souches microbiennes isolées chez les patients de gingivite .....	<b>48</b>
<b>Tableau N° 5.</b> Souches microbiennes isolées chez les patients de parodontite .....	<b>50</b>
<b>Tableau N° 6.</b> Souches microbiennes isolées chez les patients de carie dentaire .....	<b>52</b>
<b>Tableau N° 7.</b> Souches microbiennes isolées chez les patients sains.....	<b>54</b>
<b>Tableau N° 8.</b> Concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques vis-à-vis des souches de <i>Staphylococcus</i> spp. ....	<b>57</b>
<b>Tableau N° 9.</b> Concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques vis-à-vis des souches de bactéries à Gram négatif.....	<b>59</b>
<b>Tableau N° 10.</b> Concentrations minimales inhibitrices de l'amphotéricine B vis-à-vis des souches de <i>Candida</i> spp.....	<b>61</b>
<b>Tableau N° 11.</b> Concentrations minimales inhibitrices des extraits végétaux vis-à-vis des bactéries à Gram positif et négatif.....	<b>66</b>
<b>Tableau N°12.</b> Concentrations minimales inhibitrices des extraits végétaux vis-à-vis des souches de <i>Candida</i> spp.....	<b>68</b>
<b>Tableau N° 13.</b> Concentrations minimales inhibitrices sessiles des antimicrobiens vis-à-vis des souches de <i>S. lentus</i> et <i>C. albicans</i> co-isolées d'un même prélèvement lingual .....	<b>81</b>
<b>Tableau N° 14.</b> Composés phytochimiques identifiés dans la fraction acétate d'éthyle de <i>S.officinalis</i> par LC-ESI-MS/MS .....	<b>87</b>
<b>Tableau N° 15.</b> Composés phytochimiques identifiés dans la fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique par LC-ESI-MS/MS.....	<b>90</b>

## Liste des abréviations

<b>BHIB</b>	: Brain Heart Infusion Broth
<b>CID</b>	: Collision-induced dissociation
<b>CLSI</b>	: Clinical and Laboratory Standards Institute
<b>CMI</b>	: Concentration Minimale Inhibitrice
<b>DL</b>	: Desolvation Line
<b>DMSO</b>	: Diméthylsulfoxyde
<b>DO</b>	: Densité optique
<b>EB</b>	: Extrait brut
<b>EPS</b>	: Substances polymériques extracellulaires
<b>ESI</b>	: Electrospray Ionisation
<b>FA</b>	: Fraction acétate d'éthyle
<b>GA</b>	: Gomme arabique
<b>HTA</b>	: Hypertension artérielle
<b>KPa</b>	: Kilopascals
<b>KV</b>	: Kilovolt
<b>LC-MS/MS</b>	: Liquid Chromatography coupled to tandem Mass Spectrometry
<b>MOPS</b>	: Acide morpholino propanesulfonique
<b>MTT</b>	: Bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl) -2,5-diphényl tétrazolium
<b>PBS</b>	: Phosphate-buffered saline
<b>RPMI-1640</b>	: Roswell Park Memorial Institute 1640
<b>SCMI</b>	: Concentration Minimale Inhibitrice Sessile

**SO** : *Salvia officinalis*

**TSB** : Tryptic Soy Broth

**Première partie :**  
**Synthèse**  
**bibliographique**

La cavité buccale, orifice d'entrée commun des systèmes digestif et respiratoire, assure différentes fonctions essentielles à la santé générale, telles que la mastication, la phonation, la déglutition et la respiration [(Seitz et al., 2019) ; (WHO, 2022a)]. Elle héberge une diversité de microorganismes, incluant des bactéries, des levures, des protozoaires, des archées et des virus, formant un ensemble désigné sous le terme de microbiote oral (Deo et Deshmukh, 2019). La prolifération de cette flore s'effectue dès la naissance, à partir des microbiotes de la mère et de l'environnement. En termes d'importance numérique, et après celui de l'intestin, le microbiote oral constitue le deuxième plus important de l'organisme [(Deo et Deshmukh, 2019) ; (Shaiber et al., 2020)].

Les conditions environnementales de la cavité buccale, notamment les propriétés des surfaces d'adhésion, l'humidité, le débit salivaire, le pH, la température, ainsi que la disponibilité en nutriments et en oxygène, exercent une influence directe sur la composition du microbiote oral. Ce dernier présente d'ailleurs des variations notables entre les différents sites anatomiques, comme les dents, les gencives et la langue [(Xu et al., 2015) ; (Ren et al., 2017) ; (Mason et al., 2018) ; (Sharma et al., 2018) ; (Roa et Del Sol, 2018)].

La face dorsale de la langue, caractérisée par de multiples irrégularités telles que cryptes, papilles, fissures et zones dépapillées, constitue un environnement idéal pour la croissance, la colonisation et la prolifération microbiennes. Ces conditions optimales de température, d'humidité et de surface favorisent particulièrement le développement de biofilms, définis comme des assemblages de cellules microbiennes enveloppées dans une matrice autoproduite de substances polymériques extracellulaires (EPS), adhérant entre elles et à la surface dorsale de l'organe. La communauté microbienne comprend notamment des bactéries anaérobies strictes et facultatives, principalement des *Streptococcus* spp., ainsi que des bactéries aérobies comme les espèces de *Staphylococcus* et d'*Acinetobacter*. Des levures, notamment *Candida* spp., sont également présentes au sein de ces biofilms linguaux [(Sumi et al., 2006) ; (Miranda et al., 2009) ; (Flemming et Wingender, 2010) ; (Santos et al., 2013) ; (Flemming et al., 2016) ; (Bernardi et al., 2019) ; (Kaan et al., 2021) ; (Pisano et al., 2023) ; (Kawayanagi et al., 2024)]. Leur développement s'effectue selon un processus complexe en cinq étapes distinctes (Figure N° 1).

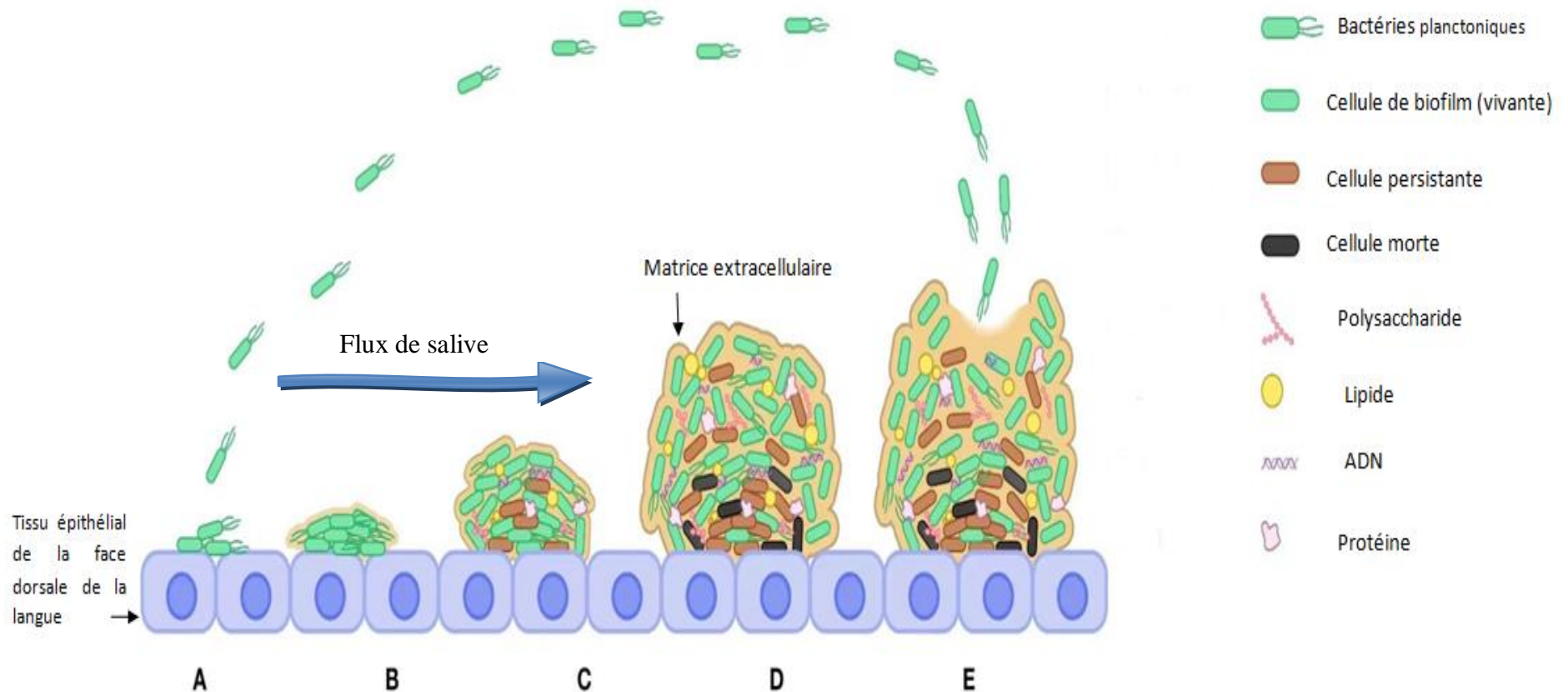


Figure N°1. Étapes de formation du biofilm bactérien sur la face dorsale de la langue. (A) Fixation réversible. (B) Fixation irréversible. (C) Élaboration et production de polysaccharides extracellulaires. (D) Maturation. (E) Dispersion (Zhao et al., 2023) (modifiée)

D'une manière générale, les microorganismes planctoniques adhèrent initialement à la surface dorsale de la langue de manière réversible via des interactions hydrophobes et électrostatiques. Cette adhésion devient ensuite irréversible grâce à des liaisons hydrogène et covalentes **(Palmer et al., 2007)**. Après cette fixation et la formation de micro-colonies, ils entrent dans une phase de prolifération active. Durant cette étape, les microorganismes se multiplient tout en sécrétant des substances polymères extracellulaires (EPS) composées de protéines, d'exopolysaccharides, de lipides et d'acides nucléiques extracellulaires, qui participent à la constitution de la matrice du biofilm **[(Sutherland, 2001) ; (Flemming et Wingender et al., 2010 )]**.

Par la suite, le biofilm acquiert une structure tridimensionnelle complexe et hautement hydratée **(O'Toole et al., 2000)**. La phase finale consiste en la dispersion du biofilm, permettant la libération des microorganismes sous forme planctonique, facilitant ainsi leur dissémination et la colonisation de nouvelles surfaces **(Solano et al., 2014)**.

En présence d'une bonne santé générale et d'une hygiène bucco-dentaire adéquate, le biofilm lingual persiste en un équilibre dynamique avec l'hôte. Dans cet état, les microorganismes commensaux, par leur simple présence, empêchent la colonisation par des pathogènes en saturant les sites d'adhésion disponibles. Ils entrent également en compétition avec ces derniers pour l'accès aux nutriments et produisent des substances inhibitrices, telles que les bactériocines, qui entravent la prolifération des microbes pathogènes. L'ensemble de ces mécanismes est essentiel au maintien de l'homéostasie bucco-dentaire **[(Marsh et Percival, 2006) ; (Tuganbaev et al., 2022)]**.

En outre, le biofilm lingual joue un rôle clé dans le bon fonctionnement du système cardiovasculaire. Son implication est particulièrement notable dans le cycle de l'oxyde nitrique (NO), une molécule de signalisation gazeuse. Le biofilm assure en effet la conversion biologique du nitrate (NO<sub>3</sub>) alimentaire en nitrite (NO<sub>2</sub>), puis en NO (NO<sub>3</sub> → NO<sub>2</sub> → NO), contribuant ainsi à la régulation de l'homéostasie du NO chez l'hôte. Cette molécule est essentielle pour moduler le tonus vasculaire et prévenir l'apparition de l'hypertension **[(Lundberg et Govoni, 2004) ; (Bryan et al., 2017) ; (Rosier et al., 2020)]**.

Le biofilm lingual, initialement stable et symbiotique, peut évoluer vers un état dysbiotique. Cette transition se caractérise par une rupture de l'équilibre entre les communautés microbiennes et l'hôte, ainsi que par une altération de la composition microbienne. Cette

dysbiose peut être induite par divers facteurs, tels que l'immunosuppression, les troubles salivaires, la prise de médicaments, une mauvaise alimentation ou une hygiène bucco-dentaire insuffisante. Elle favorise ensuite le développement de maladies parodontales, telles que la gingivite et la parodontite, au sein de la cavité buccale [(Daniluk et al., 2006) ; (Costalonga et Herzberg, 2014) ; (Di Stefano et al., 2022) ; (Tuganbaev et al., 2022) ; (Maier, 2023)].

Ces maladies inflammatoires affectent les gencives, l'os et le ligament parodontal, pouvant conduire à la perte dentaire et à une inflammation systémique (Kinane et al., 2017). Leur développement est associé à la formation d'un biofilm déséquilibré (gingival et/ou lingual), dominé par des bactéries pathogènes, principalement à Gram négatif (telles que *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella intermedia*), au détriment des bactéries commensales [(Hajishengallis et al., 2012) ; (Han et Wang, 2013) ; (Galimanas et al., 2014) ; (Kleinstejn et al., 2020)]. La présence de bactéries à Gram positif, comme *Staphylococcus aureus*, et de levures, notamment *Candida albicans*, a également été documentée au sein de ces biofilms [(Uribe-García et al., 2021) ; (Oka et al., 2022)].

Ces deux espèces interagissent selon une dynamique symbiotique (El-Azizi et al., 2004). Cette interaction se manifeste d'une part par l'adhésion de *S. aureus* à la protéine Als3 (agglutinine-like sequence 3) des hyphes de *C. albicans*, et d'autre part par la stimulation de l'hyphogenèse fongique par les peptidoglycanes bactériens [(Xu et al., 2008) ; (Peters et al., 2012)]. La communication inter-espèces implique également des molécules de quorum sensing (QS), telles que le farnésol produit par *C. albicans*, qui à une concentration de 40 µM augmente la résistance de *S. aureus* à la vancomycine [(Hornby et al., 2001) ; (Albuquerque et Casadevall, 2012) ; (Kong et al., 2017)]. De plus, la formation du biofilm mixte est favorisée par la libération d'ADN extracellulaire, principalement par *S. aureus* et dans une moindre mesure par la levure, via des processus d'autolyse ou de sécrétion active, et son intégration dans la matrice extracellulaire [(Pammi et al., 2013) ; (Sapaar et al., 2014)].

Dans le contexte des maladies parodontales, les cellules immunitaires de l'hôte jouent un rôle déterminant dans le processus inflammatoire. Leur migration vers les tissus infectés permet la neutralisation des microorganismes pathogènes (Alfakry et al., 2016). Ces pathogènes participent à la pathogenèse par trois mécanismes distincts : la sécrétion de protéinases dégradant les structures parodontales ; la production de toxines compromettant la réponse immunitaire de l'hôte, notamment en réduisant l'efficacité phagocytaire ; ou l'induction d'une réponse immunitaire excessive conduisant à la libération de cytokines pro-inflammatoires

[(Ksiazek et al., 2015) ; (Eckert et al., 2018) ; (Shenker et al., 2022) ; (Săndulescu et al., 2023) ; (Kim et al., 2024)].

À l'instar des maladies parodontales, les caries dentaires trouvent également leur origine dans la perturbation de l'équilibre microbien au sein du biofilm dentaire et/ou lingual, qui en constitue un facteur étiologique majeur. Ces pathologies infectieuses résultent d'une déminéralisation progressive des tissus dentaires durs sous l'effet des acides organiques – tels que les acides lactique, acétique et formique – libérés par le métabolisme fermentaire des glucides. Des microorganismes acidogéniques et aciduriques, parmi lesquels la bactérie *Streptococcus mutans* et la levure *Candida albicans*, jouent un rôle prépondérant dans ce processus pathologique [(Hicks et al., 2004) ; (García-Godoy et Hicks, 2008) ; (Marsh, 2009) ; (Laudenbach et Simon, 2014) ; (Asakawa et al., 2018) ; (Fakhruddin et al., 2021)].

Ces deux espèces prédominent au sein des biofilms dysbiotiques associés à la pathologie carieuse [(Cui et al., 2021) ; (Spatafora et al., 2024)]. Leur interaction, de nature synergique, a été démontrée : *C. albicans* stimule non seulement le métabolisme glucidique de *S. mutans*, mais module également la transcription des gènes bactériens impliqués dans le transport et l'assimilation des sucres (Costa Oliveira et al., 2021). Parallèlement, la sécrétion de bêta-glucosyltransférase (GtfB) par *S. mutans* favorise à son tour l'utilisation des glucides par *C. albicans* (Ellepola et al., 2019). Cette coopération métabolique se traduit par la formation d'un biofilm bi-espèce aux caractéristiques distinctes, présentant une viabilité cellulaire, une biomasse, une teneur en EPS et une résistance aux agents antimicrobiens significativement accrues par rapport aux biofilms mono-espèces [(Falsetta et al., 2014) ; (Lobo et al., 2019)].

Par ailleurs, il convient de souligner que la dysbiose du biofilm de la langue n'est pas uniquement corrélée aux pathologies bucco-dentaires, mais également aux maladies systémiques. Cette corrélation s'explique par deux mécanismes principaux : d'une part, l'aggravation de la réponse inflammatoire due à la libération de toxines et, d'autre part, la pénétration directe du microbiote lingual dans la voie sanguine, digestive ou respiratoire [(Monea et al., 2014) ; (Sudhakara et al., 2018) ; (Hsu et al., 2019) ; (Hajishengallis et Chavakis, 2021) ; (Li et al., 2021) ; (Yamazaki et Kamada, 2024)]. Les pathologies systémiques peuvent également modifier la composition microbienne du biofilm lingual (Mohammed et al., 2025).

Le diabète, par exemple, affecte les cellules mésenchymateuses de l'hôte, incluant les cellules du ligament parodontal, les ostéocytes et les ostéoblastes, entraînant une surexpression du récepteur activateur du facteur nucléaire  $\kappa$ B (RANKL). Cette régulation positive induit à son tour une inhibition de la formation osseuse, conduisant finalement à la destruction des tissus parodontaux **(Jepsen et al., 2018)**. D'autres complications orales sont associées à cette pathologie systémique, notamment la carie dentaire et la xérostomie. Des études ont montré que le biofilm lingual des patients diabétiques subit des modifications significatives, caractérisées principalement par une augmentation des populations de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Candida* **[(Nazir et al., 2018) ; (Yu-Hong et Xing-Yu, 2019) ; (Rodríguez-Archilla et Piedra-Rosales, 2021)]**. Par ailleurs, l'inflammation chronique associée aux maladies parodontales peut altérer le métabolisme glucidique et exacerber la résistance à l'insuline, contribuant ainsi à la pathogenèse du diabète de type 2 **(Stöhr et al., 2021)**.

De récentes études ont par ailleurs établi un lien entre l'hypertension artérielle (HTA) et la dysbiose du biofilm oral. La majorité de ces travaux se sont concentrés sur les altérations du biofilm de la cavité buccale dans son ensemble, sans cibler spécifiquement le biofilm lingual dans un contexte hypertensif. Il a été observé que les patients hypertendus présentent un écosystème buccal altéré, caractérisé par une abondance de *Candida* ainsi que de pathogènes parodontaux tels que *Prevotella intermedia* et *Actinobacillus actinomycetemcomitans* **[(Aoyama et al., 2018) ; (Barbadoro et al., 2021) ; (Chen et al., 2023)]**.

Les perturbations de la microcirculation induites par cette pathologie systémique peuvent provoquer une ischémie parodontale, créant un environnement propice au développement des maladies parodontales. Ces dernières sont également reconnues comme un facteur de risque indépendant pour l'HTA, étant associées à une surexpression de la protéine de choc thermique Hsp65, qui accroît la susceptibilité à cette pathologie cardiovasculaire. De plus, la dissémination de pathogènes buccaux et de leurs toxines, à partir de tissus inflammés vers l'endothélium vasculaire, déclenche une réponse inflammatoire systémique. Cette cascade aboutit à un dysfonctionnement endothélial, augmentant ainsi le risque de maladies cardiovasculaires **[(Lucia Macedo Paizan et Fernando Vilela-Martin, 2014) ; (Sudhakara et al., 2018)]**.

Par ailleurs, l'hypothyroïdie provoque une inflammation des glandes salivaires et compromet la santé parodontale **(Zahid et al., 2011)**. L'hyperthyroïdie peut quant à elle augmenter la

susceptibilité aux caries dentaires et aux maladies parodontales. Inversement, ces dernières, lorsqu'elles ne sont pas traitées, sont susceptibles d'affecter la fonction thyroïdienne en raison de l'inflammation chronique qu'elles entretiennent [(Zahid et al., 2011) ; (CTPOH, 2025)].

Compte tenu de l'interrelation étroite entre les pathologies bucco-dentaires et les maladies systémiques, et de leur impact socio-économique conjoint, une attention particulière doit être accordée à leur prévalence et à leur prise en charge thérapeutique intégrée. Les données épidémiologiques mondiales indiquent que plus de 2,2 milliards de personnes sont atteintes de caries dentaires, tandis que les maladies parodontales affectent près de 10 % de la population mondiale (WHO, 2020). Des disparités régionales sont observables : en Europe et sur le continent américain, les prévalences respectives s'élèvent à 17,89 % et 18,89 % pour les maladies parodontales (WHO, 2022b). Dans le monde arabe, ces pathologies touchent 15,9 % de la population algérienne contre 42,32 % en Libye [(WHO, 2022c) ; (Rahouma et Omar, 2023)]. De façon notable, une étude rapporte que 99,2 % de la population saoudienne est concernée par les caries dentaires (Nasir, 2023).

Les pathologies bucco-dentaires, par leur chronicité et leur impact sur la morbidité-mortalité, constituent un problème de santé persistant. Leur prévalence accrue dans les pays à revenu faible et intermédiaire souligne l'urgence sanitaire et les inégalités géographiques [(Petersen et al., 2005) ; (Kassebaum et al., 2017) ; (WHO, 2020)]. Bien que leur traitement repose principalement sur les antimicrobiens, son efficacité est compromise par l'émergence de résistances via divers mécanismes (mutations génétiques, production d'enzymes, pompes à efflux) [(Giurazza et al., 2021) ; (Ng et al., 2024)].

Face à cette antibiorésistance croissante, aux effets secondaires des traitements conventionnels et au fardeau économique des soins bucco-dentaires, la recherche de solutions alternatives s'impose. Les plantes médicinales représentent une piste prometteuse, offrant le potentiel d'une action antimicrobienne large tout en présentant un profil de tolérance favorable [(Chavan et al., 2018) ; (Listl et al., 2015) ; (Patangia et al., 2022)]. Leur efficacité est attribuée à une riche diversité de métabolites secondaires bioactifs, incluant les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpénoïdes, les saponines et les cétones. Ces composés exercent des activités à la fois palliatives, en atténuant les symptômes, et curatives, en ciblant les agents pathogènes des affections bucco-dentaires [(Tiwari et Rana, 2015) ; (Naseem et al., 2017) ; (Anand et al., 2019) ; (Hussein et El-Anssary, 2019) ; (Gorlenko et al., 2020)].

Leur efficacité antimicrobienne découle de multiples mécanismes d'action. Ces substances végétales perturbent l'intégrité membranaire et inhibent la synthèse pariétale, induisant la lyse cellulaire par fuite des constituants intracellulaires. Leur action anti-biofilm comprend l'altération de la matrice extracellulaire, la suppression du quorum sensing, et l'inhibition de l'adhésion microbienne et de la maturation des biofilms. Au niveau moléculaire, elles interfèrent avec la biosynthèse protéique en bloquant les phases d'initiation et d'élongation, provoquent des erreurs de traduction et inhibent le site ribosomal A [(Calvo et Martínez-Martínez, 2009) ; (Hartmann et al., 2010) ; (Cho et al., 2014) ; (Silva et al., 2016) ; (Xiao et al., 2019) ; (Ammendolia et al., 2021) ; (Wang et al., 2021) ; (Qian et al., 2023)].

Les plantes médicinales, telles que *Salvia officinalis* L., présentent un potentiel thérapeutique prometteur dans la prévention et le traitement des maladies bucco-dentaires.

En effet *Salvia officinalis* L., communément appelée « Miramia » ou « Sauge » en Algérie, est un arbuste vivace de la famille des Lamiaceae, prospérant naturellement dans le bassin méditerranéen et au Moyen-Orient [(Dinç et al., 2009) ; (Ghorbani et Esmailzadeh, 2017)] (Figure N°2). Ses propriétés pharmacologiques, notamment ses activités antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne, sont attribuables à sa composition chimique diversifiée. Celle-ci inclut plusieurs classes de composés bioactifs, dont des flavonoïdes, des acides phénoliques et des terpénoïdes [(Martins et al., 2015) ; (Costa et al., 2015) ; (Bendaas et al., 2025)].

Son utilisation traditionnelle est documentée depuis des siècles sous diverses formes galéniques, incluant des tisanes (macérats, infusions, décoctions), des huiles essentielles et des hydrolats aromatiques [(Zimmermann et al., 2011) ; (Jedidi et al., 2018)]. Elle est employée dans la prise en charge de multiples affections, telles que les troubles cardiovasculaires, les désordres gastro-intestinaux, les états dépressifs, les dermatites, les infections bucco-dentaires et diverses pathologies chroniques (Khalil et Li, 2011). Au-delà de ses applications médicinales, la sauge est également valorisée dans les industries cosmétique et agroalimentaire (compléments alimentaires), ainsi que comme agent phytosanitaire naturel [(Said-Al Ahl et al., 2015) ; (Jakovljević et al., 2019) ; (Kulak, 2020)].



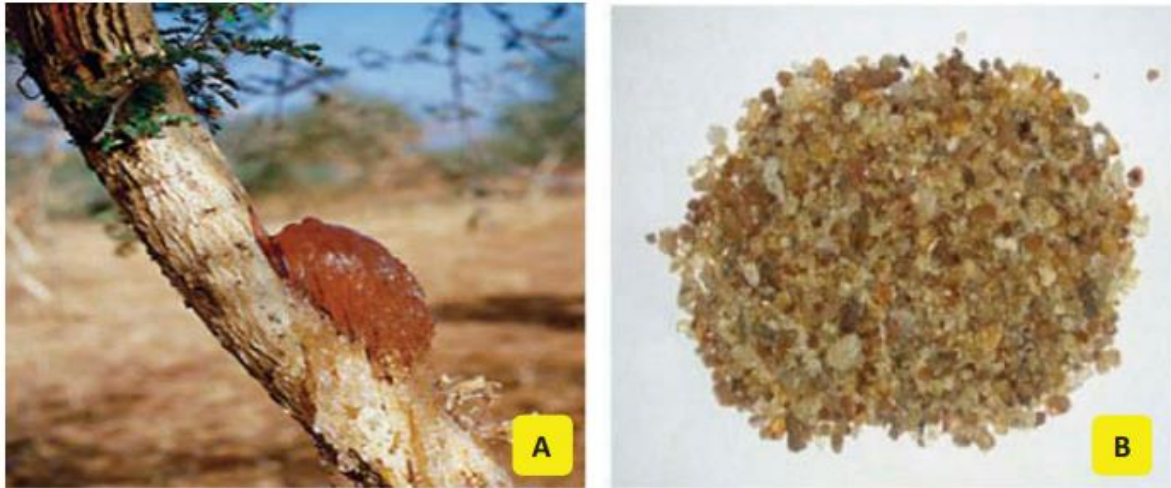
**Figure N° 2. *Salvia officinalis* (Toumi et Miloudi, 2020)**

Parmi les substances naturelles d'intérêt thérapeutique figure également la gomme arabique (GA). Il s'agit d'un exsudat naturel gommeux obtenu à partir de troncs et de branches d'arbustes du genre *Acacia*, principalement *A. senegal* et *A. seyal* (Famille des Fabacées). Sa production provient essentiellement de la ceinture sahélienne de l'Afrique, notamment du Soudan, du Tchad, du Nigéria et du Sénégal [(Nasir, 2013) ; (Ashour et al., 2022)] (Figure N°3).

D'un point de vue structural, la GA est un complexe macromoléculaire de nature arabinogalactane-protéine. Elle incorpore également des acides phénoliques et des sels minéraux dans sa matrice. Elle se caractérise par sa neutralité chimique, sa stabilité, sa faible viscosité, ainsi que son absence de goût et d'odeur prononcés [(Nie et al., 2013) ; (Mahfoudhi et al., 2014) ; (Ashour et al., 2022)].

Ses propriétés biologiques, incluant des activités antimicrobienne, antioxydante, antidiabétique et immunomodulatrice, lui ouvrent des perspectives d'application en médecine humaine, vétérinaire et dentaire. Dans le domaine de la dentisterie, son utilisation est principalement axée sur l'amélioration de l'hygiène bucco-dentaire et la réduction des indices gingivaux et de plaque. Au-delà de ses applications thérapeutiques, la gomme arabique est

largement utilisée comme additif dans les industries alimentaire, cosmétique et même dans la fabrication d'encre [(Pradeep et al., 2012) ; (Awad et al., 2016) ; (Aloqbi, 2020) ; (Li et al., 2020)].



**Figure N° 3. (A) Arbre à exsudats de gomme arabique; (B) Granules de gomme arabique (Patel et Goyal, 2015)**

Compte tenu de l'importance croissante des infections bucco-dentaires et de leurs répercussions sur la santé générale, cette étude vise à caractériser un aspect méconnu du microbiote oral, à savoir la face ventrale de la langue, qui demeure peu documentée, en particulier au sein de la population algérienne. Parallèlement, le riche patrimoine botanique local, incluant des ressources naturelles telles que *Salvia officinalis* et la gomme arabique, offre des perspectives thérapeutiques prometteuses. Dans ce contexte, les objectifs suivants ont été définis :

- Caractériser le microbiote présent sur les surfaces dorsale et ventrale de la langue chez des patients atteints de pathologies bucco-dentaires et des patients sains.
- Déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des agents antimicrobiens et des extraits végétaux vis-à-vis de souches microbiennes isolées.
- Évaluer *in vitro* la formation de biofilms et leur inhibition par des agents antimicrobiens et des extraits végétaux.
- Analyser la composition phytochimique des extraits végétaux par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).

**Deuxième partie :**  
**Matériel et méthodes**

Ce travail a été réalisé au laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique » (LAPSAB) de l'université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen.

### **1. Déclaration d'éthique**

Le protocole de l'étude a été établi conformément aux principes éthiques de la Déclaration d'Helsinki de l'Association Médicale Mondiale (2013) relative à la recherche impliquant des êtres humains (Ndebele, 2013). Les patients ou leurs représentants légaux ont été informés des objectifs de l'étude et ont donné leur consentement éclairé avant toute procédure de prélèvement.

### **2. Population d'étude**

Cette étude a inclus des patients s'étant présentés à la clinique dentaire (services de : parodontologie, ODF et pathologies) du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Dr. Tidjani Damerdji de Tlemcen pour des soins bucco-dentaires ou pour un contrôle de routine entre septembre 2021 et juin 2022. Chaque patient a été examiné par un chirurgien-dentiste qualifié pour diagnostiquer d'éventuelles pathologies bucco-dentaires. L'échantillon total comprenait 92 patients âgés de 11 à 77 ans, répartis en cinq groupes distincts selon leur état de santé bucco-dentaire. Le premier groupe était constitué de patients sains ne présentant aucune pathologie bucco-dentaire ou systémique, tandis que les quatre autres groupes correspondaient chacun à l'une des affections suivantes : xérostomie, gingivite, parodontite et carie dentaire. Tous les patients ont été invités à lire et à remplir un questionnaire (**Annexe N°1**).

Les critères d'exclusion étaient les suivants : les enfants de moins de 10 ans, les patients ayant refusé de participer à l'étude et ceux pour lesquels des prélèvements avaient déjà été réalisés dans le cadre de ce protocole.

### **3. Prélèvements**

La collecte des échantillons a été effectuée entre 9 h et 11 h, environ deux heures après le dernier repas. Pour les patients pratiquant l'hygiène bucco-dentaire, le prélèvement a été réalisé 2 heures après le dernier brossage des dents et de la langue. Pour chaque patient, des prélèvements ont été réalisés sur deux sites distincts de la langue : la surface dorsale et la surface ventrale (**Annexe N°4**). Chaque surface a été frottée avec un écouvillon stérile, puis celui-ci a été placé dans un tube stérile en vue de son transport au laboratoire.

Dans un premier temps, 3 mL d'eau physiologique ont été ajoutés à chaque échantillon. Les tubes ont ensuite été agités au vortex pendant 2 minutes. Par la suite, 200 µL de chaque suspension ont été répartis dans deux tubes distincts. Pour la recherche bactérienne, 900 µL de bouillon nutritif ont été ajoutés au premier tube, tandis que pour la recherche des levures, le même volume de milieu Sabouraud liquide a été ajouté au second tube. Les échantillons ont ensuite été incubés pendant 24 à 72 heures à 37°C pour permettre la croissance microbienne.

Concernant la solution d'eau physiologique restante dans le tube initial de prélèvement, celle-ci a été remplacée par un milieu de Sabouraud liquide. Ces tubes ont ensuite été incubés pendant 24 à 72 heures à 37°C (Seghir, 2015).

#### **4. Isolement et purification**

Une fois incubés, les échantillons présentant un trouble ont été ensemencés par étalement en stries sur différents milieux de culture sélectifs : la gélose Chapman pour l'isolement des staphylocoques (Gram positif), la gélose MacConkey pour les bacilles à Gram négatif, et la gélose Sabouraud au chloramphénicol pour l'isolement des levures. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures pour le développement bactérien et 24 à 72 heures pour la croissance fongique. Les souches isolées ont été purifiées par repiquages successifs sur les mêmes milieux. Chaque souche pure a ensuite été ensemencée sur gélose inclinée en tube, incubée à 37°C pendant 24 à 48 heures, puis conservée à +4°C.

#### **5. Identification des souches**

L'identification des staphylocoques a été réalisée par le test de la DNase et le système d'identification automatisé VITEK<sup>®</sup> 2, tandis que celle des bactéries à Gram négatif a été effectuée par des tests biochimiques conventionnels (milieu TSI, test oxydase, croissance sur gélose au Cetrimide), complétés par les systèmes API 20E (Biomérieux) et VITEK<sup>®</sup> 2.

L'identification des levures a été réalisée sur milieu Chromagar *Candida*, avec confirmation par les systèmes API *Candida* et VITEK<sup>®</sup> 2.

#### **6. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques vis-à-vis des bactéries**

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée à l'aide du système ViteK<sup>®</sup> 2. À partir d'une préculture de 24 heures sur gélose Chapman pour les staphylocoques ou sur gélose MacConkey pour les bactéries à Gram négatif, quelques colonies ont été prélevées à l'aide

d'une anse stérile et mises en suspension dans 3 mL d'eau physiologique. La turbidité de cette suspension a été ajustée à l'aide d'un densitomètre (DensiCHEK) pour obtenir une densité optique comprise entre 0,5 et 0,63. Cet inoculum a ensuite été dilué en prélevant 280 µL (pour les bactéries à Gram positif) ou 145 µL (pour les bactéries à Gram négatif) et en les ajoutant à 3 mL d'eau physiologique. La suspension finale a été transférée dans une carte VITEK® 2 de type AST, comprenant un puits témoin sans antibiotique (témoin de croissance) et des puits contenant des concentrations croissantes d'antibiotiques. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été déterminées et interprétées automatiquement par le système Vitek® 2 (**Annexes N°2 et N°3**).

### **7. Détermination des concentrations minimales inhibitrices de l'amphotéricine B vis-à-vis des levures**

La sensibilité à l'amphotéricine B a été déterminée par micro-dilution en plaque selon les recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI M27-A3) (**CLSI, 2008**).

Le protocole préconise l'utilisation du milieu Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640) tamponné à pH 7,0 avec de l'acide morpholino propanesulfonique (MOPS) 0,165 mol/L.

L'inoculum a été préparé à partir d'une préculture de 24 heures sur gélose Sabouraud dextrose. Quelques colonies ont été mises en suspension dans 5 mL de sérum physiologique stérile (NaCl 8,5 g/L), puis la concentration a été ajustée à  $3 \times 10^6$  cellules/mL après comptage sur cellule de Thoma. Deux dilutions au 1/50 et au 1/20 de cette suspension ont ensuite été réalisées dans le milieu RPMI.

La solution mère d'amphotéricine B (1,6 mg/mL) a été préparée extemporanément par dissolution dans du diméthylsulfoxyde (DMSO). Des dilutions en série (facteur 2) ont été effectuées dans le même solvant, puis chaque concentration a été diluée au 1/50 dans le milieu RPMI.

Les puits d'une microplaque 96 puits à fond plat ont été remplis avec 100 µL d'inoculum (concentration finale :  $0,5 \times 10^3$  à  $2,5 \times 10^3$  cellules/mL) et 100 µL de solution d'amphotéricine B (gamme de concentrations finales : 0,03-16 µg/mL). Un témoin négatif (milieu seul) et un témoin positif (inoculum sans antifongique) ont été inclus.

Après incubation à 35°C pendant 24 et 48 heures, la CMI a été définie comme la plus faible concentration inhibant toute croissance visible. La souche *Candida albicans* ATCC 10231 a servi de contrôle de qualité.

### **8. Sélection du matériel végétal**

Dans cette étude, nous avons sélectionné deux produits végétaux connus pour leurs usages thérapeutiques. Nous avons évalué la cytotoxicité, l'activité antimicrobienne et l'activité anti-biofilm de l'extrait brut hydro-méthanolique et de sa fraction acétate d'éthyle pour chaque produit.

Les feuilles de *Salvia officinalis* ont été collectées dans la wilaya de Tlemcen durant les mois d'avril et mai 2023. L'identification de cette plante a été réalisée par un botaniste « Dr. Baba Ali » de l'université de Tlemcen (code : *Salvia officinalis* LABSAP-72). Ces feuilles ont ensuite été séchées dans un endroit sec, aéré et obscur. Par ailleurs, la gomme arabique, importée du Soudan sous forme de grains, a été achetée dans une herboristerie à Tlemcen. Elle a été conditionnée dans des sacs bien fermés, résistants à l'humidité. À son arrivée, cette gomme a été stockée dans un endroit sec, à température ambiante et protégée de l'exposition directe à la lumière.

### **9. Préparation des extraits bruts hydro-méthanoliques**

Dans un premier temps, chaque matière végétale a été broyée jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Par la suite, des extraits bruts hydro-méthanoliques ont été préparés par macération. Cette méthode a consisté à mettre en contact 100 g de poudre végétale avec 500 mL d'un mélange eau-méthanol (30:70, v/v), suivie d'une agitation continue pendant 48 heures, à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'extrait obtenu a ensuite été filtré sur papier filtre. Le méthanol a été éliminé par évaporation sous pression réduite à 60°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Enfin, les extraits aqueux résiduels ont été séchés complètement dans une étuve à 37°C.

### **10. Fractionnement par acétate d'éthyle**

Les extraits bruts hydro-méthanoliques, après évaporation complète du méthanol, sont soumis à une extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle (trois fois) à l'aide d'une ampoule à décanter. La phase organique d'acétate d'éthyle récupérée est évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C, puis séchée à l'étuve à 37°C.

Les extraits bruts hydro-méthanoliques et les fractions d'acétate d'éthyle sont récupérés et conservés à l'abri de la lumière. Il est à noter que les extraits bruts sont solubles dans l'eau distillée, tandis que leurs fractions le sont dans le DMSO.

### **11. Détermination du rendement de l'extraction des produits végétaux**

Le rendement d'extraction correspond au rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu (M) et la masse initiale de matière végétale utilisée ( $M_0$ ), exprimé en pourcentage. Pour chaque extrait, le rendement a été calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = (M/M_0) \times 100$$

- R : Rendement (%)
- M : Masse de l'extrait sec obtenu (g)
- $M_0$  : Masse initiale de matière végétale (g)

### **12. Évaluation de la cytotoxicité des extraits végétaux**

Du sang humain provenant de donneurs sains a été prélevé sur tubes vacutainers contenant de l'EDTA comme anticoagulant. Après centrifugation (10 min, 2000 rpm, 20°C), le culot érythrocytaire a été lavé trois fois avec du tampon phosphate salin (PBS, pH 7,4). Les érythrocytes ont ensuite été resuspendus dans du PBS pour obtenir une suspension à 10 % (v/v), puis dilués au 1/10 dans le même tampon.

Dans des tubes Eppendorf, 100  $\mu$ L de la suspension érythrocytaire ont été incubés avec 100  $\mu$ L d'extraits à concentrations croissantes dans du PBS (concentrations finales : 4, 8, 16, 32, 64 et 128 mg/mL). Un témoin d'hémolyse totale a été préparé avec du Triton X-100 à 1 %.

Après incubation (1 h, 37°C) et centrifugation (10 min, 2000 rpm, 20°C), 150  $\mu$ L de surnageant ont été transférés dans une microplaque 96 puits à fond plat. L'absorbance a été mesurée à 450 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Rayto RT-2100C).

Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon la formule :

% Hémolyse = (Absorbance échantillon - Absorbance témoin négatif)  $\div$  (Absorbance témoin positif - Absorbance témoin négatif)  $\times$  100 (**Wei et Bobek, 2004**).

### **13. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des extraits végétaux vis-à-vis des cellules planctoniques bactériennes et fongiques**

Les CMI des extraits végétaux ont été déterminées par microdilution en bouillon selon les recommandations du **CLSI (2008)** pour les levures et du **CLSI (2012)** pour les bactéries. Des précultures ont été réalisées sur gélose Chapman pour les staphylocoques, gélose MacConkey pour les bactéries à Gram négatif, et gélose Sabouraud au dextrose pour les levures.

Après 24 heures d'incubation, les inoculums ont été standardisés à :

- $10^6$  UFC/mL dans du Mueller-Hinton pour les bactéries
- $1 \times 10^3$  à  $5 \times 10^3$  cellules/mL dans du RPMI-1640 tamponné au MOPS (pH 7,0) pour les levures

Dans des microplaques à 96 puits à fond plat, 100  $\mu$ L d'inoculum (concentration finale :  $5 \times 10^5$  UFC/mL pour les bactéries ;  $0,5 \times 10^3$  à  $2,5 \times 10^3$  cellules/mL pour les levures) ont été ajoutés à 100  $\mu$ L d'extrait à concentrations décroissantes (0,01 à 8 mg/mL) préparé dans le même milieu de culture. Les microplaques ont été incubées 24 h à 37°C pour les bactéries et 35°C pour les levures.

Des témoins positif (inoculum seul) et négatif (milieu seul) ont été inclus. La CMI correspond à la plus faible concentration inhibant toute croissance microbienne visible.

### **14. Évaluation de la capacité des souches co-isolées d'un même prélèvement lingual à former *in vitro* des biofilms mono et multi-espèces**

Les précultures sont réalisées dans 1 mL de bouillon BHI pour les bactéries et dans 1 mL de bouillon Sabouraud pour les levures, puis incubées pendant 24 heures à 37°C et 30°C respectivement, sous agitation continue.

Les cultures sont ensuite centrifugées ( $1000 \times g$ , 15 min, 4°C pour les bactéries ;  $3000 \times g$ , 5 min, 4°C pour les levures). Les culots sont lavés deux fois avec du PBS (pH 7,4 ; 10 mM) puis resuspendus dans du RPMI-1640 tamponné avec du MOPS 0,165 mol/L (pH 7,4), du BHIB ou du TSB.

Les suspensions sont ajustées à  $10^7$  UFC/mL pour les bactéries (**Seghir et al., 2015**) et à  $10^6$  cellules/mL pour les levures (**Pierce et al., 2008**). Dans des microplaques de polystyrène à 96

puits à fond rond, 100 µL de suspension microbienne sont déposés par puits pour la formation de biofilms mono-espèces.

Pour les biofilms mixtes, des volumes égaux de suspensions fongique et bactérienne sont combinés dans chaque puits. Les microplaques sont incubées à 37°C pendant 24 et 48 heures. Des puits contenant uniquement le milieu de culture servent de témoin négatif (Seghir et al., 2015).

### **15. Quantification de la biomasse dans le biofilm par la méthode de coloration au Cristal violet**

Une fois le biofilm formé, le milieu de culture est aspiré et les puits sont lavés avec du PBS (pH 7,4 ; 0,1 mM). Chaque puits est ensuite traité avec 100 µL de méthanol absolu pour la fixation du biofilm. Après incubation à température ambiante pendant 15 minutes, les puits sont rincés puis colorés avec 100 µL de solution de cristal violet pendant 20 minutes à température ambiante. Le colorant fixé au biofilm est extrait par addition de 150 µL d'acide acétique à 33 %. Finalement, la densité optique est mesurée à 570 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Biochrom AsysUVM340) (Christensen et al., 1985).

Selon les critères établis par Kodori et al. (2021), les souches sont classées comme suit :

- Non formatrices de biofilm ( $DO \leq DOC$ ),
- Faiblement formatrices ( $DOC < DO \leq 2 \times DOC$ ),
- Modérément formatrices ( $2 \times DOC < DO \leq 4 \times DOC$ ),
- Fortement formatrices de biofilm ( $DO > 4 \times DOC$ ).

DO : Densité optique de la souche testée

DOC : Densité optique du témoin négatif

### **16. Détermination des concentrations minimales inhibitrices sessiles (SCMIs) des agents antimicrobiens et des extraits végétaux vis-à-vis de *Staphylococcus lentus* et *Candida albicans* co-isolées d'un même prélèvement lingual**

La technique de Pierce et al. (2008) a été utilisée pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices sessiles (SCMIs) des agents antimicrobiens et des extraits végétaux

vis-à-vis de *Staphylococcus lentus* et *Candida albicans* co-isolés d'un même prélèvement lingual. Cette méthode est basée sur la réduction d'un indicateur de viabilité cellulaire. Dans la présente étude, c'est le MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium) qui a été employé comme indicateur de viabilité. Ce composé jaune est réduit en un cristal de formazan violet par les cellules métaboliquement actives (**Kumar et al., 2018**).

Les biofilms mono-espèces et multi-espèces de *S. lentus* et *C. albicans* ont été formés en milieu RPMI 1640 selon un protocole préalablement décrit. Après une incubation de 24 et 48 heures à 37°C, les surnageants ont été aspirés et les biofilms obtenus ont été rincés avec une solution de PBS stérile (pH 7,4 ; 10 mM).

Les concentrations finales des agents testés ont été préparées en milieu RPMI 1640 à partir de solutions mères. Les gammes de concentrations utilisées étaient les suivantes :

- Vancomycine : de 1 µg/mL à 512 µg/mL.
- Amphotéricine B : de 0,25 µg/mL à 128 µg/mL.
- Extraits végétaux : de 0,25 mg/mL à 128 mg/mL.

Pour les biofilms mono-espèces, 100 µL de concentrations croissantes de l'antimicrobien ont été ajoutés respectivement aux cellules sessiles de *S. lentus* (antibiotique) ou de *C. albicans* (antifongique). Les biofilms multi-espèces, quant à eux, ont été traités par une association des deux agents.

L'effet anti-biofilm des extraits végétaux a été évalué en ajoutant un volume identique de différentes concentrations de chaque extrait sur les biofilms bactériens, fongiques et mixtes.

Des puits contenant des biofilms non exposés aux antimicrobiens ou aux extraits ont reçu 100 µL de milieu de culture (témoin positif). D'autres puits contenant uniquement du RPMI 1640 ont servi de témoin négatif. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les surnageants ont été éliminés et les puits ont été rincés avec du PBS stérile. L'effet inhibiteur des antimicrobiens et des extraits végétaux sur les biofilms a finalement été quantifié par le test de réduction du MTT.

**17. Test de réduction au tétrazolium (MTT)**

Le test de viabilité cellulaire a été effectué selon la méthode de **Mosmann (1983)**, avec quelques modifications. Nous avons dissous 1 mg de MTT (Sigma-Aldrich, M2128) dans 1 mL de PBS (pH 7,4 ; 10 mM) puis stérilisé le mélange par filtration (filtres Millipore 0,22 µm). Ensuite, 20 µL de la solution de MTT ont été ajoutés dans les puits contenant des biofilms matures mono- et multi-espèces, ainsi que dans ceux des témoins négatifs. Après incubation des microplaques à 37°C pendant 4 h, 100 µL d'isopropanol acidifié (HCl 0,04 N dans de l'isopropanol) ont été ajoutés à tous les puits et mélangés délicatement afin de dissoudre les cristaux de formazan bleu-violet. Après une deuxième incubation de 15 minutes à température ambiante, 75 µL du contenu de chaque puits ont été transférés dans de nouvelles microplaques. L'absorbance a finalement été mesurée à 570 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Biochrom Asys UVM340).

L'évaluation des SCMI est déterminée à 80 % d'inhibition selon cette formule :

$$\text{SCMI} = 100 [1 - (\text{Moyenne des DO}_{570 \text{ nm}} \text{ puits avec antimicrobien} / \text{Moyenne des DO}_{570 \text{ nm}} \text{ puits sans antimicrobien})].$$
**18. Analyse chimique des extraits végétaux par LC-MS/MS**

L'analyse chimique des extraits a été réalisée au Plateau Technique d'Analyses Physico-Chimiques (PTAPC) de l'Université d'Ouargla par un système LC-MS/MS. Il s'agit d'un système de chromatographie liquide ultra-performance avec ionisation par électrospray et spectrométrie de masse en tandem (UPLC-ESI-MS-MS) Shimadzu 8040 à très haute sensibilité avec technologie UFMS et équipé d'un Nexera XR LC-20AD à pompes binaires.

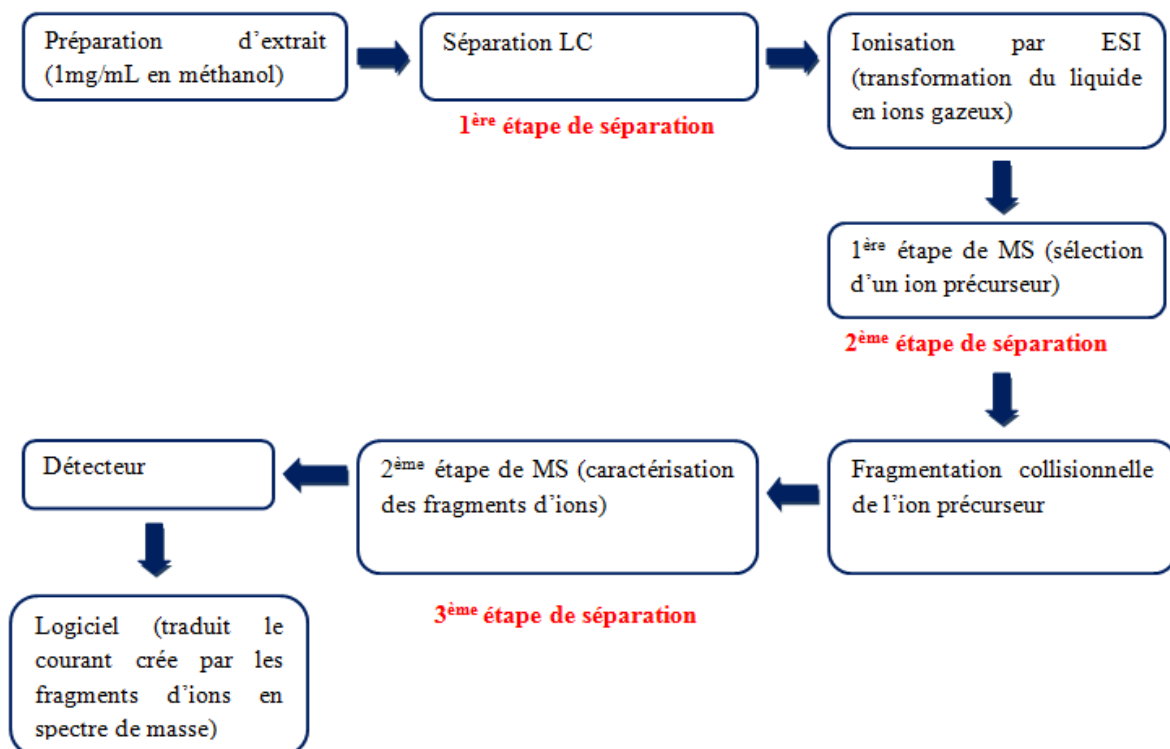
Les conditions de l'ionisation par électrospray (ESI) étaient les suivantes : gaz CID, 230 KPa; dynode de conversion, -6,00 KV°C ; température DL, 250°C ; débit de gaz de nébulisation, 3,00 L/min ; bloc chauffant, 400°C ; débit de gaz de séchage, 10 L/min.

La phase mobile A était constituée de 2 mmol de formiate d'ammonium et d'eau à l'acide formique à 0,002%. La phase mobile B était constituée de 2 mmol de formiate d'ammonium et d'acide formique méthanol à 0,002%. Le débit était de 0,4 mL/min et le volume d'injection était de 10 µL. Les échantillons ont été séparés à l'aide d'une colonne Shim-pack C8 (150 mm × 2,0 mm, 2,2 µm). Le programme de gradient utilisé est présenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau N° 1. Programme de gradient de la méthode LC-MS/MS

Temps	Phase mobile A %
0.1	98
0.2	98
2.5	45
4	5
7	5
7.1	98
12	stop

Les principales étapes de l'analyse LC-MS/MS sont résumées dans la **figure N°4**.



**Figure N° 4. Étapes de l'analyse LC-MS/MS (Winnik et Kitchin, 2008) (modifiée)**

## 19. Analyse statistique

L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel IBM Statistical Product and Service Solutions (SPSS), version 26.0. Nous avons appliqué le test du chi-carré ( $\chi^2$ ) pour analyser les profils de santé bucco-dentaire entre les sexes, ainsi que pour comparer la composition du microbiote entre les surfaces dorsale et ventrale de la langue. Une analyse de variance (ANOVA) a également été utilisée pour comparer le nombre de microorganismes isolés chez les patients atteints de pathologies bucco-dentaires et les patients sains. De plus, le test t de

Student a été appliqué pour comparer les biomasses produites par les biofilms entre 24 heures et 48 heures. Le seuil de signification statistique a été fixé à  $p < 0,05$ .

**Troisième partie :**  
**Résultats et**  
**discussion**

En raison de son anatomie particulière, la langue, qui représente environ le tiers du volume de la cavité buccale, abrite un microbiote plus diversifié et dense que celui des autres tissus mous. Ce microbiote est constitué de nombreuses espèces bactériennes et fongiques vivant majoritairement sous forme de biofilm **(Li et al., 2022)**. À l'équilibre, il joue un rôle essentiel dans le maintien de la santé buccale et générale. En revanche, son déséquilibre peut le rendre pathogène et contribuer au développement de pathologies bucco-dentaires, telles que la gingivite, la parodontite ou la carie dentaire, ainsi que d'affections systémiques comme l'hypertension artérielle et le diabète [(Colombo et al., 2015) ; (Asakawa et al., 2018) ; (Berger et al., 2018) ; (Rodríguez-Archilla et Piedra-Rosales, 2021)].

L'éradication complète d'un biofilm lingual pathogène demeure particulièrement difficile. C'est pourquoi la mise en œuvre de mesures d'hygiène bucco-dentaire appropriées, incluant l'utilisation régulière de bains de bouche et de dentifrices à base de composés d'origine végétale, est nécessaire pour en réduire la gravité **(Abebe, 2021)**.

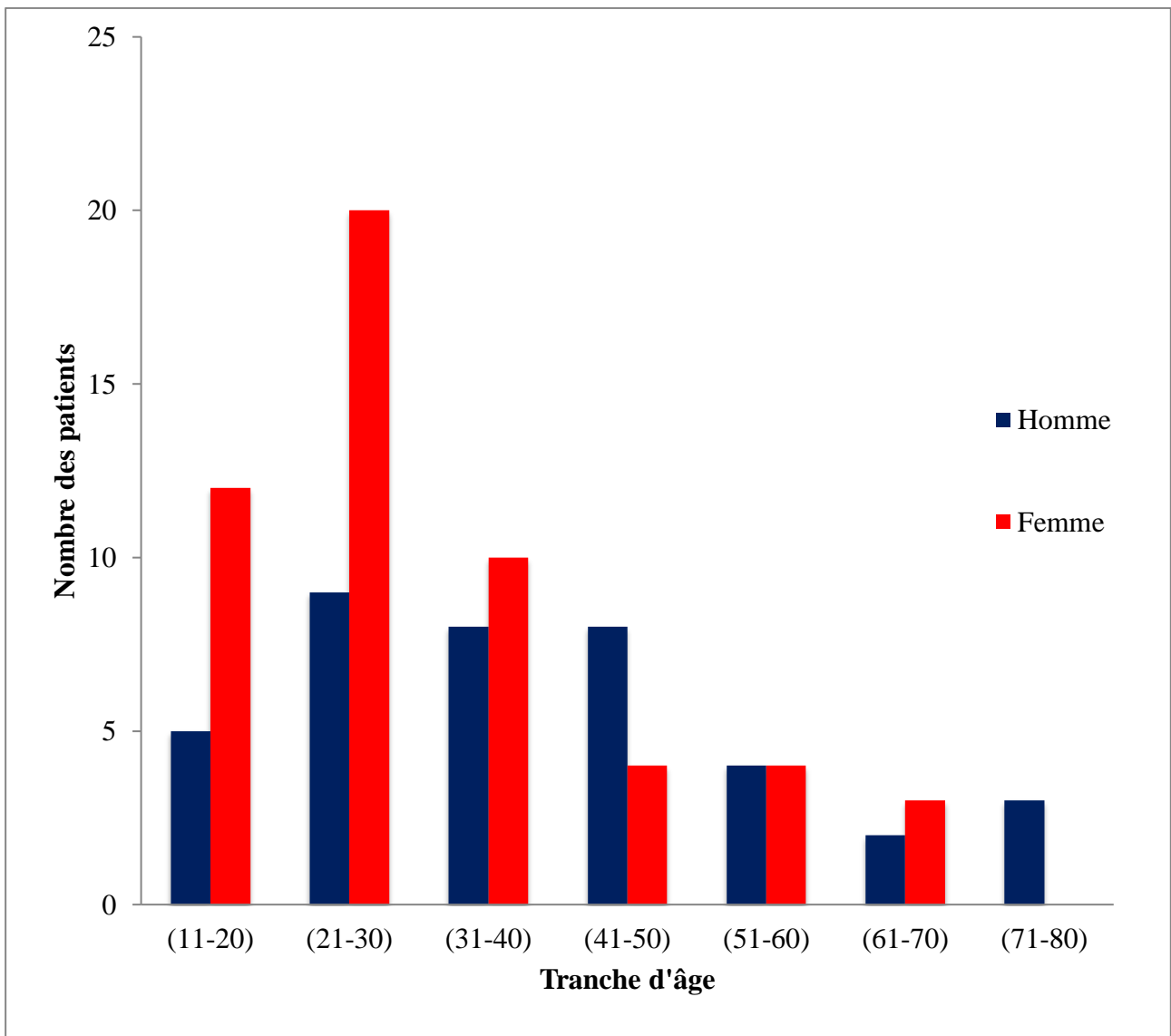
Dans cette perspective, la présente étude a pour objectif d'identifier diverses espèces microbiennes présentes sur les surfaces linguales dorsale et ventrale de patients atteints de maladies bucco-dentaires, ainsi que de patients sains, dans la région de Tlemcen (Algérie). Elle vise également à déterminer les concentrations minimales inhibitrices d'antibiotiques, d'antifongiques et d'extraits végétaux contre certaines souches isolées, à évaluer leur capacité à former des biofilms *in vitro*, et enfin à examiner l'effet inhibiteur de ces agents antimicrobiens et extraits végétaux sur les biofilms linguaux.

### **1. Description de la population d'étude**

L'étude a inclus 92 patients, parmi lesquels 18 % (n=17) présentaient une xérostomie, 24 % (n=22) une gingivite, 23 % (n=21) une parodontite et 15 % (n=14) une carie dentaire ; les 20 % restants (n=18) étaient considérés comme sains.

### 1.1. Répartition des patients selon les caractéristiques sociodémographiques

La **figure N°5**, représente la répartition des patients (n=92) par sexe et par tranche d'âge.



**Figure N° 5. Répartition des patients par sexe et par tranche d'âge**

Comme le montre la **figure N°5**, l'échantillon de l'étude (n = 92) était majoritairement composé de femmes (57 %, n = 53), contre 43 % d'hommes (n = 39). Ces résultats sont similaires à ceux observés par **Asakawa et al. (2018)** dans leur étude sur le microbiote lingual d'individus âgés japonais, qui rapportaient également une prédominance féminine (54 %). Cette surreprésentation pourrait s'expliquer par un plus grand intérêt des femmes pour leur santé bucco-dentaire, les rendant ainsi plus susceptibles de consulter en établissement dentaire. Cette hypothèse est soutenue par les travaux de **Farsi (2010)**, qui indiquait que les hommes consultent moins fréquemment le dentiste.

De plus, nous observons que la tranche d'âge de 21 à 30 ans est la plus représentée chez les deux sexes (**Figure N°5**). L'âge moyen des femmes était de  $31,47 \pm 14,14$  ans, celui des hommes de  $39,56 \pm 16,55$  ans, et celui de l'ensemble de la population de  $34,90 \pm 15,56$  ans. Cette dernière valeur est proche de celle rapportée par **Burcham et al. (2020)** dans leur étude sur le microbiote buccal, qui ont établi un âge moyen de 34,2 ans chez des adultes américains.

## 1.2. Répartition des maladies bucco-dentaires par sexe

Les résultats relatifs à la répartition des maladies bucco-dentaires par sexe sont présentés dans le **tableau N°2**.

**Tableau N° 2. Maladies bucco-dentaires signalées par les groupes de patients en fonction du sexe**

Maladies bucco-dentaires	Homme n= 39(%)	Femme n= 53(%)	P value
Xérostomie	05 (13)	12 (23)	
Gingivite	07(18)	15 (28)	
Parodontite	19 (49)	02 (04)	0,014
Carie dentaire	04 (10)	10 (19)	

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessus révèlent une différence significative entre les profils de santé bucco-dentaire des femmes et des hommes ( $p = 0,014$ ). Les femmes présentent une sensibilité accrue à la xérostomie, à la gingivite et à la carie dentaire, tandis que les hommes sont plus sujets à la parodontite.

La prévalence de la xérostomie est plus élevée chez les femmes, quel que soit l'âge, comme l'ont montré plusieurs études épidémiologiques menées en Amérique du Nord (États-Unis), en Asie (Inde, Iran, Irak, Arabie saoudite) et en Europe (Suède) [(**Navazesh et al., 1995**) ; (**Abdullah, 2015**) ; (**Han et al., 2015**) ; (**Shirzaiy et Bagheri, 2016**) ; (**Nadig et al., 2017**) ; (**Adolfsson et al., 2022**) ; (**Alkanani et al., 2022**)]. Nos observations sont en accord avec ces travaux.

La prévalence élevée de la xérostomie chez les femmes peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment une consommation de médicaments plus importante, une carence en œstrogènes post-ménopausique, une plus grande susceptibilité au syndrome de Sjögren et à la dépression. De plus, la taille réduite des glandes salivaires chez les femmes, comparativement à celle des hommes, contribue à cette prédisposition [(**Riley et Gilbert, 2001**) ; (**Torres et al., 2002**) ; (**Agha-Hosseini et al., 2009**) ; (**Forsblad-d'Elia et al., 2009**) ; (**Han et al., 2015**)].

Au vu des recherches antérieures, il est probable que les effets indésirables des médicaments aient un impact plus important sur la xérostomie que la maladie sous-jacente elle-même (**Scully Cbe, 2003**). Dans notre étude, 29 % des femmes et 12 % des hommes xérostomiques suivaient un traitement pharmacologique, notamment des antihypertenseurs, des antidiabétiques et des agents thyroïdiens. Certains médicaments agissent sur les récepteurs muscariniques des glandes salivaires, tandis que d'autres influencent la régulation du calcium. Ces mécanismes affectent la sécrétion salivaire [(**Miranda-Rius et al., 2015**) ; (**Einhorn et al., 2020**)]. Malgré des recherches approfondies, le mécanisme d'action précis de nombreux médicaments responsables de la xérostomie reste mal élucidé (**Wolff et al., 2017**).

Par ailleurs, nos résultats ont révélé une plus grande fréquence de gingivite chez les femmes que chez les hommes. Ces observations sont conformes à celles d'études menées dans divers pays asiatiques (Népal, Pakistan, Palestine) et au Portugal [(**Dhakal et al., 2015**) ; (**Elshanti et al., 2020**) ; (**Shehzad et al., 2021**) ; (**Relvas et al., 2022**)]. Néanmoins, la prévalence de cette pathologie s'est avérée similaire chez les deux sexes en Chine (**Zhang et al., 2010**). L'inflammation et la vascularisation accrues des gencives chez les femmes pourraient être attribuées à l'élévation des taux de progestérone et d'œstrogène durant la puberté ou la grossesse (**Elshanti et al., 2020**).

D'autre part, notre étude indique que 86 % des patients atteints de gingivite présentent du tartre. Une étude pakistanaise a rapporté un taux similaire de 72 % (**Ali et al., 2012**). Le tartre est un dépôt résultant de la minéralisation de la plaque dentaire. Bien que sa surface rugueuse ne provoque pas directement la gingivite, elle favorise l'accumulation de plaque dentaire, augmentant ainsi le risque de maladies parodontales [(**Mamai-Homata et al., 2010**) ; (**Leroy et al., 2011**)].

La parodontite est plus fréquente chez les hommes que chez les femmes, indépendamment de l'âge, de l'origine ethnique ou de la localisation géographique, comme observé dans notre étude et confirmé par des recherches menées en Jordanie, au Pakistan, au Portugal et aux

États-Unis [(Ababneh et al., 2012) ; (Eke et al., 2012) ; (vom Steeg et Klein, 2016) ; (Shehzad et al., 2021) ; (Relvas et al., 2022)]. Plusieurs facteurs expliquent cette prévalence élevée chez les hommes : une hygiène bucco-dentaire généralement moins bonne, un tabagisme plus important, un recours aux soins dentaires insuffisant, une réponse immunitaire moins efficace que chez les femmes et des taux plus faibles d'hormones protectrices comme les œstrogènes [(Jha et al., 2002) ; (Dye et al., 2007) ; (Farsi, 2010) ; (Gameiro et Romao, 2010) ; (Grover et al., 2016)]. Une prédisposition génétique accrue à la parodontite a également été rapportée chez les hommes (Ober et al., 2008).

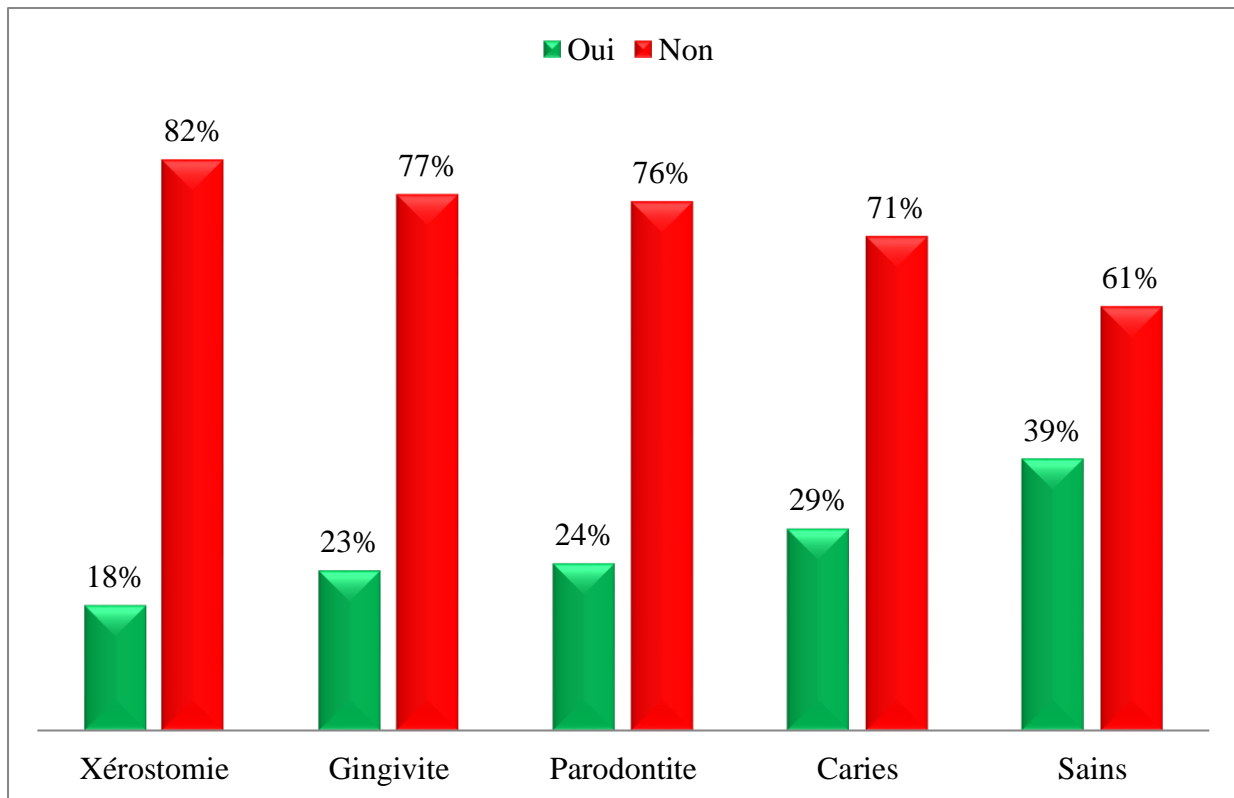
Nos résultats indiquent par ailleurs une prévalence plus élevée de la carie dentaire chez les femmes. Des observations similaires ont été faites en Amérique du Nord (Canada, Mexique), en Europe (Allemagne), en Asie (Turquie) et en Afrique (Éthiopie) [(Splieth et al., 2003) ; (Lukacs et Largaespada, 2006) ; (Namal et al., 2008) ; (Mejía-Rubalcava et al., 2012) ; (Teshome et al., 2020)]. Une étude hongroise n'a cependant constaté aucune différence significative entre les sexes (Szoke et Petersen, 2004).

L'incidence plus importante des caries chez les femmes s'expliquerait par plusieurs facteurs : les fluctuations hormonales (puberté, grossesse, ménopause) affectant le flux salivaire, l'éruption dentaire précoce, une exposition accrue aux aliments lors de la préparation des repas, ainsi que des facteurs génétiques comme les variations du gène de l'amélogénine lié au chromosome X. Ce gène code à environ 90 % pour la protéine amélogénine, dont une carence peut altérer la structure de l'émail dentaire [(Lukacs et Largaespada, 2006) ; (Deeley et al., 2008) ; (Patir et al., 2008)].

### **1.3. Répartition des groupes de patients selon les habitudes d'hygiène bucco-dentaire**

#### **1.3.1. Répartition des groupes de patients selon la pratique de brossage lingual**

La **figure N° 6** représente la distribution des groupes de patients selon la pratique du brossage de la langue.



**Figure N° 6. Répartition des groupes de patients selon la pratique de brossage lingual**

La **figure N°6** révèle que la majorité des patients au sein des cinq groupes ne pratiquent pas le brossage de la langue, avec des pourcentages variant entre 61 % et 82 %. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés dans l'étude japonaise de **Kishi et al. (2012)**, qui montrent que 63 % des individus ne brossaient pas leur langue. De plus, **Matsuda et al. (2019)**, ont indiqué que 47,4 % de la population japonaise ne pratiquait pas ce geste d'hygiène, une proportion inférieure à celles enregistrées dans notre étude. En revanche, des taux élevés de brossage lingual étaient déclarés par les populations saoudienne (68,4 %) et brésilienne (93 %) [(**da Silva Farias et al., 2019**) ; (**Alshahrani et al., 2021**)].

Le brossage de la langue une fois par jour permet de réduire la charge microbienne linguale et de soulager les inflammations gingivales [(**Bordas et al., 2008**) ; (**Acar et al., 2019**)]. Malgré ses bénéfices établis, la sensibilisation à l'hygiène linguale reste insuffisante au sein de nombreuses populations (**Hussain et al., 2018**).

### 1.3.2. Répartition des groupes de patients selon la fréquence de brossage dentaire

La **figure N°7** montre la répartition des groupes de patients en fonction des fréquences de brossage dentaire.

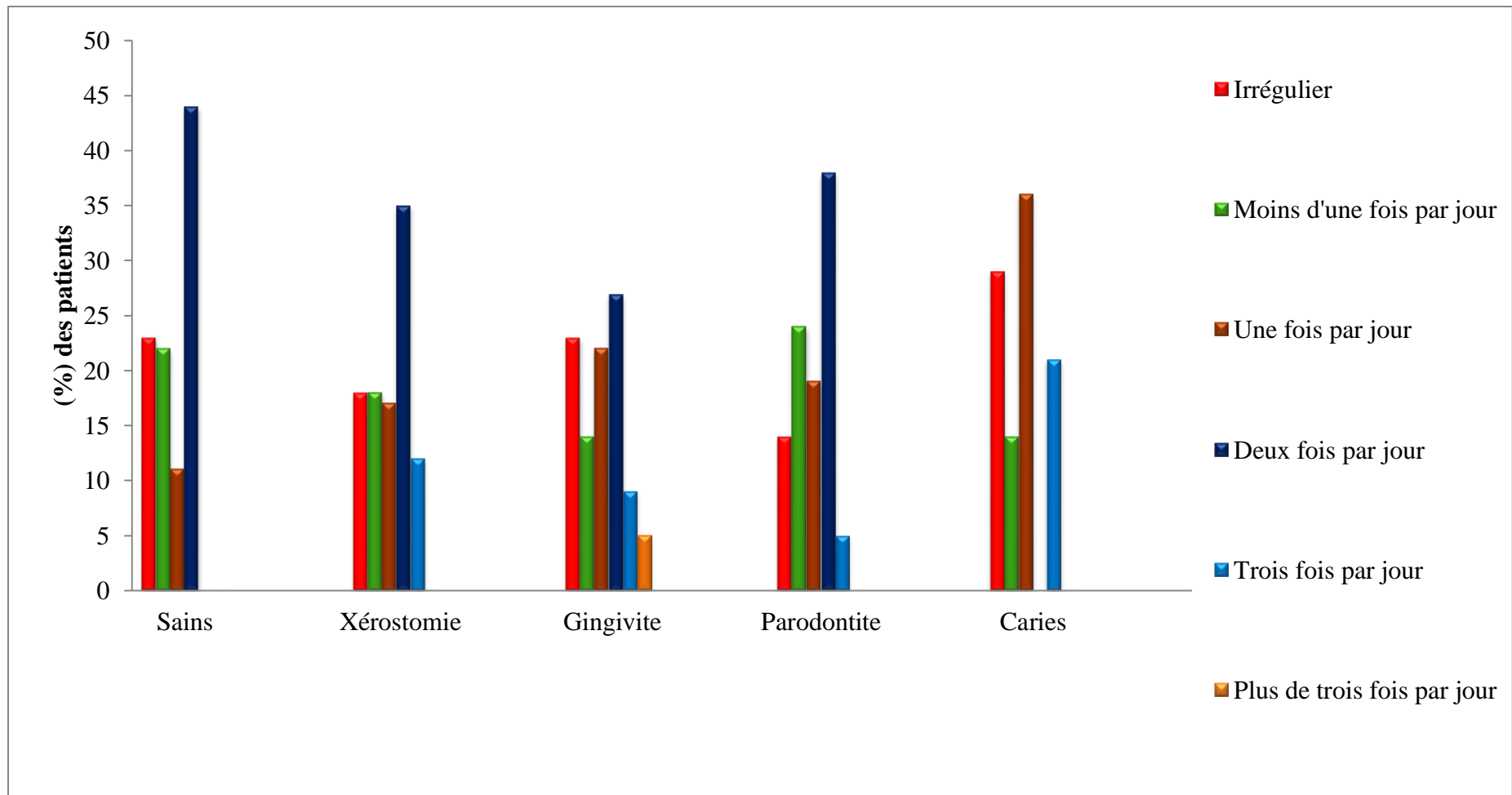


Figure N° 7. Répartition des groupes de patients selon la fréquence de brossage dentaire

La **figure N° 7** met en évidence la variabilité des fréquences de brossage dentaire, tant entre les différents groupes de patients qu'au sein de chaque groupe.

Dans notre cohorte, 55 % des patients sains déclarent un brossage quotidien, dont 44 % deux fois par jour. Chez les patients atteints de xérostomie, 64 % pratiquent un brossage quotidien et 35 % le font deux fois par jour. Pour le groupe gingivite, 63 % adoptent une hygiène dentaire quotidienne, mais seulement 27 % la pratiquent deux fois par jour. Concernant les patients de parodontite, 62 % affirment un brossage quotidien et 38 % deux fois par jour. Enfin, 57 % des patients cariés réalisent un brossage quotidien, dont 36 % une fois par jour. Les patients restants de chaque groupe présentent une fréquence de brossage irrégulière ou nulle (**Figure N°7**).

L'étude d'**Hoceini et al. (2016)** révélait que 98 % des Algériens sains pratiquaient un brossage quotidien, dont 62 % deux fois par jour. Elle montrait également que 50 % des patients cariés avaient un brossage irrégulier, l'autre moitié le pratiquant quotidiennement (28 % une fois par jour). Par ailleurs, **Hussain et al. (2018)** ont observé que 97 % de la population indienne effectuait un brossage régulier, dont 65 % une seule fois par jour.

Un brossage inadéquat favorise le développement de biofilms pathogènes responsables des caries et maladies parodontales. Un brossage régulier et correct est donc essentiel pour perturber la formation de ces biofilms [(**Jain et al., 2018**) ; (**Lamont et al., 2018**)].

### **1.3.3. Répartition des groupes de patients selon l'usage de bains de bouche**

La **figure N°8** illustre la répartition des groupes de patients selon leur utilisation de bains de bouche.

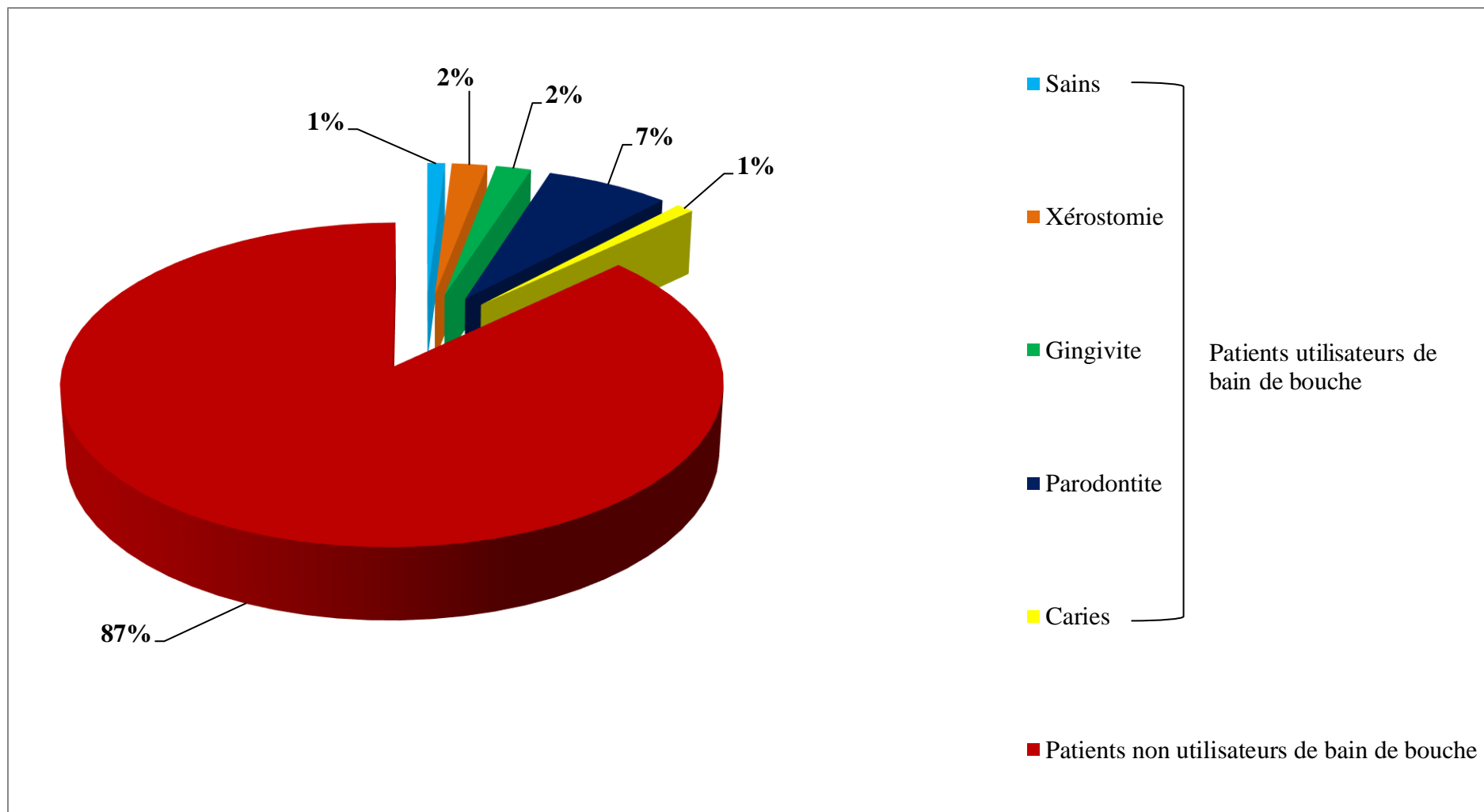


Figure N° 8. Répartition des groupes de patients selon l'usage de bains de bouche

L'utilisation des bains de bouche est limitée à 13 % des patients, répartis comme illustré dans la figure ci-dessus. Certains pratiquaient le rinçage buccal avec des solutions naturelles telles que le clou de girofle et l'alun, tandis que d'autres recouraient à des bains de bouche commerciaux comme le Listerine et l'Eludril. Des études rapportent que 44 % des individus au Royaume-Uni et 48 % en Arabie saoudite utilisent des bains de bouche [(Macfarlane et al., 2011) ; (Alshahrani et al., 2021)]. Ces pourcentages sont supérieurs à ceux observés dans notre étude.

La disparité dans l'utilisation de ces produits d'hygiène bucco-dentaire pourrait s'expliquer par des facteurs socio-économiques. Une enquête récente menée auprès d'enfants a révélé que ceux des pays à revenu élevé utilisaient davantage les bains de bouche que ceux des pays à faible revenu (Elkhodary et al., 2023).

Selon Eley (1999) et Moran (2008), les bains de bouche pénètrent faiblement le milieu sous-gingival. Ainsi, ils ne sauraient être considérés comme un substitut aux techniques mécaniques d'hygiène buccale, mais plutôt comme un complément. Il est essentiel de souligner que leur efficacité protectrice et curative dépend en grande partie de la mise en œuvre d'une technique de rinçage correcte par le patient (Moran, 2008).

#### **1.4. Répartition des groupes de patients selon la consommation de sucres ajoutés**

La répartition des patients selon leur consommation de sucres ajoutés est illustrée dans la **figure N° 9**.

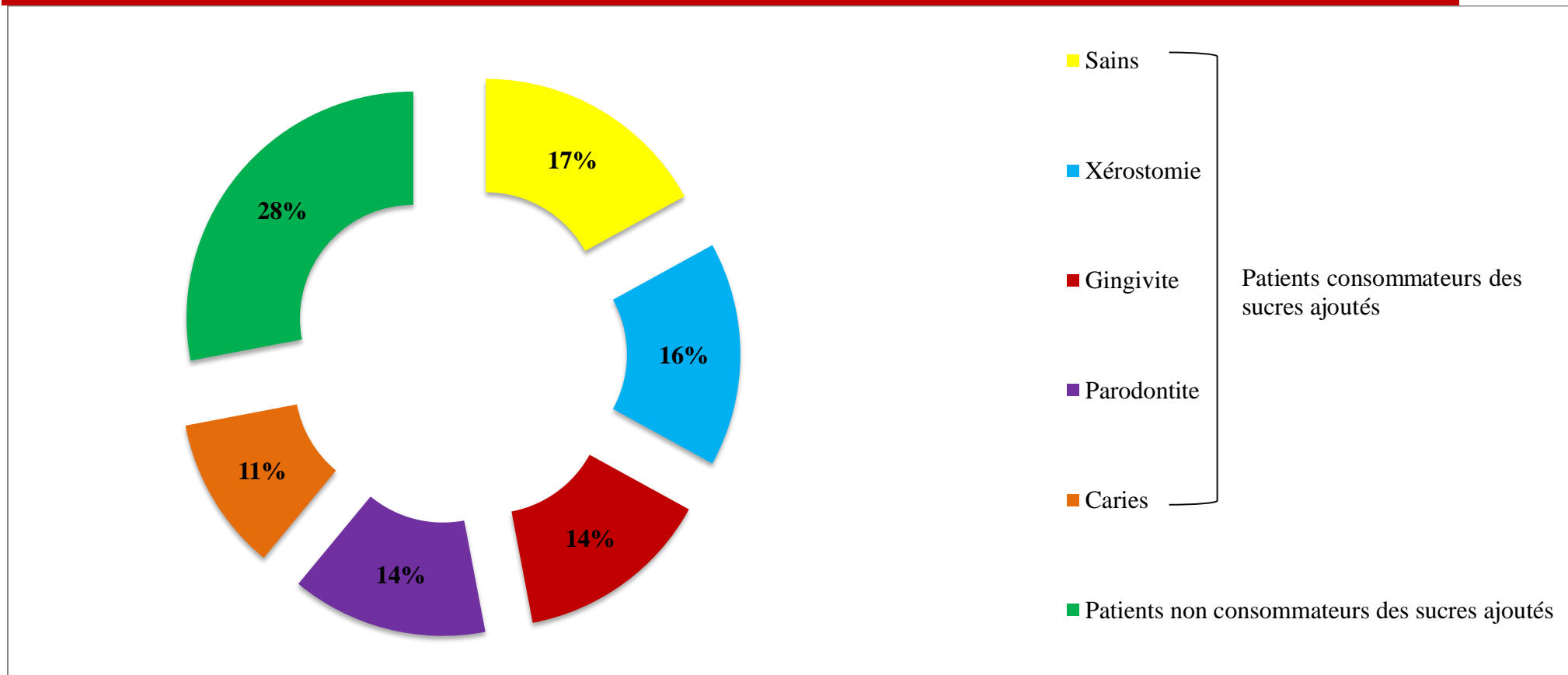


Figure N°9. Répartition des groupes de patients selon la consommation de sucres ajoutés

L'analyse de nos données révèle que 72 % des patients consomment des sucres ajoutés, répartis comme illustré dans la **figure N°9**. Une enquête réalisée à Constantine a montré que la totalité des participants consommaient ce type de sucres (**Bensmaine et Bengrine, 2024**). Aux États-Unis, il a été constaté entre 2015 et 2018 que 30 % des adultes avaient une alimentation très riche en sucres ajoutés (**Lee et al., 2023**).

Il est établi que la consommation d'aliments contenant des sucres ajoutés affecte la santé bucco-dentaire en favorisant l'apparition de caries dentaires, de gingivite et de parodontite [(**Carmo et al., 2018**) ; (**Nyvad et Takahashi, 2020**)]. Dans ce contexte, plusieurs études ont démontré que la croissance des bactéries cariogènes est stimulée par les glucides fermentescibles. La métabolisation de ces glucides en acides organiques par les bactéries entraîne une baisse du pH, provoquant une décalcification dentaire et, par conséquent, la formation de caries [(**Hicks et al., 2004**) ; (**García-Godoy et Hicks 2008**) ; (**Loesche, 2007**) ; (**Çolak et al., 2013**) ; (**Sheiham et James, 2014**)].

Concernant les maladies parodontales, la consommation de ces sucres induit une hyperglycémie, qui déclenche une inflammation systémique et augmente le risque de développer ces pathologies. De plus, des études suggèrent qu'un apport élevé en saccharose ajouté pourrait altérer la diversité microbienne de la cavité buccale, prédisposant ainsi aux maladies parodontales [(**Kocher et al., 2018**) ; (**McKeown et al., 2018**) ; (**Millen et al., 2022**)].

### **1.5. Répartition des groupes de patients selon la consommation du tabac**

La **figure N°10** illustre la répartition des groupes de patients selon leur consommation du tabac.

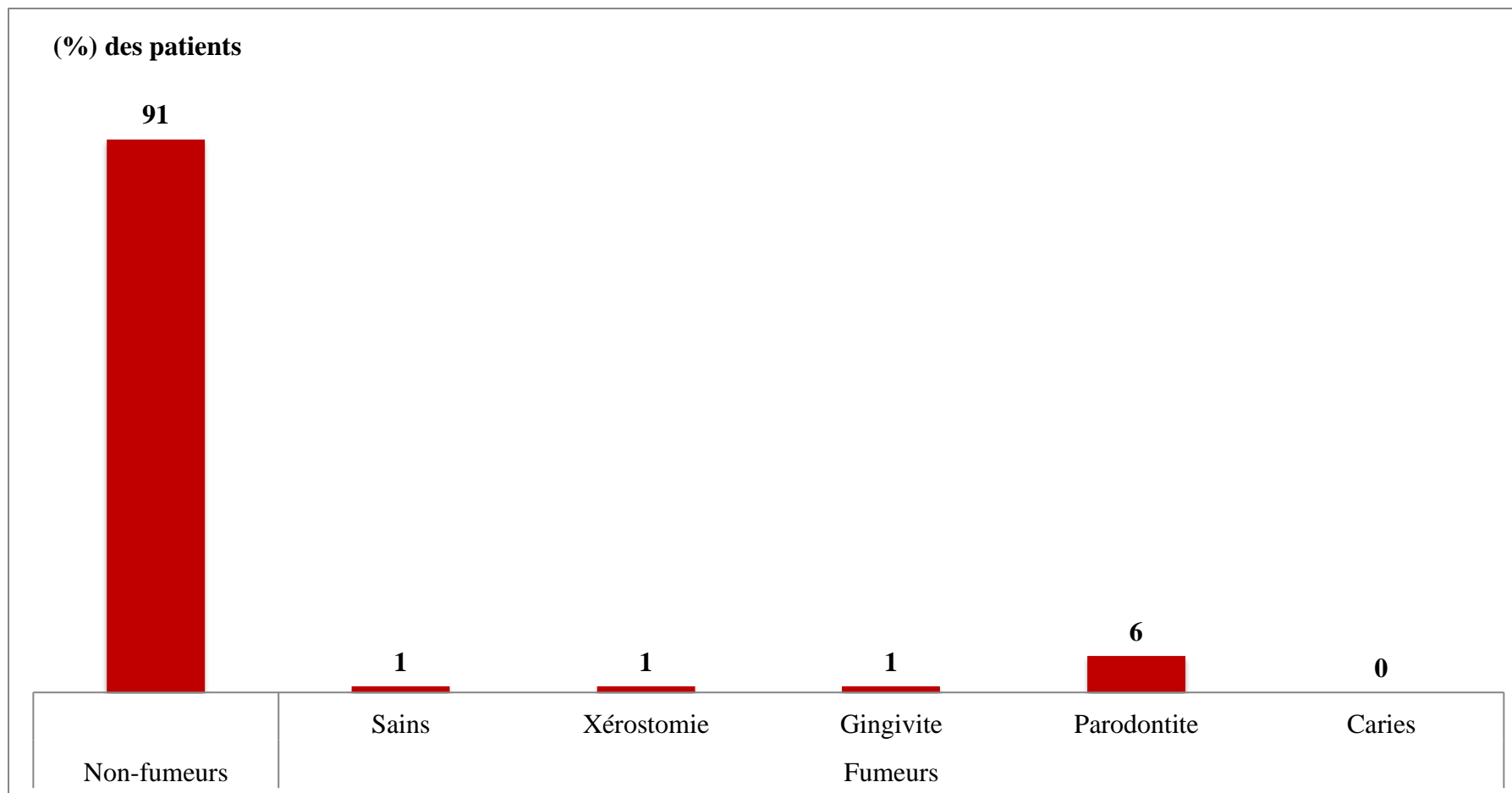


Figure N° 10. Répartition des groupes de patients selon la consommation du tabac

Les résultats de la présente étude indiquent que 9 % des patients sont consommateurs de tabac. Cette population de fumeurs est exclusivement masculine, comme le détaille la figure ci-dessus.

La prévalence du tabagisme observée dans notre cohorte s'avère inférieure aux données antérieurement publiées par **Al Mohamed et Amin (2010)** en Arabie saoudite (28 %) et par **Gallus et ses collaborateurs (2011)** en Italie (22 %).

Par ailleurs, la littérature scientifique établit que le tabagisme exacerbe les pathologies parodontales par plusieurs mécanismes : il facilite la colonisation par des microorganismes pathogènes, inhibe les défenses immunitaires de l'hôte et induit un processus inflammatoire responsable de lésions des tissus buccaux [(Preshaw et al., 2005) ; (Zhang et al., 2019)].

#### **1.6. Répartition des groupes de patients selon le port de prothèses dentaires**

La **figure N°11** représente la répartition des patients selon leur port de prothèses dentaires.

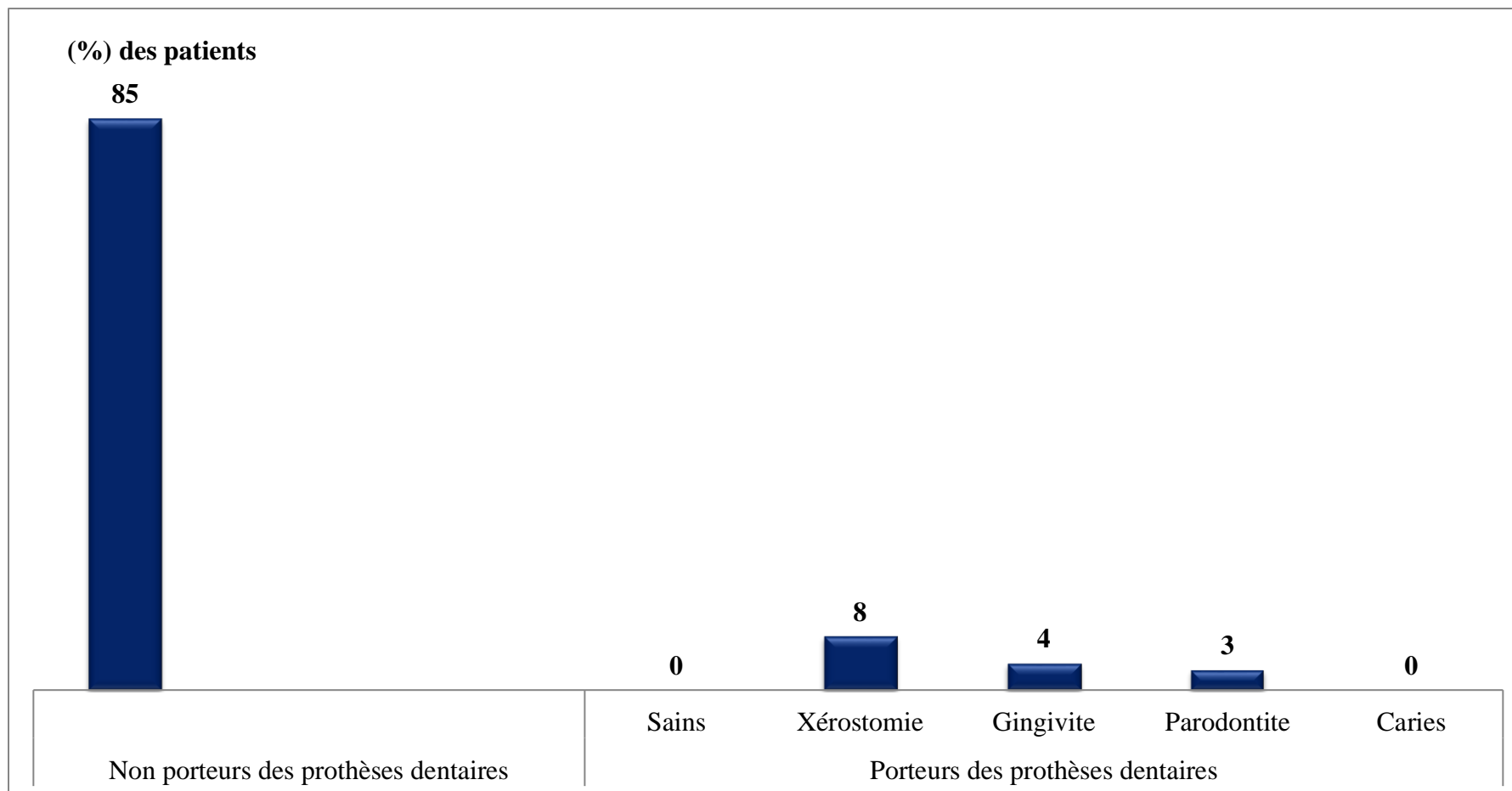


Figure N° 11. Répartition des groupes de patients selon le port de prothèses dentaires

Les résultats de la présente étude indiquent que 15 % des patients sont porteurs de prothèses dentaires, comme l'illustre la figure ci-dessus. Cette prévalence est conforme aux données observées en Europe, où le taux d'édentation appareillée s'échelonnait entre 13 et 29 % (**Zitzmann et al., 2007**). Une étude brésilienne a pourtant rapporté un taux de 2 % dans la population adulte (**Correa et al., 2010**), valeur notablement plus basse que celle enregistrée dans notre échantillon.

D'un point de vue physiopathologique, le port de prothèses dentaires modifie l'environnement buccal par plusieurs mécanismes : réduction de la salivation au niveau des tissus sous-jacents, diminution du pH et inefficacité du nettoyage mécanique par la langue (**Budtz-Jørgensen, 1990**). Par ailleurs, la rugosité de la résine acrylique favorise l'adhésion de la plaque dentaire sur les surfaces prothétiques, augmentant ainsi le risque d'accumulation microbienne (**Brill et al., 1977**).

### **1.7. Répartition des maladies systémiques chez les groupes de patients**

La **figure N° 12** illustre la répartition des pathologies systémiques au sein de la population étudiée.

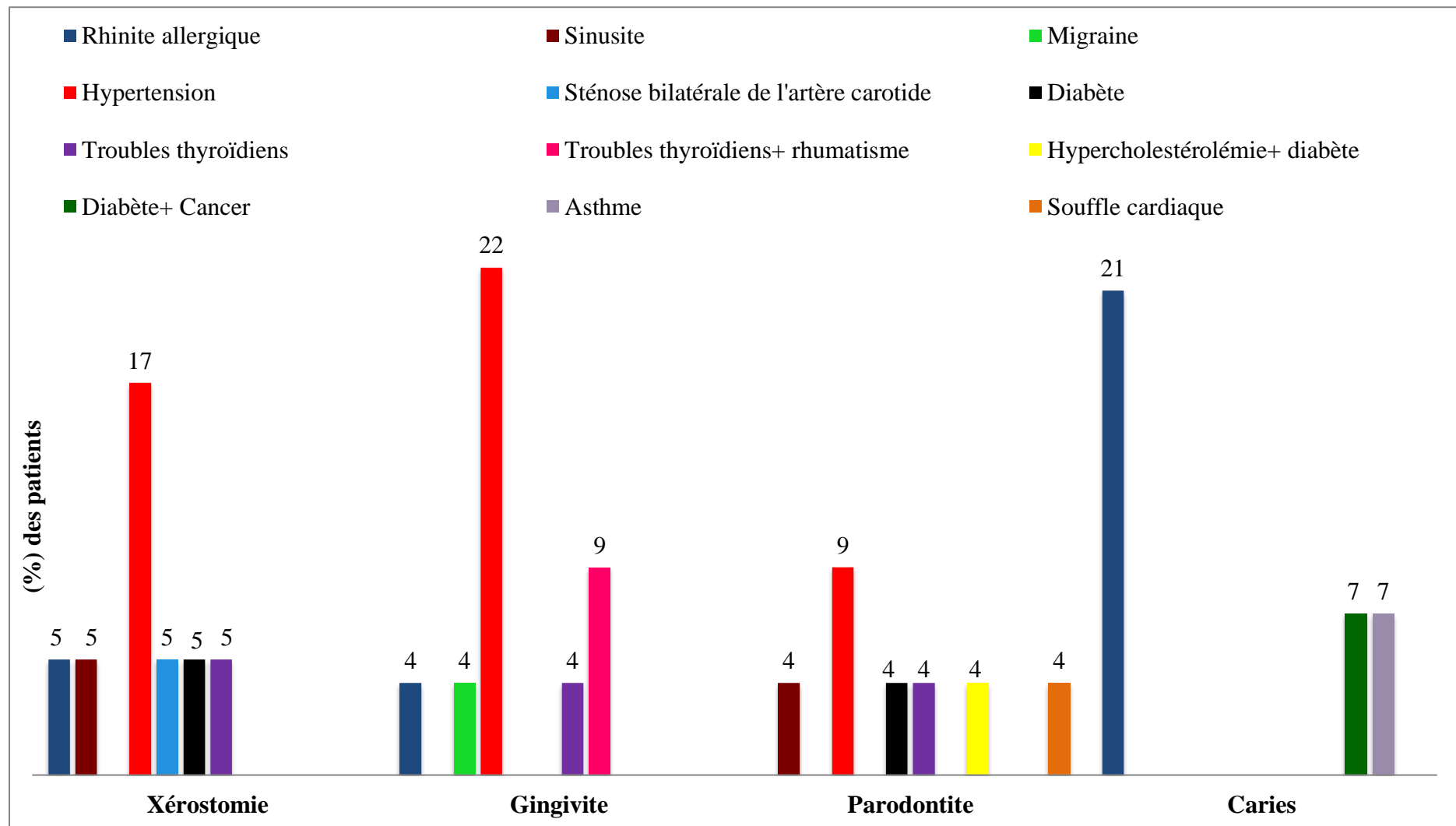


Figure N° 12. Répartition des groupes de patients selon les maladies systémiques

La **figure N°12** met en évidence une variation de la prévalence des pathologies systémiques entre les différents groupes de patients. L'analyse révèle que l'hypertension artérielle constitue la comorbidité la plus fréquente chez les patients présentant une xérostomie, une gingivite ou une parodontite, avec des prévalences comprises entre 9 % et 22 %. Ces observations sont cohérentes avec les données de **Munoz Aguilera et ses collaborateurs (2020)**, qui rapportaient que cette pathologie cardiovasculaire affectait entre 7 % et 77 % des patients atteints de parodontite.

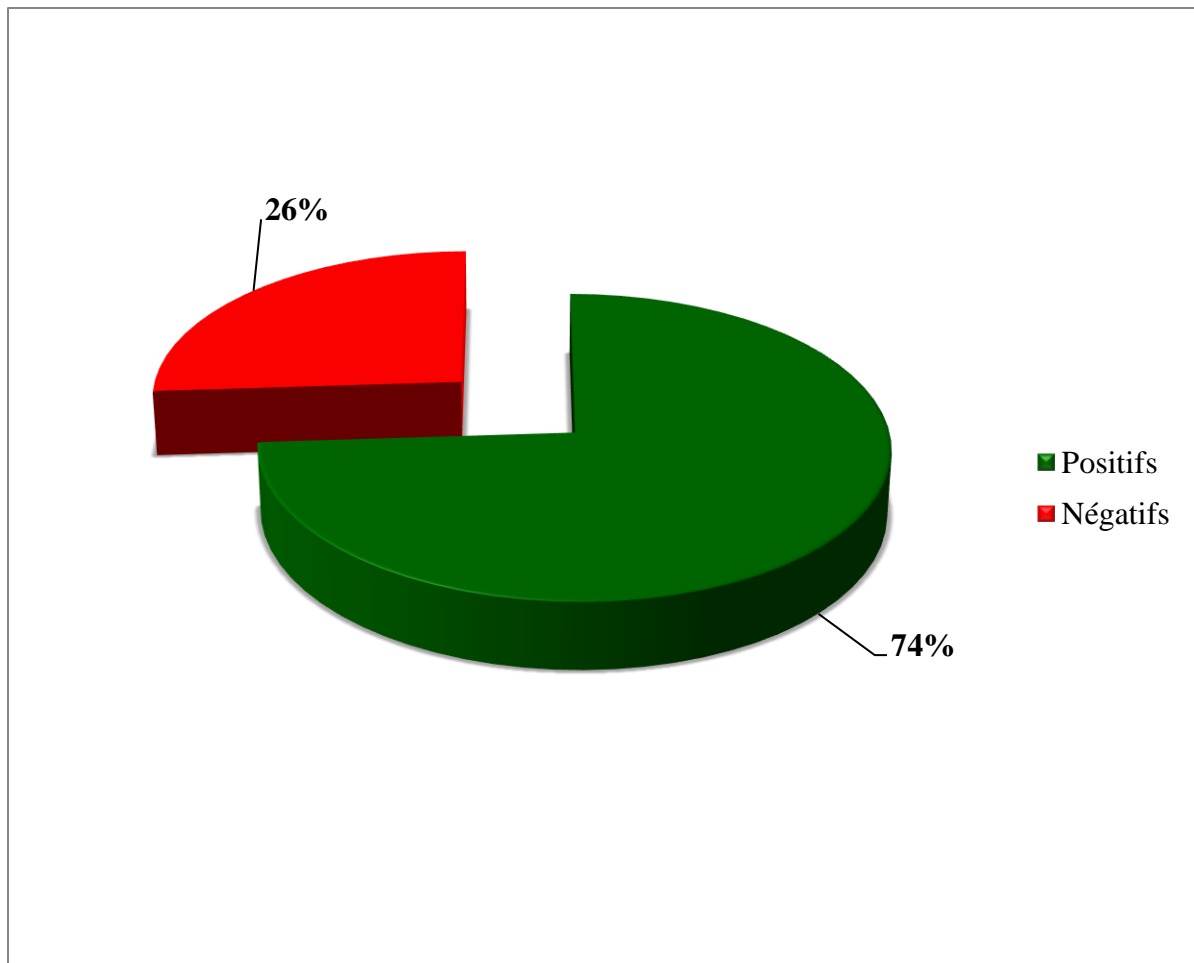
Par ailleurs, la rhinite allergique prédomine notablement chez les patients présentant une carie dentaire (21 %, **figure N° 12**). L'existence d'une association entre ces deux conditions a préalablement été établie par **Chuang et al. (2018)**.

Sur le plan physiopathologique, un déséquilibre du microbiote buccal permet la dissémination de microorganismes pathogènes vers les organes systémiques via la circulation sanguine ou le tractus gastro-intestinal, augmentant ainsi le risque de développer diverses affections systémiques (**Lee et al., 2021**).

## **2. Analyse microbiologique des prélèvements**

Cette étude a été menée entre septembre 2021 et juin 2022 auprès de 92 patients âgés de 11 à 77 ans, suivis à la clinique dentaire du Centre Hospitalier Universitaire Dr Tidjani Damerджи de Tlemcen, en Algérie. Au total, 184 prélèvements ont été réalisés sur les surfaces dorsale et ventrale de la langue. La répartition des patients selon leur état bucco-dentaire était la suivante : 17 présentaient une xérostomie, 22 une gingivite, 21 une parodontite, 14 des caries dentaires et 18 étaient considérés comme sains.

La **figure N°13** présente la prévalence des altérations microbiologiques identifiées dans les échantillons linguaux.



**Figure N° 13. Taux d'altérations microbiennes des prélèvements de la langue**

Sur l'ensemble des 184 prélèvements analysés, 136 ont développé des cultures positives, ce qui correspond à un taux de positivité global de 74 % (**Figure N°13**). Cette prévalence est notablement supérieure au taux de 38,8 % rapporté par **Youbi (2020)** pour des prélèvements buccaux. En revanche, elle s'avère légèrement inférieure au taux de 83 % observé par **Zidani (2023)** pour des échantillons de même nature.

### **3. Identification des souches isolées**

Cette étude vise à caractériser la diversité microbienne présente sur les surfaces dorsale et ventrale de la langue chez des patients algériens, incluant des patients sains et des patients atteints de pathologies bucco-dentaires. Les analyses ont révélé une flore complexe composée de diverses espèces bactériennes et fongiques.

#### **3.1. Identification des souches isolées des surfaces linguales**

La répartition des familles microbiennes identifiées sur les deux surfaces linguales est présentée dans la **figure N°14**.

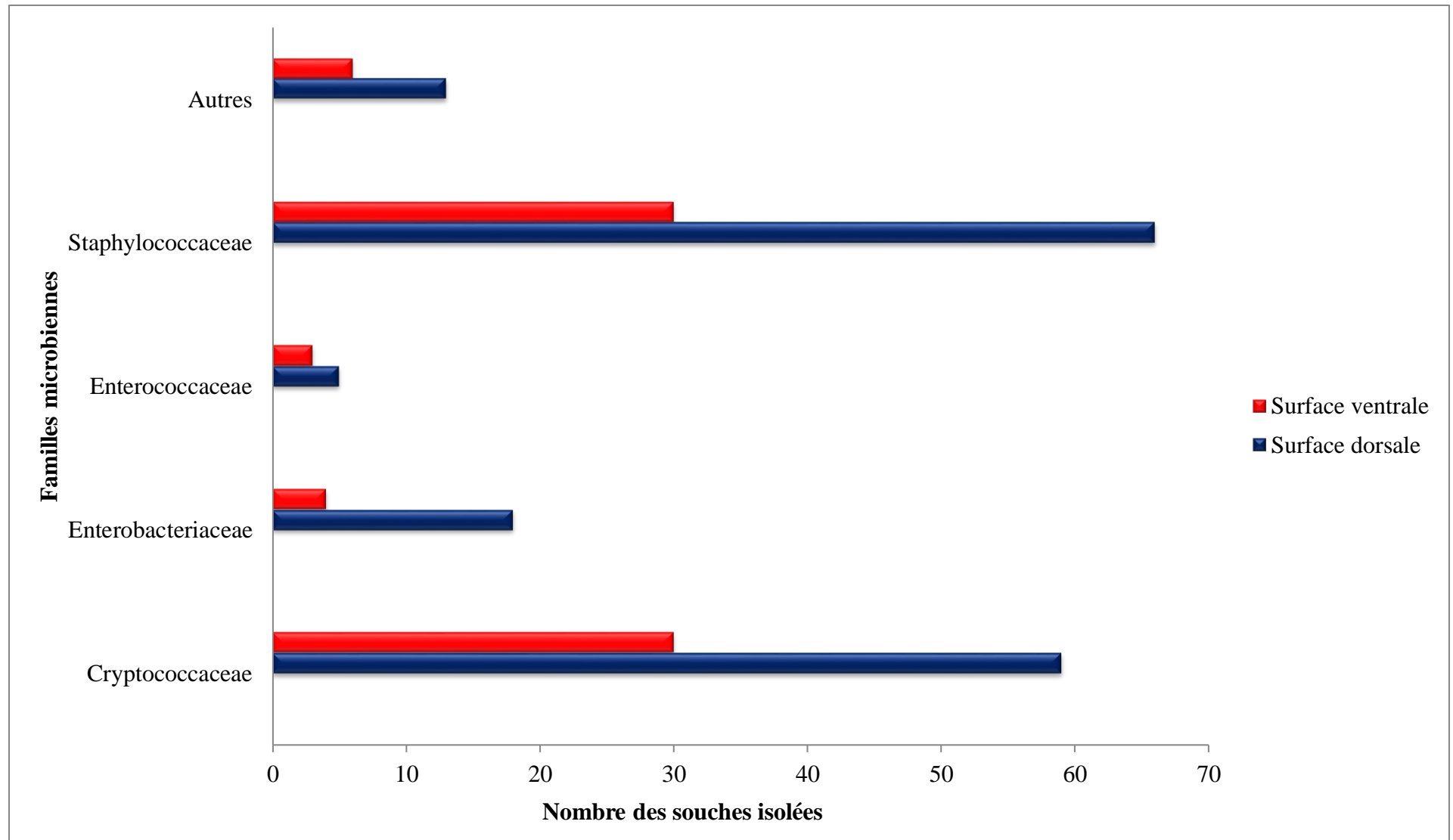


Figure N° 14. Distribution des familles microbiennes isolées des groupes de patients selon les surfaces linguales

Aucune différence significative n'a été observée dans la distribution des familles microbiennes entre les surfaces dorsale et ventrale de la langue ( $p = 0,706$  ; **figure N°14**). Ces résultats sont conformes à ceux rapportés aux États-Unis, mais divergent des données publiées au Royaume-Uni [(Mager et al., 2003) ; (Allaker et al., 2008)].

Comme le montre la **figure N°14**, les Staphylococcaceae constituaient la famille bactérienne prédominante sur les deux surfaces linguales. D'autres familles, notamment les Enterobacteriaceae, les Enterococcaceae, les Aerococcaceae, les Micrococcaceae, les Streptococcaceae, les Moraxellaceae et les Pseudomonadaceae, ont également été identifiées, mais en proportions nettement plus faibles.

Au niveau spécifique, *Staphylococcus aureus* représentait l'espèce la plus abondante sur les deux surfaces. Cette observation contraste avec les données publiées dans d'autres régions : au Japon, le microbiote lingual est dominé par des streptocoques (*Streptococcus mitis*), *Actinomyces odontolyticus*, *Veillonella* spp. et *Fusobacterium* spp. (Washio et al., 2005) ; en Suède, *Streptococcus salivarius* a été identifié comme l'espèce prédominante (Dafar et al., 2017) ; aux États-Unis, *Rothia mucilaginosa* est signalée comme principale espèce (Mukherjee et al., 2017) ; et au Brésil, *Eikenella corrodens* a été rapportée comme dominante (Faveri et al., 2006). Ces variations interpopulationnelles peuvent s'expliquer par des différences génétiques, immunitaires, d'hygiène buccale, d'habitudes alimentaires ou de conditions climatiques [(Adler et al., 2013) ; (Li et al., 2014) ; (Demmitt et al., 2017) ; (Ballini et al., 2020) ; (Galvin et al., 2023)].

Concernant les champignons, les Cryptococcaceae prédominaient sur les deux surfaces linguales. D'autres familles fongiques, telles que les Saccharomycetaceae et les Trichosporonaceae, n'ont été détectées qu'à de faibles niveaux (**Figure N°14**). Parmi les espèces, *Candida albicans* était la plus fréquemment identifiée, ce qui est cohérent avec les études antérieures menées au Brésil et en Nouvelle-Zélande [(Miranda et al., 2009) ; (Thiyahuddin et al., 2019)].

### 3.2. Identification des souches isolées chez les groupes de patients

Nos résultats révèlent qu'à partir des 136 prélèvements positifs, 234 souches sont isolées, elles sont ensuite identifiées à l'aide des plaques API 20 E, API *candida*, et VITEK® 2.

### 3.2.1. Identification des souches isolées chez les patients atteints de xérostomie

Les résultats relatifs à l'identification des souches isolées des surfaces linguales chez les patients de xérostomie sont regroupés dans le **tableau N°3**.

**Tableau N°3. Souches microbiennes isolées chez les patients de xérostomie**

Microorganismes isolés	Pourcentage d'isolement (%)
<i>A. baumannii complex</i>	2
<i>E. cloacae</i>	2
<i>K. kristinae</i>	2
<i>K. oxytoca</i>	2
<i>M. luteus</i>	2
<i>S. aureus</i>	13
<i>S. capitis</i>	2
<i>S. epidermidis</i>	7
<i>S. hominis ssp hominis</i>	9
<i>S. lentus</i>	2
<i>S. sciuri</i>	2
<i>C. albicans</i>	39
<i>C. famata</i>	5
<i>C. glabrata</i>	2
<i>C. kefyr</i>	5
<i>C. lusitaniae</i>	2
<i>C. tropicalis</i>	2
<b>Total</b>	100

A : *Acinetobacter*, E : *Enterobacter*, *K. kristinae* : *Kocuria kristinae*, *K. oxytoca*: *Klebsiella oxytoca*, M: *Micrococcus*, S: *Staphylococcus*, C: *Candida*

D'après les résultats présentés dans le **tableau N°3**, *Staphylococcus aureus* constituait la souche bactérienne la plus fréquemment isolée sur les deux surfaces linguales chez les patients atteints de xérostomie (13%), suivie de *Staphylococcus hominis* (9%), *Staphylococcus epidermidis* (7 %) et d'autres espèces. La prévalence de *Staphylococcus aureus* dans notre cohorte était comparable entre les patients xérostomiques et les sujets sains (13 % contre 24 %, respectivement ;  $p = 0,623$ ). En revanche, des études menées aux États-Unis et en Suède ont rapporté une abondance accrue de ce genre bactérien chez les individus souffrant de xérostomie [(Brown et al., 1975) ; (Almstahl et Wikstrom, 1999)].

Concernant l'isolement des souches fongiques, *Candida albicans* (39 %) représentait l'espèce la plus prédominante sur les surfaces linguales des patients xérostomiques, suivie de *Candida kefyr* (5 %), *Candida famata* (5 %) et d'autres espèces (**Tableau N°3**). La prévalence de *C. albicans* était significativement plus élevée chez les patients xérostomiques que chez les patients sains (39 % contre 21 %, respectivement ;  $p = 0,013$ ), ce qui est cohérent avec les observations rapportées au Brésil, au Japon et en Inde [(Torres et al., 2002) ; (Shinozaki et al., 2012) ; (Nadig et al., 2017)].

Sur le plan physiopathologique, la salive contient de nombreux médiateurs de l'immunité innée et adaptative, essentiels aux défenses locales de l'hôte. Elle renferme également des facteurs antifongiques, tels que la lactoperoxydase, la lactoferrine, le lysozyme et les polypeptides riches en histidine, qui contribuent à réguler la prolifération des *Candida* au sein de la cavité buccale [(Darwazeh et Darwazeh, 2014) ; (Supriya et al., 2016)]. Ainsi, l'hyposalivation favorise la prolifération des *Candida* spp., en particulier de *C. albicans* (Ligtenberg et Almståh, 2015).

### 3.2.2. Identification des souches isolées chez les patients atteints de gingivite

Les résultats relatifs à l'identification des souches isolées des surfaces linguales chez les patients de gingivite sont regroupés dans le **tableau N°4**.

**Tableau N° 4. Souches microbiennes isolées chez les patients de gingivite**

Microorganismes isolés	Pourcentage d'isolement (%)
<i>A. lwoffii</i>	2
<i>A. viridans</i>	2
<i>C. freundii</i>	2
<i>E. cloacae</i>	2
<i>E. faecium</i>	3
<i>K. oxytoca</i>	2
<i>M. luteus</i>	2
<i>S. aureus</i>	13
<i>S. capitis</i>	2
<i>S. epidermidis</i>	8
<i>S. haemolyticus</i>	8
<i>S. hominis ssp hominis</i>	3
<i>S. lentus</i>	2
<i>S. warneri</i>	6
<i>C. albicans</i>	36
<i>C. famata</i>	5
<i>C. parapsilosis</i>	2
<b>Total</b>	100

*A. lwoffii* : *Acinetobacter lwoffii*, *A. viridans* : *Aerococcus viridans*, *C. freundii* : *Citrobacter freundii*, *E. cloacae* : *Enterobacter cloacae*, *E. faecium* : *Enterococcus faecium*, *K* : *Klebsiella*, *M* : *Micrococcus*, *S* : *Staphylococcus*, *C* : *Candida*

Selon les résultats présentés dans le **tableau N°4**, *Staphylococcus aureus* constituait la souche bactérienne la plus fréquemment isolée chez les patients atteints de gingivite (13 %), suivie de *Staphylococcus epidermidis* (8 %), *Staphylococcus haemolyticus* (8 %) et d'autres espèces. L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative dans la prévalence de *S. aureus* entre les patients présentant une gingivite et les patients sains (13 % contre 24 %, respectivement ;  $p = 0,505$ ). Ces données sont conformes aux observations rapportées en Irak et en Grèce [(**Koukos et al., 2015**) ; (**Abbas et al., 2017**)], mais divergent des résultats d'une étude brésilienne indiquant une diminution de cette espèce dans le contexte de la gingivite (**Colombo et al., 2016**).

Concernant les isolats fongiques, *Candida albicans* était l'espèce la plus prédominante chez ces patients (36 %), suivie de *Candida famata* (5 %) et *Candida parapsilosis* (2 %) (**Tableau N°4**). La prévalence de *C. albicans* s'est avérée significativement plus élevée chez les patients atteints de gingivite que chez les patients sains (36 % contre 21 %, respectivement ;  $p = 0,021$ ), ce qui concorde avec les données publiées en Égypte et en Chine [(**Nasr et al., 2023**) ; (**Yang et al., 2024**)].

### 3.2.3. Identification des souches isolées chez les patients atteints de parodontite

Les résultats relatifs à l'identification des souches isolées des surfaces linguales chez les patients de parodontite sont regroupés dans le **tableau N°5**.

Tableau N° 5. Souches microbiennes isolées chez les patients de parodontite

Microorganismes isolés	Pourcentage d'isolement (%)
<i>A. junii</i>	2
<i>A. lwoffii</i>	3
<i>C. koseri</i>	2
<i>E. cloacae complex</i>	2
<i>E. faecium</i>	2
<i>K. pneumoniae ssp pneumoniae</i>	2
<i>P. aeruginosa</i>	2
<i>P. rettgeri</i>	2
<i>R. ornithinolytica</i>	2
<i>S. aureus</i>	16
<i>S. capitis</i>	2
<i>S. enterica ssp. Diarizonae</i>	2
<i>S. epidermidis</i>	12
<i>S. ficaria</i>	2
<i>S. haemolyticus</i>	2
<i>S. hominis ssp hominis</i>	2
<i>S. lentus</i>	2
<i>S. pasteurii</i>	2
<i>S. sciuri</i>	2
<i>S. warneri</i>	4
<i>C. albicans</i>	18
<i>C. famata</i>	6
<i>C. glabrata</i>	2
<i>C. kefyr</i>	4
<i>C. lusitaniae</i>	2
<i>S. cerevisiae</i>	2
<i>T. asahii</i>	2
<b>Total</b>	100

A : *Acinetobacter*, *C. koseri* : *Citrobacter koseri*, *E. cloacae complex* : *Enterobacter cloacae complex*, *E. faecium* : *Enterococcus faecium*, K : *Klebsiella*, *P. aeruginosa* : *Pseudomonas aeruginosa*, *P. rettgeri* : *Providencia rettgeri*, R: *Raoultella*, *S. ficaria*: *Serratia ficaria*, *S.*

*enterica* ssp. *Diarizonae*: *Salmonella enterica* ssp. *Diarizonae*, *S. thoralensis*, *S* : *Staphylococcus*, *C* : *Candida*, *S. cerevisiae*: *Saccharomyces cerevisiae*, *T*: *Trichosporon*

Selon les données présentées dans le **tableau N°5**, *Staphylococcus aureus* constituait la souche bactérienne la plus fréquemment isolée sur les surfaces linguales des patients atteints de parodontite (16 %), suivie de *Staphylococcus epidermidis* (12 %) et d'autres espèces. La prévalence de *S. aureus* ne présentait pas de différence significative entre les patients atteints de parodontite et les patients sains ( $p = 0,643$ ), ce qui est cohérent avec les observations rapportées en Grèce (**Koukos et al., 2015**). En revanche, une étude brésilienne a noté une prévalence réduite de cette espèce chez les patients souffrant de parodontite par rapport aux témoins sains (**Colombo et al., 2016**).

Des travaux antérieurs réalisés au Brésil et au Royaume-Uni ont par ailleurs identifié *S. epidermidis* comme l'espèce prédominante dans la parodontite [(**Murdoch et al., 2004**) ; (**Santos et al., 2014**)]. Notre étude a révélé que les staphylocoques à coagulase négative (SCN) étaient significativement plus fréquents chez les patients souffrant de parodontite que chez les patients sains (28 % contre 13 %, respectivement ;  $p = 0,013$ ), résultat conforme à ceux d'**Ansiliero et al. (2021)**. Une distribution similaire des SCN entre patients atteints de parodontite et témoins a cependant été rapportée en Irlande (**O'Connor et al., 2018**).

Concernant les isolats fongiques, *Candida albicans* représentait l'espèce la plus dominante chez les patients atteints de parodontite (18 %), suivie de *Candida famata* (6 %), *Candida kefyr* (4 %) et d'autres espèces (**Tableau N°5**). Aucune différence significative n'a été observée dans la prévalence de *C. albicans* entre les patients souffrant de parodontite et les patients sains (18 % contre 21 % ;  $p = 0,742$ ), ce qui concorde avec les données publiées au Chili et aux États-Unis [(**Urzúa et al., 2008**) ; (**Peters et al., 2017**)].

#### 3.2.4. Identification des souches isolées chez les patients atteints de carie dentaire

Le **tableau N° 6** présente la distribution des souches microbiennes isolées à partir des surfaces linguales chez les patients présentant des caries dentaires.

Tableau N° 6. Souches microbiennes isolées chez les patients de carie dentaire

Microorganismes isolés	Pourcentage d'isolement (%)
<i>A. lwoffii</i>	3
<i>E. faecalis</i>	3
<i>K. oxytoca</i>	3
<i>P. aeruginosa</i>	3
<i>S. aureus</i>	18
<i>S. epidermidis</i>	9
<i>S. haemolyticus</i>	3
<i>S. lugdunensis</i>	3
<i>S. pneumoniae</i>	6
<i>S. sciuri</i>	3
<i>S. vitulinus</i>	3
<i>S. warneri</i>	6
<i>C. albicans</i>	25
<i>C. krusei</i>	3
<i>C. tropicalis</i>	6
<i>S. cerevisiae</i>	3
<b>Total</b>	100

A : *Acinetobacter*, E : *Enterococcus*, K : *Klebsiella*, P : *Pseudomonas*, S : *Staphylococcus*, C : *Candida*, *S. pneumoniae*: *Streptococcus pneumoniae*, *S. cerevisiae* : *Saccharomyces cerevisiae*

L'analyse microbiologique des prélèvements linguaux chez les patients présentant des caries dentaires a révélé la présence de *Staphylococcus aureus* (18 %), suivi de *Staphylococcus epidermidis* (9 %), *Staphylococcus warneri* (6 %) et d'autres espèces. La prévalence de *S. aureus* était comparable entre les patients cariés et les patients sains (18 % contre 24 %, respectivement ;  $p = 0,336$ ), ce qui est cohérent avec les données rapportées en Inde (**Bansal et al., 2020**). Une étude menée au Nigeria a toutefois observé un taux d'isolement plus élevé de cette espèce, atteignant 53 % chez les patients cariés (**Daniyan et Abalaka, 2011**).

Concernant les levures, *Candida albicans* était l'espèce fongique la plus prévalente (25 %), suivie de *Candida tropicalis* (6 %) et d'autres espèces (**Tableau N°6**). Aucune différence significative n'a été observée dans la prévalence de *C. albicans* entre les patients cariés et les patients sains (25 % contre 21 %, respectivement ;  $p = 0,778$ ), résultat conforme aux études menées au Canada et en Allemagne [(**Al-Ahmad et al., 2015**) ; (**De Jesus et al., 2020**)]. En revanche, des travaux réalisés en Turquie et en Chine ont rapporté des distributions différentes des *Candida* spp. entre ces deux populations [(**Akdeniz et al., 2002**) ; (**Man et al., 2024**)]. D'un point de vue physiopathologique, *C. albicans* agit en synergie avec les bactéries cariogènes en créant un microenvironnement acide qui favorise la déminéralisation de l'émail dentaire (**Pereira et al., 2018**).

### 3.2.5. Identification des souches isolées chez les patients sains

Les résultats relatifs à l'identification des souches isolées des surfaces linguales chez les patients sains sont regroupés dans le **tableau N°7**.

Tableau N° 7. Souches microbiennes isolées chez les patients sains

Microorganismes isolés	Pourcentage d'isolement (%)
<i>A. baumannii complex</i>	3
<i>A. junii</i>	3
<i>C. koseri</i>	3
<i>E. faecalis</i>	8
<i>K. pneumoniae ssp pneumoniae</i>	3
<i>R. terrigena</i>	3
<i>S. aureus</i>	24
<i>S. epidermidis</i>	5
<i>S. hominis ssp hominis</i>	8
<i>S. marcescens</i>	5
<i>S. thoralensis</i>	3
<i>C. albicans</i>	21
<i>C. dubliniensis</i>	3
<i>C. kefyr</i>	3
<i>C. krusei</i>	3
<i>T. asahii</i>	3
<b>Total</b>	100

A : *Acinetobacter*, C. *koseri* : *Citrobacter koseri*, E : *Enterococcus*, K : *Klebsiella*, R : *Raoultella*, S : *Staphylococcus*, S. *thoralensis* : *Streptococcus thoralensis*, C : *Candida*, T : *Trichosporon*

Chez les patients sains, *Staphylococcus aureus* constituait la souche bactérienne la plus fréquemment isolée sur les surfaces linguales (24 %), suivie d'*Enterococcus faecalis* (8 %), de *Staphylococcus hominis* (8 %) et d'autres espèces. Concernant les champignons, *Candida albicans* représentait l'espèce fongique majoritaire (21 %), suivie d'autres espèces de *Candida non albicans* et de *Trichosporon asahii* (**Tableau N°7**).

L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative dans la prévalence des Enterobacteriaceae entre les patients sains (11 %) et les patients atteints de pathologies bucco-dentaires (3–19 %) ( $p > 0,05$ ), ce qui est cohérent avec les observations rapportées en Colombie (**Martínez-Pabón et al., 2010**).

Par ailleurs, la prévalence d'*Acinetobacter* spp. était faible (2–3 %) dans l'ensemble des groupes de patients. Les espèces de *Pseudomonas* n'ont été détectées que chez les patients atteints de parodontite ou de caries, avec une prévalence de 2 % dans chaque groupe, résultat conforme aux données publiées au Japon [(**Abe et al., 2001**) ; (**Gamboa et al., 2013**) ; (**Ranganathan et al., 2017**)]. Ces deux genres bactériens produisent des exopolysaccharides qui leur confèrent une protection contre les défenses de l'hôte (**Joly-Guillou, 2005**).

Enfin, la prévalence globale de *T. asahii* et *Saccharomyces cerevisiae* dans la cohorte étudiée était de 10 %. Cette valeur est supérieure à celle observée en Iran (1,23 %) pour ces mêmes espèces (**Ghojoghi et al., 2024**). Une étude taïwanaise a rapporté des prévalences respectives de 5,6 % pour *T. asahii* et 19,4 % pour *S. cerevisiae* (**Lu et al., 2021**). Il est établi que *Trichosporon* spp. représente un pathogène opportuniste responsable d'infections superficielles à invasives (**de Almeida Júnior et Hennequin, 2016**).

#### 4. Sélection des souches microbiennes

Pour la suite de ce travail, l'étude s'est concentrée sur les associations microbiennes isolées de la langue de patients présentant une comorbidité d'hypertension artérielle et de pathologies bucco-dentaires.

#### 5. Tests de sensibilité des bactéries en phase planctonique aux antibiotiques

La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des antibiotiques a été réalisée à l'aide du système VITEK<sup>®</sup> 2, pour les isolats bactériens à Gram positif et à Gram négatif.

Les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques réalisés sur les souches de *Staphylococcus* spp. sont présentés dans le **tableau N°8**.

Tableau N° 8. Concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques vis-à-vis des souches de *Staphylococcus* spp.

Souches	CMI <sub>s</sub> (µg/mL)																
	CS	OX	GN	KN	LV	RC	CL	QD	LI	DA	TE	VA	TR	NI	AF	RI	TS
Sa1	-	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 4	≤ 0,12	-	0,25	≤ 0,25	2	2*	4	2	≤ 1	≤ 16	≤ 0,5	≤ 0,03	≤ 10
Sh2	-	0,5*	≤ 0,5	≤ 4	0,25	-	0,25	≤ 0,25	2	2*	4	2	≤ 1	≤ 16	≤ 0,5	≤ 0,03	≤ 10
Sa3	-	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 4	1	-	0,25	≤ 0,25	2	0,5	4	2	≥ 16*	≤ 16	≤ 0,5	≤ 0,03	≤ 10
Se5	-	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 4	0,25	-	0,25	0,5	2	0,5	1	1	≥ 16*	≤ 16	≤ 0,5	≤ 0,03	≤ 10
Sa6	-	0,5*	≤ 0,5	≤ 4	0,25	-	0,25	≤ 0,25	2	1	4	2	≤ 1	≤ 16	≤ 0,5	≤ 0,03	≤ 10
Sl7	-	≥ 4*	≤ 0,5	8	≤ 0,12	-	0,5	≤ 0,25	2	≤ 0,12	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	32	≥ 32*	≤ 0,03	≤ 10
Sl8	-	≤ 0,25	≤ 0,5	≤ 4	≤ 0,12	-	0,5	1	2	2*	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 1	≤ 16	8*	≤ 0,03	≤ 10
Se9	-	0,5*	≤ 0,5	≤ 4	≤ 0,12	-	0,25	≤ 0,25	2	1	4	2	≤ 1	≤ 16	≤ 0,5	≤ 0,03	≤ 10

CS : Test céfoxitine screen, OX: Oxacilline, GN: Gentamicine, KN: Kanamycine, LV: Lévofoxacine, RC: Résistance inductible à la clindamycine, CL : Clindamycine, QD : Quinupristine/dalfopristine, LI : Linézolide, DA : Daptomycine, TE : Tétracycline, VA : Vancomycine, TR : Tétracycline, NI : Nitrofurantoïne, AF: Acide fusidique, RI: Rifampicine, TS : Triméthoprime/sulfaméthoxazole, \* : Résistante, - : Négatif, Sa : *S. aureus*, Sh : *S. haemolyticus*, Se : *S. epidermidis*, Sl : *S. lentus*

Le **tableau N° 8** indique que l'ensemble des souches de *Staphylococcus* spp. se sont révélées sensibles aux antibiotiques suivants : gentamicine, kanamycine, lévofloxacine, clindamycine, quinupristine/dalfopristine, linézolide, téicoplanine, vancomycine, nitrofurantoïne, rifampicine et triméthoprim/sulfaméthoxazole. Une étude algérienne récente (**Benahmed, 2024**) a rapporté des taux de sensibilité variables, compris entre 55 % et 89 % pour ces mêmes molécules. Nos données sont cohérentes avec les observations de **Sannathimmappa et al. (2021)** à Oman, qui ont également constaté une efficacité du triméthoprim/sulfaméthoxazole contre la totalité des souches de *S. aureus* testées. Par ailleurs, **Al-Khawlany et al. (2021)** ont décrit au Yémen une sensibilité à la vancomycine, à la clindamycine et à la gentamicine variant de 69 % à 100 % parmi leurs isolats de cette espèce.

Dans notre cohorte, des sensibilités plus modérées ont été observées pour d'autres molécules : 50 % (4/8) des souches étaient sensibles à l'oxacilline, 63 % (5/8) à la daptomycine, 75 % (6/8) à la tétracycline et 75 % (6/8) à l'acide fusidique (**Tableau N°8**). En Corée, **Kim et Lee (2015)** ont rapporté un taux de sensibilité à l'oxacilline de 98 %, supérieur à celui que nous avons mesuré. De même, la sensibilité des isolats de *S. aureus* à la tétracycline était de 66 % au Yémen (**Al-Khawlany et al., 2021**).

La résistance aux antibiotiques chez les bactéries buccales est influencée par le site d'isolement. Les bactéries de la muqueuse buccale présentent ainsi une résistance plus marquée que celles isolées au niveau de la langue ou des sillons gingivaux (**Khan et al., 2024**).

Enfin, les profils de sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes à Gram négatif sont présentés dans le **tableau N°9**.

Tableau N° 9. Concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques vis-à-vis des souches de bactéries à Gram négatif

Souches	CMI <sub>s</sub> (µg/mL)																				
	AM	AA	PT	CN	CX	CZ	CP	ER	IM	ME	AK	GN	TO	CI	NI	TS	TC	TA	PI	MN	CS
Aj3	/	/	≥ 128*	/	/	≤ 1	≤ 1	/	4	0,5	4	≥ 16*	≤ 1	2	/	≥ 320*	≥ 128*	16	64	≥ 16*	≥ 16*
Cf4	≥ 32*	≤ 2	≤ 4	≤ 4	≤ 0,25	≤ 0,12	≤ 0,12	≤ 0,12	≤ 0,25	≤ 0,25	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,06	≤ 16	≤ 20	/	/	/	/	/
Cf 5	≥ 32*	4*	≤ 4	≥ 64*	≤ 0,25	≤ 0,12	≤ 0,12	≤ 0,12	2	≤ 0,25	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 0,06	≤ 16	≤ 20	/	/	/	/	/
Kp7	≥ 32*	8	64	16	≤ 0,25	0,25	≤ 0,12	≤ 0,12	≤ 0,12	≤ 0,12	2	≤ 1	≤ 1	≤ 0,06	64	≤ 20	/	/	/	/	/
Pr7	≥ 32*	4	≤ 4	≥ 64*	≤ 0,25	0,5	≤ 0,12	≤ 0,12	4*	0,5	4	8	≤ 1	≤ 4*	128*	≤ 20	/	/	/	/	/

/ : Non testé, AM : Ampicilline, AA : Amoxicilline/ acide clavulanique, PT : Pipéracilline/tazobactam, CN : Céfazoline, CX : Céfotaxime, CZ : Ceftazidime, CP : Céfépime, ER : Ertapénème, IM : Imipénème, ME : Méropénème, AK : Amikacine, GN : Gentamicine, TO : Tobramycine, CI : Ciprofloxacine, NI : Nitrofurantoïne, TS : Triméthoprim/sulfaméthoxazole, TC : Ticarcilline, TA : Ticarcilline/acide clavulanique, PI : Pipéracilline, MN : Minocycline, CS : Colistine, \* : Résistante, Aj : *A. junii*, Cf : *C. freundii*, Kp : *K. pneumoniae*, Pr : *P. rettgeri*

Le **tableau N°9** révèle que 60 % (3/5) des souches bactériennes à Gram négatif présentaient une résistance à au moins trois antibiotiques, tandis que les souches restantes se sont avérées sensibles à la majorité des molécules testées. Des profils de sensibilité intermédiaire ont été observés pour *Acinetobacter junii* vis-à-vis du ciprofloxacine et de la pipéracilline, pour *Klebsiella pneumoniae* concernant l'association pipéracilline/tazobactam, la céfazoline et la nitrofurantoïne, ainsi que pour *Citrobacter freundii* (Cf 5) et *Proteus rettgeri* en réponse à l'imipénème et à la gentamicine, respectivement.

Les entérobactéries ont montré une sensibilité élevée aux aminosides et aux carbapénèmes, avec des taux variant de 75 % à 100 % (**Tableau N°9**). Ces résultats sont cohérents avec les études menées en Corée (**Yoon et al., 2019**) et à Oman (**Sannathimmappa et al., 2021**), qui ont également rapporté une efficacité remarquable de ces antibiotiques, avec des taux de sensibilité compris entre 72 % et 100 %.

Des travaux antérieurs réalisés à Taïwan et en Argentine confirment nos observations concernant la souche *A. junii* (Aj3), indiquant une sensibilité au céfépime, à l'imipénèm, au méropénèm, à l'amikacine, à la tobramycine et à la ceftazidime [(**Tsai et al., 2012**) ; (**Traglia et al., 2014**)]. **Higgins et al. (2004)** ont pour leur part observé un taux de sensibilité de 62 % à la ticarcilline seule pour les souches d'*Acinetobacter* spp., n'augmentant que de 0,7 % en présence d'acide clavulanique. En revanche, nos résultats indiquent que seule l'association ticarcilline/acide clavulanique s'est avérée efficace contre *A. junii*. Contrairement à nos données, plusieurs études menées en Arabie saoudite, en Inde et en Argentine ont montré une sensibilité des *Acinetobacter* spp. à la colistine, au triméthoprime/sulfaméthoxazole, à la gentamicine, à la minocycline et à la pipéracilline/tazobactam [(**Abdalla et al., 2013**) ; (**Traglia et al., 2014**) ; (**Rani et al., 2015**)].

## 6. Tests de sensibilité des levures en phase planctonique à l'amphotéricine B

Les résultats des tests de sensibilité à l'amphotéricine B réalisés sur les souches de *Candida* spp. sont présentés dans le **tableau N°10**.

**Tableau N° 10. Concentrations minimales inhibitrices de l'amphotéricine B vis-à-vis des souches de *Candida* spp.**

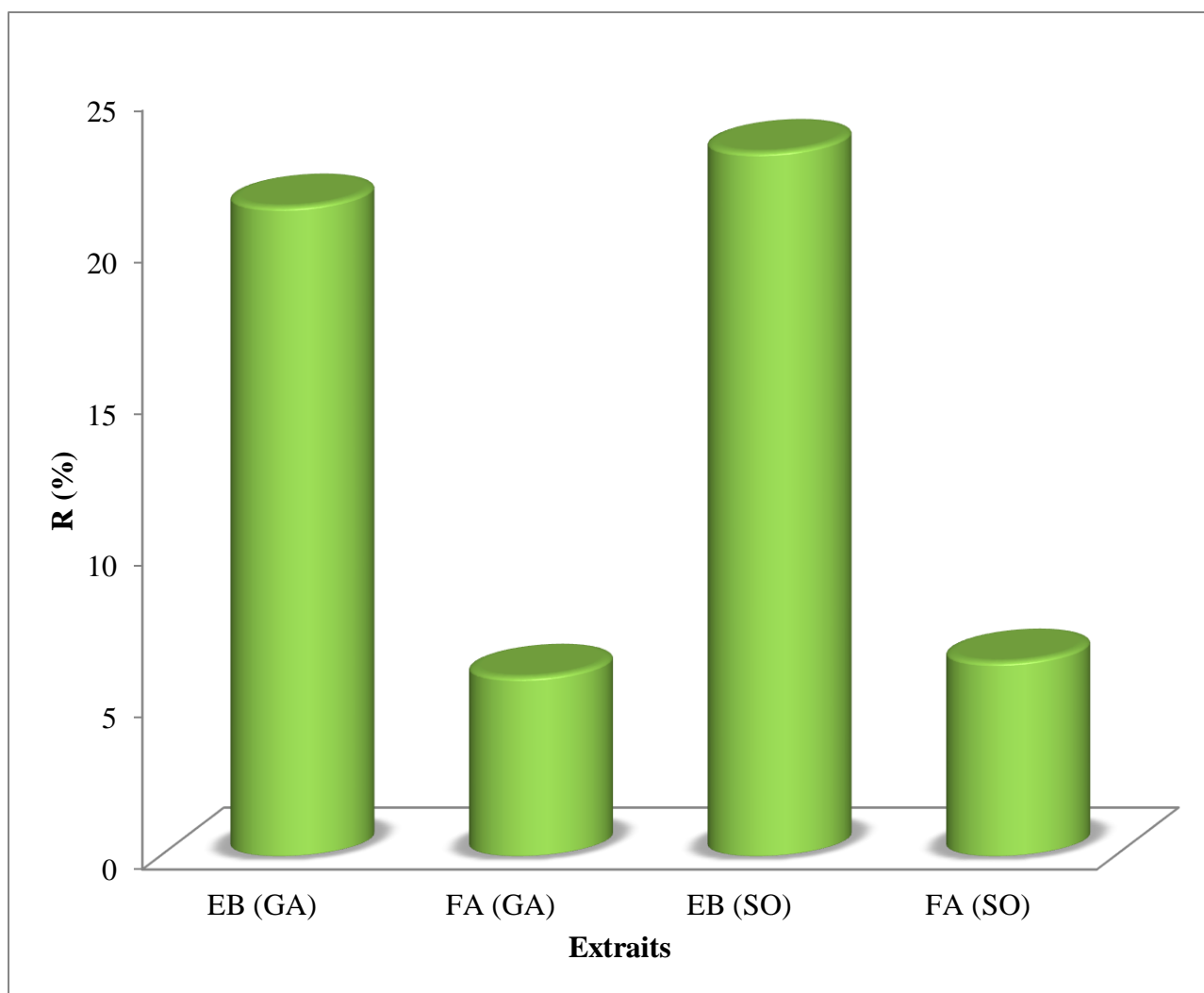
Souches	CMI <sub>s</sub> d'amphotéricine B (µg/mL)	
	24h	48h
Ca ATCC 10231	0,5	0,5
Ca1	0,25	0,5
Ca2	0,25	0,25
Ca4	0,25	0,25
Ck5	0,5	0,5
Ca6	0,06	0,25
Ca8	1	1
Ca9	0,03	0,25

Ca: *C. albicans*, Ck: *C. kefyr*

Le **tableau N°10** indique que l'amphotéricine B inhibe la croissance des *Candida* spp. à des concentrations minimales inhibitrices (CMI<sub>s</sub>) comprises entre 0,03 et 1 µg/mL après 24 heures d'incubation, et entre 0,25 et 1 µg/mL après 48 heures d'incubation à 35°C. Selon les critères du **CLSI (2008)**, toutes les souches testées sont considérées comme sensibles à cet antifongique. Ces résultats concordent avec ceux rapportés en Algérie par **Gourari-Bouzouina (2024)** sur des souches de *Candida* isolées d'expectorations pulmonaires de patients atteints de mucoviscidose, ainsi qu'avec les données de **Radunovic et al. (2022)** en Serbie concernant des isolats linguaux de patients parodontaux. En revanche, une étude brésilienne (**Monteiro et al., 2019**) a observé une résistance à l'amphotéricine B chez des isolats buccaux de patients diagnostiqués avec une leucémie lymphoïde aiguë.

## 7. Rendement d'extraction des extraits végétaux

La présente étude a porté sur deux produits d'origine végétale, *Salvia officinalis* L. et la gomme arabique (GA). Des extraits bruts hydro-méthanoliques et des fractions à l'acétate d'éthyle ont été préparés à partir de ces matières premières. Le rendement d'extraction obtenu pour chaque préparation est présenté dans la **figure N°15**.



**Figure N° 15. Rendements d'extraction des extraits bruts et de leurs fractions acétate d'éthyle**

EB : Extrait brut, FA : Fraction acétate d'éthyle, SO : *Salvia officinalis*, GA : Gomme arabique

La **figure N°15** montre que le rendement d'extraction le plus élevé a été obtenu avec l'extrait brut de *Salvia officinalis* (23,2 %). Cette valeur est supérieure à celle rapportée par **Mokhtari et al. (2023)** pour un extrait hydro-méthanolique de la même espèce végétale récoltée en Iran (19,8 %). Le rendement de l'extrait brut de gomme arabique s'élevait à 21,4 %, soit une valeur inférieure à celle observée par **Al Alawi et al. (2018)** pour un extrait aqueux de gomme arabique originaire d'Oman (47,17 %). Enfin, les fractions à l'acétate d'éthyle ont présenté des rendements nettement plus faibles que ceux des extraits bruts hydro-méthanoliques, avec respectivement 6,4 % pour *S. officinalis* et 5,9 % pour la gomme arabique.

Il est important de noter que plusieurs facteurs influencent significativement le rendement d'extraction, notamment les conditions de récolte, l'origine géographique, la granulométrie du matériel végétal, le ratio solvant/matière première, la concentration en alcool du mélange hydro-alcoolique, la durée de macération et la méthode d'extraction [(Koné et al., 2017) ; (Jakovljević et al., 2019)].

### **8. Évaluation de la cytotoxicité des extraits végétaux**

L'évaluation de la cytotoxicité des extraits est réalisée *in vitro*, en utilisant des érythrocytes humains. Les taux d'hémolyse induits par les extraits bruts hydro-méthanoliques et de leurs fractions à l'acétate d'éthyle sont présentés dans la **figure N°16**.

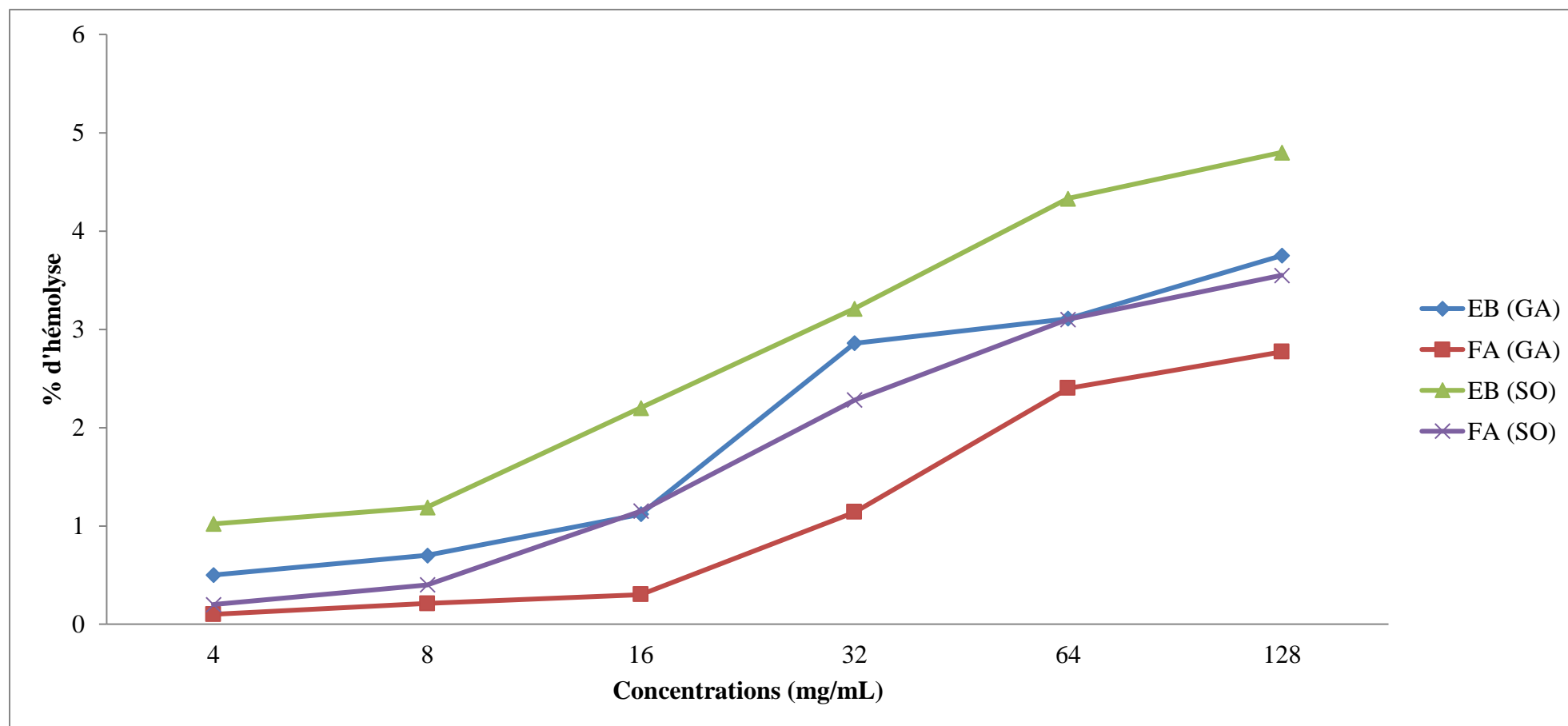


Figure N° 16. Taux d'hémolyse des extraits bruts hydro-méthanoliques et de leurs fractions acétate d'éthyle

EB : Extrait brut, FA : Fraction acétate d'éthyle, GA : Gomme arabique, S : *S. officinalis*

Les résultats de la cytotoxicité révèlent que les deux produits végétaux étudiés induisaient une hémolyse légère dans les concentrations testées. Ils indiquent également que les fractions acétate d'éthyle présentaient une activité hémolytique inférieure à celle des extraits bruts hydro-méthanoliques (**Figure N°16**).

La fraction acétate d'éthyle de la GA à une concentration de 4 mg/mL enregistrait le pourcentage d'hémolyse le plus réduit (0,1 %) (**Figure N°16**). **Sulaiman et Gopalakrishnan (2013)** ont montré que certaines espèces d'*Acacia* originaires d'Inde provoquaient une hémolyse faible à modérée des globules rouges humaines. Il ressort de leur étude que l'extrait aqueux d'*A. leucophloea* à une concentration de 50 µg/mL présentait le plus faible degré d'hémolyse avec un taux de 2,6 %. Tandis que le même extrait d'*A. nilotica* à une concentration de 200 µg/mL possédait l'effet hémolytique le plus élevé avec un pourcentage de 8,9%. De plus, **Al Alawi et al. (2018)** ont évalué la cytotoxicité des extraits organiques de la gomme d'*acacia* soudanaise et omanaise à l'aide de la méthode de létalité des crevettes de saumure. Ils ont observé que ces extraits ne présentaient pas d'activité cytotoxique.

En outre, dans la présente étude, l'extrait hydro-méthanolique de *S. officinalis* à une concentration de 128 mg/mL enregistrait le pourcentage d'hémolyse le plus élevé (4,8%) (**Figure N°16**). En effet, **Mahdi et al. (2020)** ont montré au cours de leur étude en Algérie que l'extrait brut hydro-méthanolique et sa fraction acétate d'éthyle de *S. officinalis* présentaient des taux d'hémolyse de 17,06 % et 11,58% à 200 mg/mL, respectivement. Ils ont également remarqué que l'extrait brut de cette plante contient des saponines, ce qui peut expliquer son potentiel hémolytique plus important comparé à la fraction (**Mahdi et al., 2020**). Ces molécules interagissent avec les stérols de la membrane du globule rouge, entraînant sa lyse et la libération d'hémoglobine (**Zheng et al., 2019**). De plus, il a été rapporté que la fraction acétate d'éthyle de *S. officinalis* est riche en substances phénoliques ce qui peut expliquer son activité hémolytique faible (**Mahdi et al., 2020**). Ces substances lui conféreraient un effet anti-hémolytique (**Jesus et al., 2019**).

### **9. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des extraits végétaux vis-à-vis des souches bactériennes en phase planctonique**

Les résultats de l'inhibition des souches bactériennes par les extraits bruts et ses fractions sont regroupés dans le **tableau N°11**.

**Tableau N° 11. Concentrations minimales inhibitrices des extraits végétaux vis-à-vis des bactéries à Gram positif et négatif**

CMI <sub>s</sub> (µg/mL)					
Souches bactériennes	EB (GA)	FA (GA)	EB (SO)	FA (SO)	Gentamicine
Sa1	$2 \times 10^3$	$0,25 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$4 \times 10^3$	$\leq 0,5$
Sh2	$1 \times 10^3$	$0,25 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$2 \times 10^3$	$\leq 0,5$
Sa3	$0,5 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$8 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$\leq 0,5$
Se5	$1 \times 10^3$	$> 8 \times 10^3$	$2 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$\leq 0,5$
Sa6	$1 \times 10^3$	$0,5 \times 10^3$	$2 \times 10^3$	$0,5 \times 10^3$	$\leq 0,5$
Sl7	$4 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$2 \times 10^3$	$\leq 0,5$
Sl8	$4 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$4 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$\leq 0,5$
Se9	$4 \times 10^3$	$0,25 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$\leq 0,5$
Aj3	$2 \times 10^3$	$2 \times 10^3$	$> 8 \times 10^3$	$2 \times 10^3$	$\geq 16$
Cf4	$> 8 \times 10^3$	$> 8 \times 10^3$	$> 8 \times 10^3$	$8 \times 10^3$	$\leq 1$
Cf5	$8 \times 10^3$	$2 \times 10^3$	$8 \times 10^3$	$> 8 \times 10^3$	$\leq 1$
Kp7	$> 8 \times 10^3$	$> 8 \times 10^3$	$> 8 \times 10^3$	$8 \times 10^3$	$\leq 1$
Pr7	$8 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	$2 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	8

EB : Extrait brut, FA : Fraction acétate d'éthyle, GA : Gomme arabique, SO : *S. officinalis*, Sa : *S. aureus*, Sh : *S. haemolyticus*, Se : *S. epidermidis*, Sl : *S. lentus*, Aj : *A. junii*, Cf : *C. freundii*, Kp : *K. pneumoniae ssp pneumoniae*, Pr : *P. rettgeri*

À la lumière des résultats présentés dans le **tableau N°11**, l'extrait brut de la gomme arabique inhibe la croissance de toutes les souches bactériennes, à l'exception de Cf4 et Kp7, avec des valeurs de CMI variant de  $0,5 \times 10^3$  à  $8 \times 10^3$   $\mu\text{g/mL}$ . Simultanément, sa fraction présente une activité antibactérienne contre 77 % (10/13) des mêmes souches, avec des CMI allant de  $0,25 \times 10^3$  à  $2 \times 10^3$   $\mu\text{g/mL}$ . Ces concentrations sont nettement plus faibles que celles enregistrées par **Adoui et Bouaoune (2022)** en Algérie (Bordj Bou Arreridj), qui ont constaté que la solution aqueuse de la gomme arabique était efficace contre la croissance de plusieurs bactéries de références à Gram positif ainsi qu'à Gram négatif, avec une CMI de 0,25 g/mL. En outre, une étude égyptienne menée par **Elebiary et al. en 2024** a révélé que cette gomme exerce une activité antibactérienne importante vis-à-vis des isolats de *S. aureus*, avec des CMI comprises entre 7,81 et 31,26  $\mu\text{g/mL}$ .

Les propriétés antibactériennes de la gomme arabique sont attribuées à plusieurs mécanismes d'action, parmi lesquels la suppression de la production des protéases de type gingipaines par les bactéries. Ces enzymes jouent un rôle dans l'évasion immunitaire et la destruction des tissus parodontaux (**Hashim et al., 2024**).

De plus, l'extrait hydro-méthanolique de *S. officinalis* a inhibé la croissance de 77 % (10/13) des souches bactériennes avec des CMI comprises entre  $1 \times 10^3$  et  $8 \times 10^3$   $\mu\text{g/mL}$ . La fraction de cet extrait, était efficace vis-à-vis de l'ensemble des souches, à l'exception de Cf5, avec des CMI allant de  $0,5 \times 10^3$  à  $8 \times 10^3$   $\mu\text{g/mL}$  (**Tableau N°11**). Ces concentrations sont largement inférieures à celles obtenues précédemment par **Mosafa et al. (2014)** en Iran, qui ont observé que l'extrait éthanolique des tiges et des feuilles de *S. officinalis* inhibe la prolifération bactérienne avec des CMI de  $18,75 \times 10^3$   $\mu\text{g/mL}$  pour *S. aureus* et de  $26,56 \times 10^3$  à  $33,75 \times 10^3$   $\mu\text{g/mL}$  pour les bactéries à Gram négatif. En outre, l'extrait acétone des parties aériennes de la même plante collecté au Liban a empêché la croissance de *S. aureus* avec une CMI de  $35 \times 10^3$   $\mu\text{g/mL}$ , largement supérieure à celles que nous avons obtenues (**Ghezelbash et al., 2015**).

Ces variations dans l'activité antibactérienne pourraient être attribuées au solvant choisi pour l'extraction. Divers travaux ont montré le pouvoir de pénétration du méthanol à travers la membrane cellulaire végétale, ce qui permet l'extraction de quantités plus importantes des substances bioactives telles que les polyphénols, connus pour leurs excellentes propriétés antimicrobiennes [(**Silva et al., 1998**) ; (**Panda, 2014**) ; (**Panda et al., 2016**)].

### 10. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des extraits végétaux vis-à-vis des souches fongiques en phase planctonique

Les résultats de l'inhibition des souches fongiques par les extraits bruts et ses fractions sont regroupés dans le **tableau N°12**.

**Tableau N°12. Concentrations minimales inhibitrices des extraits végétaux vis-à-vis des souches de *Candida* spp.**

CMI <sub>s</sub> (µg/mL)					
Souches fongiques	EB (GA)	FA (GA)	EB (SO)	FA (SO)	Amphotéricine B
Ca1	4×10 <sup>3</sup>	2×10 <sup>3</sup>	8×10 <sup>3</sup>	8×10 <sup>3</sup>	0,25
Ca2	2×10 <sup>3</sup>	2×10 <sup>3</sup>	8×10 <sup>3</sup>	8×10 <sup>3</sup>	0,25
Ca4	4×10 <sup>3</sup>	2×10 <sup>3</sup>	4×10 <sup>3</sup>	8×10 <sup>3</sup>	0,25
Ck5	4×10 <sup>3</sup>	0,5×10 <sup>3</sup>	8×10 <sup>3</sup>	2×10 <sup>3</sup>	0,5
Ca6	2×10 <sup>3</sup>	2×10 <sup>3</sup>	8×10 <sup>3</sup>	8×10 <sup>3</sup>	0,06
Ca8	1×10 <sup>3</sup>	1×10 <sup>3</sup>	4×10 <sup>3</sup>	4×10 <sup>3</sup>	1
Ca9	4×10 <sup>3</sup>	1×10 <sup>3</sup>	4×10 <sup>3</sup>	4×10 <sup>3</sup>	0,03

EB : Extrait brut, FA : Fraction acétate d'éthyle, GA : Gomme arabique, SO : *S. officinalis*, Ca : *C. albicans*, Ck : *C. kefyr*

À la suite de l'évaluation de l'activité antifongique des extraits, les résultats obtenus ont montré que ces derniers étaient capables d'inhiber la croissance de toutes les souches de *Candida* spp.

La fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique présentait le meilleur potentiel antifongique, avec des CMI<sub>s</sub> comprises entre 0,5×10<sup>3</sup> et 2×10<sup>3</sup> µg/mL (**Tableau N°12**). Selon les résultats obtenus par **Becheker et al. (2022)** en Algérie, les extraits de cette gomme étaient très efficaces vis-à-vis des souches de *C. albicans*, avec des CMI<sub>s</sub> de 15,62 µg/mL.

Une autre étude, menée par **Nacsá-Farkas et al. (2014)**, a démontré que l'extrait hydro-éthanolique de *S. officinalis* originaire de Roumanie, présentait des CMI<sub>s</sub> variant de 6,6×10<sup>3</sup>

à  $13,2 \times 10^3 \mu\text{g/mL}$  vis-à-vis des *Candida* spp. Cela confirme nos observations concernant l'activité antifongique de cette plante (CMI :  $4 \times 10^3$ - $8 \times 10^3 \mu\text{g/mL}$  pour l'extrait hydro-méthanolique) (**Tableau N°12**). Contrairement à nos résultats, l'étude de **Cardoso et al. (2012)** a révélé que *S. officinalis* à une concentration de  $100 \times 10^3 \mu\text{g/mL}$  n'exerçait aucun effet antifongique sur les souches de *C. albicans* et *C. tropicalis*.

Des recherches d'amarrage moléculaire ont mis en évidence que l'activité antibactérienne et antifongique de *S. officinalis* est due à l'inhibition d'enzymes essentielles dans la synthèse du folate, dont la dihydrofolate réductase et la dihydroptéroate synthase, ainsi que d'autres enzymes impliquées dans la réplication et la ségrégation de l'ADN telles que la topoisomérase de type IV [(**Helgesen et al., 2021**) ; (**Bendaas et al., 2025**)].

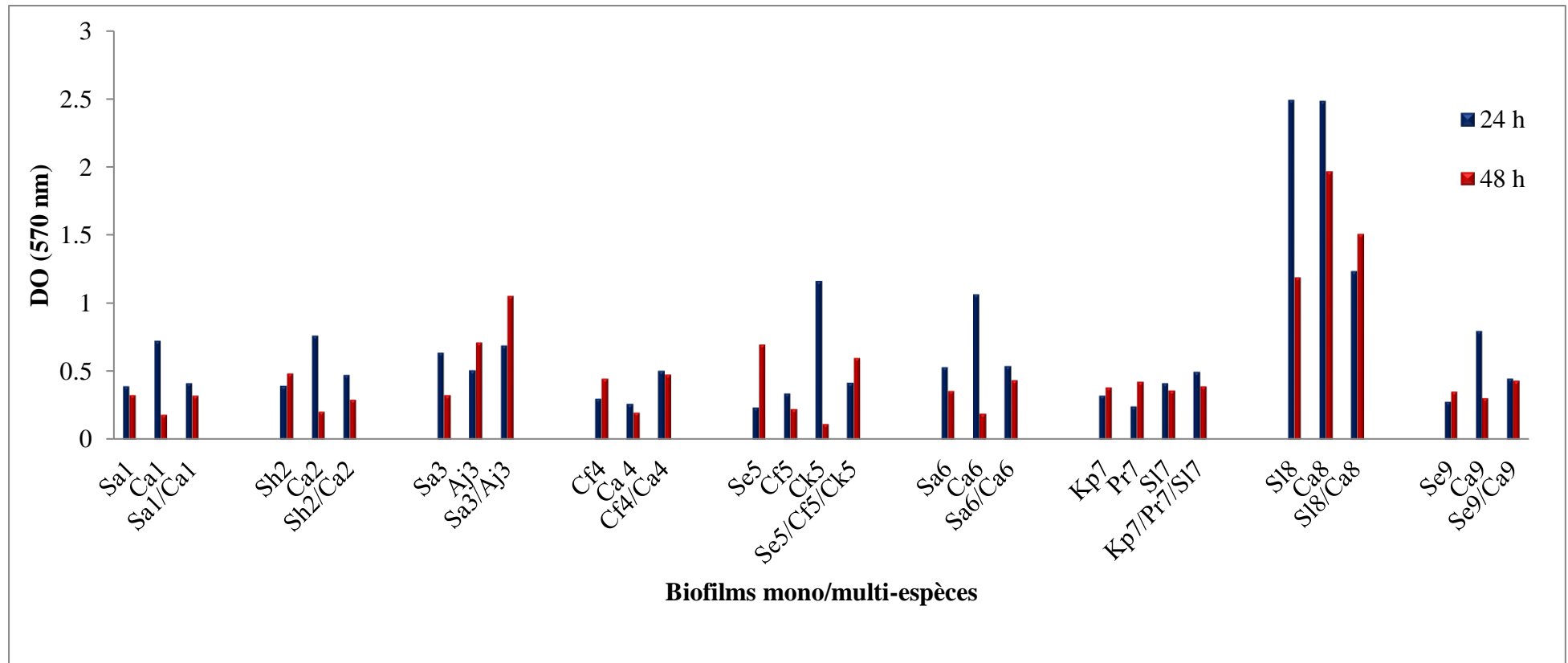
Ainsi, nous pouvons supposer que ces variations dans l'activité antifongique peuvent s'expliquer par les variations dans le lieu et la période de la récolte du végétal, de même que dans les procédés de conservation ou d'extraction après collecte.

### **11. Évaluation de la capacité des souches co-isolées d'un même prélèvement lingual à former *in vitro* des biofilms mono et multi-espèces**

Les biofilms buccaux pathogènes représentent un facteur causal significatif dans un grand nombre de maladies bucco-dentaires ainsi que systémiques. À cet égard, leur rôle dans les pathologies humaines est devenu un sujet de recherche prioritaire [(**Bertolini et al., 2022**) ; (**Kurtzman et al., 2022**)].

Dans notre étude, l'incubation des biofilms mono et multi-espèces a été effectuée pendant 24 et 48 heures dans trois milieux de cultures différents (BHIB, TSB et RPMI 1640). Par la suite, une mesure quantitative de la biomasse produite par chaque biofilm a été réalisée par la méthode de coloration au cristal violet. Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de densités optiques.

La **figure N°17** illustre les densités optiques des biofilms mono et multi-espèces formés sur milieu RPMI 1640.



**Figure N° 17. Biomasse des biofilms mono et multi-espèces formés sur milieu RPMI 1640 (contrôle négatif= 0,144)**

Sa : *S. aureus*, Ca : *C. albicans*, Sh : *S. haemolyticus*, Aj : *A. junii*, Cf : *C. freundii*, Se : *S. epidermidis*, Ck : *C. kefyr*, Kp : *K. pneumoniae ssp pneumoniae*, Pr : *P. rettgeri*, Sl : *S. lentus*

Selon les intervalles établis par **Kodori et al. (2021)**, dans le milieu RPMI 1640 et après 24 h d'incubation, toutes les souches étaient formatrices de biofilms mono-espèces à des degrés différents, avec des densités optiques comprises entre 0,235 et 2,488 pour les staphylocoques, entre 0,244 et 0,506 pour les bactéries à Gram négatif et entre 0,261 et 2,481 pour les levures (**Figure N°17**). Selon les résultats de **Wijesinghe et al. (2019)** l'absorbance des biofilms de *S. aureus* et de *P. aeruginosa* dans ce même milieu après 24 heures d'incubation était respectivement de 0,27 et 0,23. De plus, **Sánchez-Vargas et al. (2013)** ont démontré que les isolats buccaux de *C. albicans* pouvaient former des biofilms sur le milieu RPMI dont les valeurs de DO variaient entre 0,635 et 1,125.

En outre, après 48 h d'incubation, l'ensemble des souches microbiennes étaient capables de produire des biofilms mono-espèces avec des absorbances allant de 0,326 à 1,187 pour les staphylocoques (**Figure N°17**). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Gourari-Bouzouina (2024)**, qui a observé que les biofilms mono-espèces de ce genre bactérien présentaient des DO variant entre 0,39 et 1,2. Pour les bactéries à Gram négatif les DO étaient comprises entre 0,223 et 0,71 (**Figure N°17**). L'étude de **Benahmed (2024)** a montré que les biofilms de ces bactéries ont des absorbances de 0,473 et 0,858 pour *E. cloacae* et *K. pneumoniae*, respectivement. Pour les biofilms fongiques nous avons constaté des DO variant entre 0,113 et 1,962 (**Figure N°17**). **Villar-Vidal et al. (2011)** ont montré que les souches de *C. albicans* et *C. dubliniensis*, isolées de la cavité buccale, étaient productrices de biofilm avec des DO de 0,9 et 0,64, respectivement.

En ce qui concerne les biofilms multi-espèces, les densités optiques étaient comprises entre 0,413 et 1,234 après 24 h d'incubation et entre 0,293 et 1,505 après 48 h (**Figure N°17**). Les analyses statistiques, réalisées par le test de Student, n'ont révélé aucune différence significative entre les biomasses des biofilms obtenues après 24 et 48 h d'incubation ( $P = 0,115$ ).

La **figure N°18** illustre les densités optiques des biofilms mono et multi-espèces formés sur milieu BHIB.

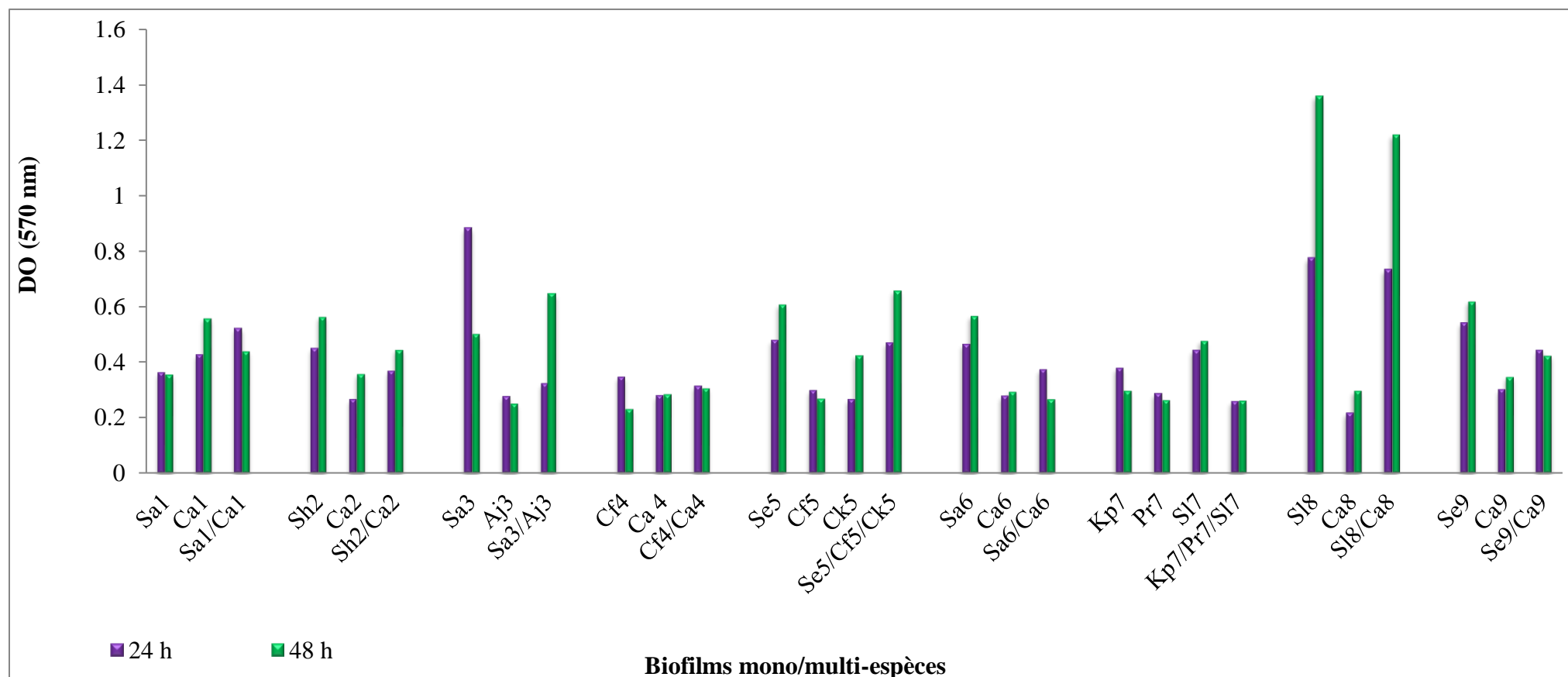


Figure N°18. Biomasse des biofilms mono et multi-espèces formés sur milieu BHIB (contrôle négatif= 0,143)

Sa : *S. aureus*, Ca : *C. albicans*, Sh : *S. haemolyticus*, Aj : *A. junii*, Cf : *C. freundii*, Se : *S. epidermidis*, Ck : *C. kefyr*, Kp : *K. pneumoniae ssp pneumoniae*, Pr : *P. rettgeri*, Sl : *S. lentus*

Dans le milieu BHIB, la totalité des souches étaient productrices de biofilms mono-espèces à diverses intensités après les deux temps d'incubation (**Figure N°18**).

Après 24 h, les densités optiques des biofilms formés étaient comprises entre 0,363 et 0,882 pour les staphylocoques et entre 0,278 et 0,38 pour les bactéries à Gram négatif (**Figure N°18**). Selon l'étude menée par **Hoceini en 2017**, la production d'un biofilm a été observée chez 9 des 17 souches bactériennes isolées de la cavité buccale, avec des DO allant de 0,14 à 0,43. De plus, **Singh et al. (2017)** ont démontré que les isolats cliniques de *Staphylococcus* spp. développaient des biofilms dans ce milieu, avec des absorbances variant entre 0,141 et 2,006. Dans une autre étude, **Tan et al. (2016)** ont constaté que les souches cliniques de *Candida* spp. étaient capables de former des biofilms dans le milieu BHIB, avec des valeurs de DO comprises entre 0,58 et 1,18. Ces valeurs sont supérieures à celles obtenues dans notre étude (0,219 à 0,427) (**Figure N°18**).

En outre, après 48 h d'incubation, les densités optiques variaient entre 0,357 et 1,36 pour les staphylocoques et entre 0,232 et 0,298 pour les bactéries à Gram négatif (**Figure N° 18**). Les résultats obtenus par **Wijesinghe et al. (2019)** ont révélé que les biofilms de *S. aureus* et de *P. aeruginosa*, formés dans le BHIB, présentaient après 48 h d'incubation, des valeurs d'absorbance de 1,3 et 1,52, respectivement. Concernant les levures, les DO variaient de 0,286 à 0,56 (**Figure N°18**), ces dernières étant inférieures à celles observées par **Tan et al. (2016)** (DO : 0,82-1,39).

Il a également été constaté que ce milieu permettait à toutes les souches étudiées de produire des biofilms multi-espèces, avec des densités optiques variant entre 0,259 et 0,733 après 24 h d'incubation et entre 0,262 et 1,221 après 48 h (**Figure N°18**). Les analyses statistiques (test t), n'ont pas révélé de différence significative entre les biomasses des biofilms obtenues après 24 et 48 h d'incubation (P= 0,143).

La **figure N°19** illustre les densités optiques des biofilms mono et multi-espèces formés sur milieu TSB.

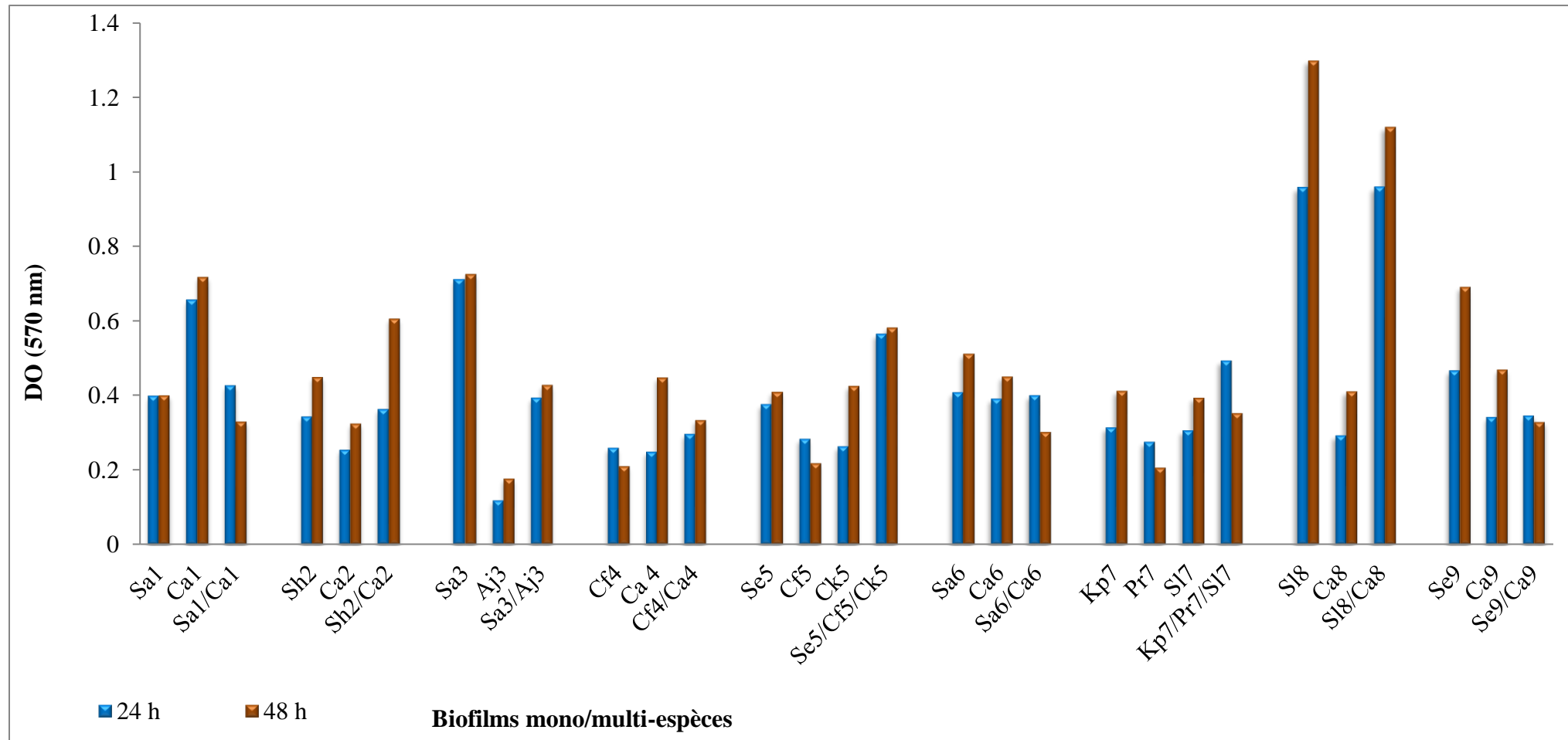


Figure N° 19. Biomasse des biofilms mono et multi-espèces formés sur milieu TSB (contrôle négatif= 0,122)

Sa : *S. aureus*, Ca : *C. albicans*, Sh : *S. haemolyticus*, Aj : *A. junii*, Cf : *C. freundii*, Se : *S. epidermidis*, Ck : *C. kefyr*, Kp : *K. pneumoniae ssp pneumoniae*, Pr : *P. rettgeri*, Sl : *S. lentus*

Dans le milieu TSB, toutes les souches étaient formatrices de biofilms mono-espèces à des degrés divers après les deux temps d'incubation (**Figure N°19**).

Après 24 h, les biofilms présentaient des densités optiques allant de 0,305 à 0,958 pour les espèces de *Staphylococcus* (**Figure N°19**), ceci est en accord avec l'étude de **Paleczny et al. (2022)** qui a révélé le pouvoir de ces souches à produire des biofilms dans ce milieu. Nous avons également observé que les valeurs des DO étaient comprises entre 0,118 et 0,313 pour les bactéries à Gram négatif, et entre 0,248 et 0,656 pour les levures (**Figure N°19**).

Après 48 h d'incubation, les DO variaient de 0,393 à 1,297 pour les staphylocoques, de 0,176 à 0,411 pour les bactéries à Gram négatif et de 0,324 à 0,717 pour les levures (**Figure N°19**). Une étude menée par **Sanchez et al. (2013)** a démontré que 91 % des souches de *S. aureus*, possédaient la capacité de former des biofilms dans le milieu TSB, avec des biomasses comprises entre 0,121 et 0,161. Ils ont également montré que 76% et 55% des souches de *K. pneumoniae* et d'*A. baumannii*, étaient productrices de biofilms dans ce milieu, avec une absorbance de 0,214 et de 0,125, respectivement. De plus, selon **Asih et al. (2023)**, *C. tropicalis* a la capacité de former un biofilm mono-espèce après 48 heures d'incubation dans le milieu TSB, avec une densité optique de 2,412.

Par ailleurs, l'ensemble des souches étaient capables de former des biofilms multi-espèces dans ce milieu, avec des densités optiques allant de 0,296 à 0,959 et de 0,301 à 1,119 après 24 et 48 heures d'incubation, respectivement (**Figure N°19**). Selon les analyses statistiques (test t), aucune différence significative n'a été observée entre les biomasses des biofilms obtenues après 24 et 48 h d'incubation (P= 0,146).

De plus, la présente étude indique que parmi les biofilms mixtes, ceux produits par *S. lentus* (S18) et *C. albicans* (Ca8) présentent les biomasses les plus importantes dans les trois milieux de culture (après 24 et 48 heures). Au vu des recherches antérieures, il ressort que le biofilm entre ces espèces n'a pas été étudié jusqu'à présent.

Néanmoins, plusieurs études ont examiné les biofilms multi-espèces formés par *Candida* spp. et *S. aureus* ou *S. epidermidis*. Dans ce contexte, **Tan et al. (2017)** ont montré que les biofilms mixtes composés de *S. epidermidis* et de non-albicans *Candida* spp. présentaient des DO comprises entre 0,12 et 0,21 et entre 0,23 et 0,38, après 24 et 48 heures d'incubation, respectivement en milieu RPMI. Ils ont également observé que les absorbances variaient de 0,54 à 0,65 et étaient égales à 1 après 24 et 48 heures, respectivement en milieu BHIB. De

plus, en milieu TSB, ils ont constaté que les DO se situaient entre 0,52 et 0,56 après 24 heures et entre 0,81 et 0,9 après 48 heures d'incubation. En outre, l'étude menée par **Gourari-Bouzouina (2024)** a révélé que les biofilms mixtes de *C. dubliniensis* et *S. aureus* ainsi que de *C. tropicalis* et *S. aureus* ont été caractérisés par des densités optiques de 2,15 et 3,9, respectivement, après 48 h d'incubation.

Les résultats de la catégorisation des biofilms mono-espèces produits après 24 h d'incubation dans chaque milieu sont présentés dans la **figure N°20** selon les intervalles déterminés par **Kodori et al. (2021)**.

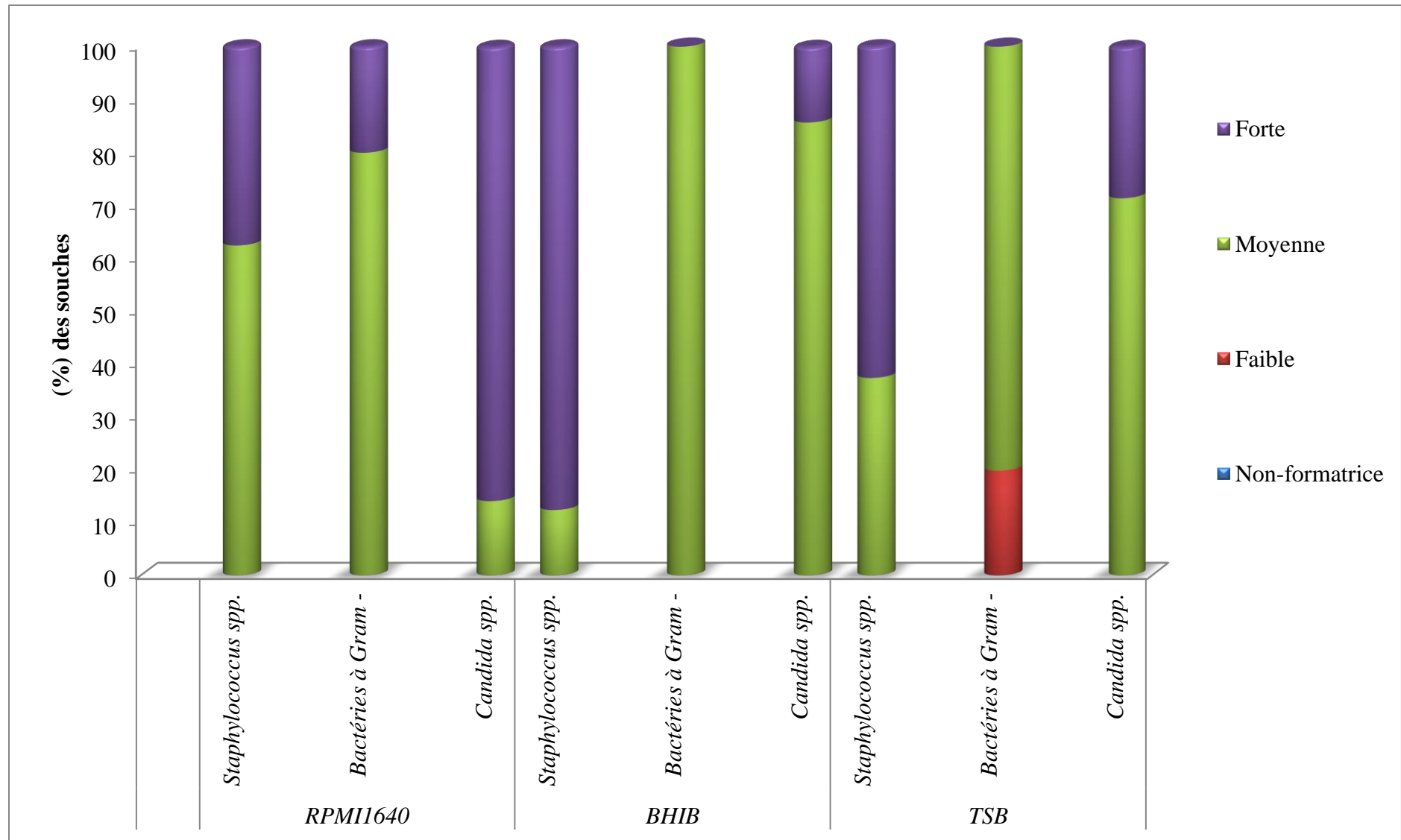


Figure N° 20. Classification des biofilms mono-espèces après 24 h d'incubation

La comparaison entre les trois milieux a révélé qu'après une incubation de 24 heures, le milieu BHIB favorisait la croissance des *Staphylococcus* spp., parmi ces dernières 87,5 % étaient fortement productrices des biofilms mono-espèces dans ce milieu (**Figure N°20**). La croissance de ces structures a été stimulée dans le bouillon BHI, potentiellement en raison de sa composition riche en sels, protéines et peptones, éléments qui améliorent le rendement des biofilms de *Staphylococcus* spp. (**Petinate et al., 1999**). Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **Chen et al. (2012)** qui ont recommandé ce milieu de culture pour le développement des formes sessiles de ce genre bactérien. D'autre part, la majorité des bactéries à Gram négatif (de 80 % à 100 %) se sont avérées moyennement formatrices de biofilms dans les trois milieux de culture (**Figure N°20**).

De plus, 85,7 % des *Candida* spp. sont classées comme de forts producteurs de biofilm dans le milieu RPMI 1640 (**Figure N°20**). Il est également observé que la majorité des biofilms multi-espèces (7/9, soit 78 %) génèrent des biomasses plus importantes dans ce milieu par rapport aux deux autres milieux (**Figure N°17**). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Weerasekera et al. (2016)**, qui ont observé que le milieu RPMI 1640 induisait une production accrue de la biomasse des biofilms fongiques mono et multi-espèces. Sa composition, caractérisée par des teneurs élevées en acides aminés stimule leur prolifération en comparaison avec les milieux plus complexes riches en peptone (**Weerasekera et al., 2016**).

Les résultats de la catégorisation des biofilms mono-espèces produits après 48 h d'incubation dans chaque milieu sont présentés dans la **figure N°21**.

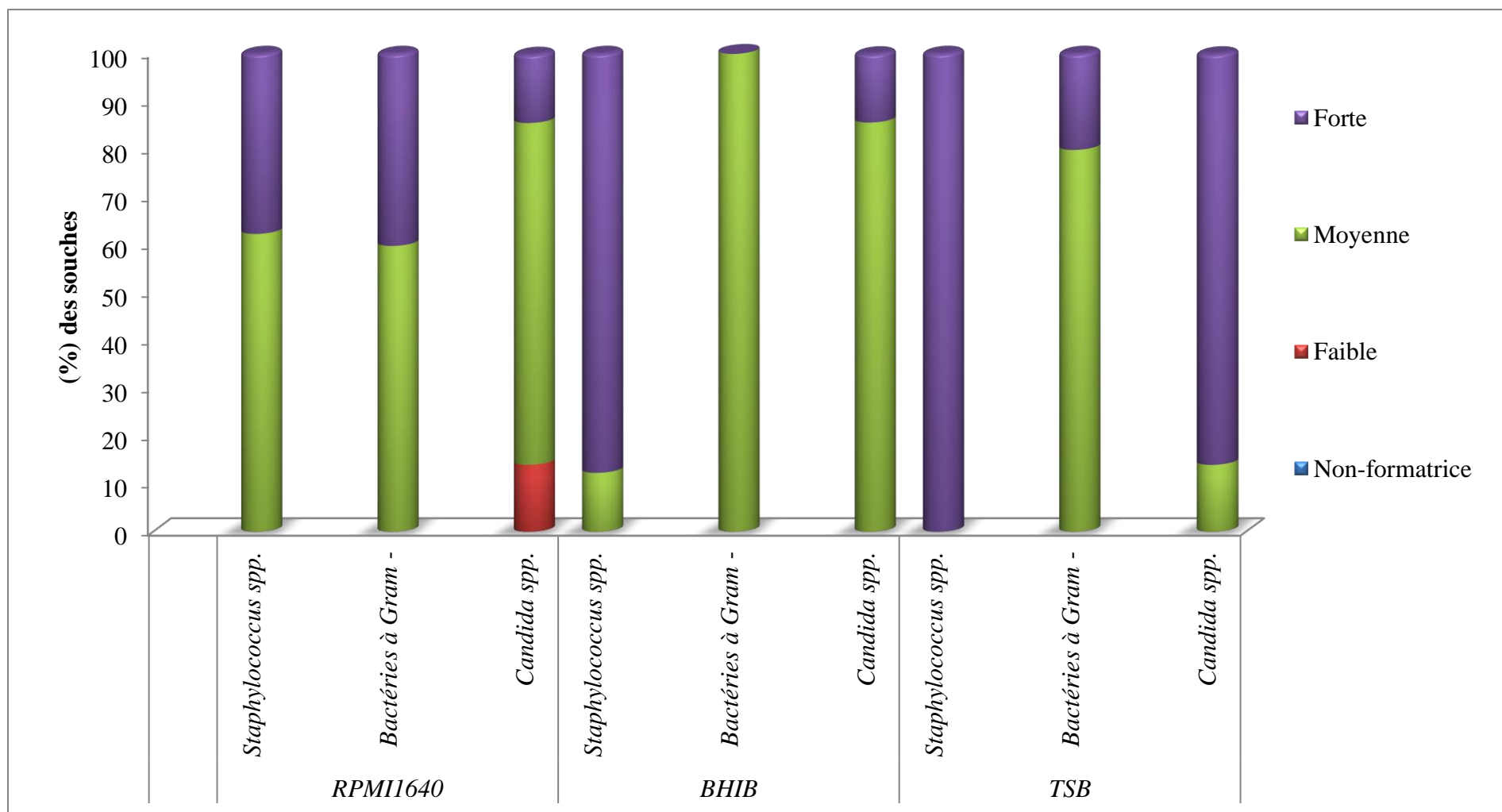


Figure N°21. Classification des biofilms mono-espèces après 48 h d'incubation

Après incubation de 48 h, il a été observé que tous les Staphylocoques sont fortement producteurs de biofilms mono-espèces en milieu TSB. Il a été également constaté que ce milieu favorisait la production d'une biomasse plus importante chez 85,7 % des *Candida* spp., en comparaison avec les milieux BHIB et RPMI 1640 (**Figure N°21**). Nos résultats vont dans le même sens que l'étude menée par **Asih et al. (2023)** qui a révélé que les cellules sessiles de *S. aureus* et de *C. tropicalis*, développées dans le TSB après 48 heures d'incubation présentaient des densités optiques remarquables.

Par ailleurs, la majorité des bactéries à Gram négatif (de 60 % à 100 %) étaient modérément formatrices de biofilms mono-espèces dans les trois milieux (**Figure N°21**). En outre, 6/9 (67 %) des biofilms multi-espèces ont produit plus de biomasses en milieu RPMI 1640 (**Figure N°17**).

## **12. Inhibition des biofilms mono et multi-espèces formés par *S. lentus* et *C. albicans* isolées d'un même prélèvement lingual par des agents antimicrobiens et des extraits végétaux**

Dans le cadre de l'inhibition des biofilms linguaux *in vitro*, nous avons sélectionné l'association *S. lentus*/*C. albicans*, car elle produisait la biomasse la plus importante.

### **12. 1. Agents antimicrobiens**

Les résultats de l'inhibition des biofilms mono et multi-espèces formés par *S. lentus* et *C. albicans* par des agents antimicrobiens sont regroupés dans le **tableau N°13**.

**Tableau N° 13. Concentrations minimales inhibitrices sessiles des antimicrobiens vis-à-vis des souches de *S. lentus* et *C. albicans* co-isolées d'un même prélèvement lingual**

SCMI <sub>80</sub> (µg/mL)						
Biofilms	Vancomycine		Amphotéricine B		Amphotéricine B/Vancomycine	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h
<i>S. lentus</i>	128	64	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	128	128	-	-
<i>S. lentus/C.albicans</i>	-	-	-	-	16/16	32/32

- : Non testé

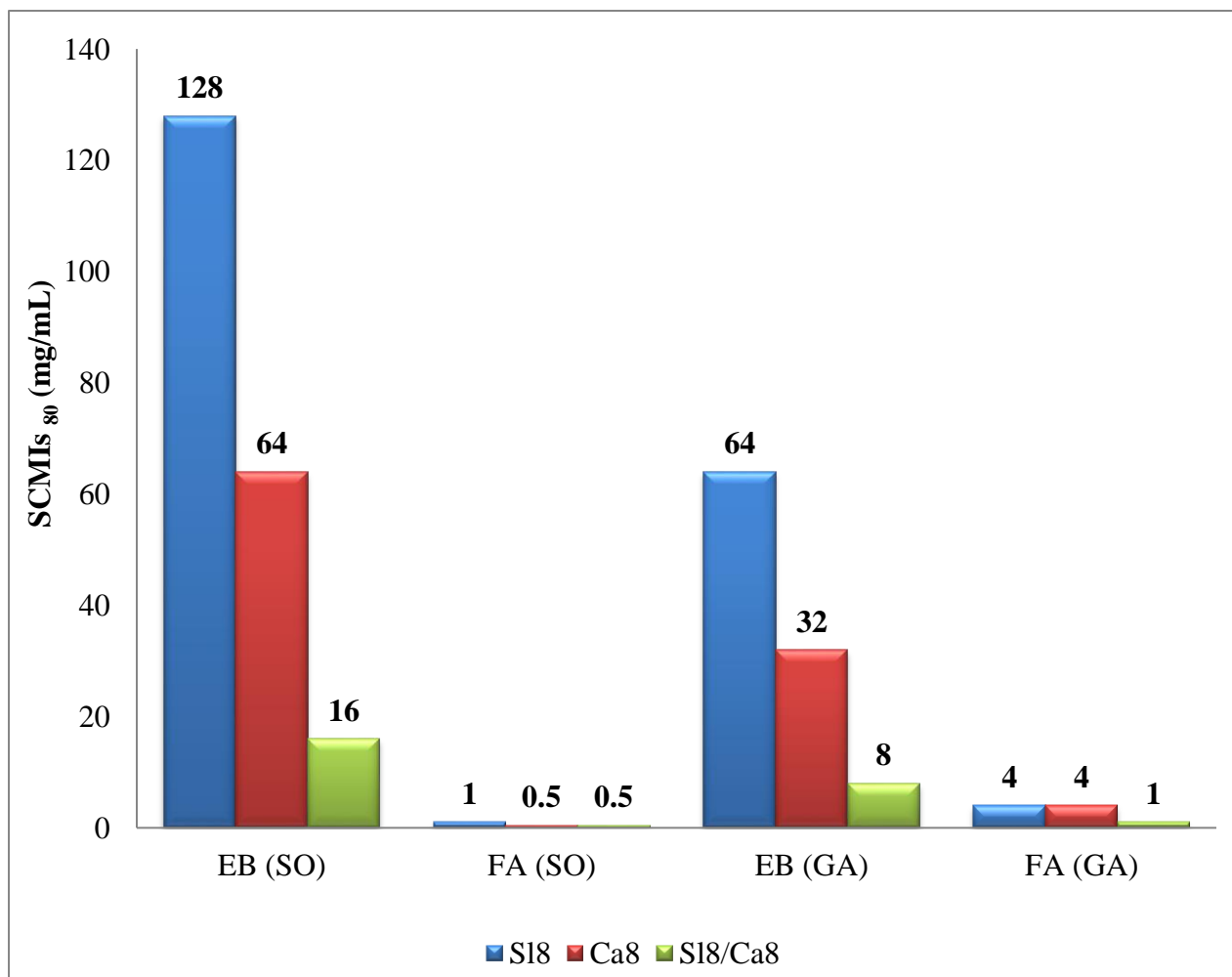
La vancomycine présente des SCMI<sub>80</sub> de 128 et 64 µg/mL vis-à-vis des biofilms mono-espèces de 24 et 48 heures formés par *S. lentus*, respectivement (**Tableau N°13**). Ces concentrations sont considérablement plus élevées que celles observées en état planctonique. Selon certaines études, les SCMI de cet antibiotique variaient de 1 à > 64 µg/mL et de 4 à 32 µg/mL pour les biofilms produits par *Staphylococcus* spp., de 24 et 48 heures [(**Antunes et al., 2011**) ; (**Gourari-Bouzouina, 2024**)].

En outre, les SCMI<sub>80</sub> de l'amphotéricine B vis-à-vis des biofilms mono-espèces de *C. albicans* sont de 128 µg/mL, et dépassent largement les valeurs obtenues en mode planctonique (**Tableau N°13**). D'après les observations de **Seddiki (2014)**, cet antifongique a inhibé 80% des cellules sessiles de *Candida* spp. avec des concentrations comprises entre 0,25 et 4 µg/mL. De plus, une étude menée par **Touil (2022)** a révélé que les SCMI de l'amphotéricine B variaient entre 2 et 64 µg/mL pour les biofilms de ce même genre fongique. Selon **Shivaji et al. (2023)**, les CMI des antimicrobiens pour les microorganismes en état sessile sont cent fois supérieures à celles observées en état planctonique.

Il a été constaté également que l'association de la vancomycine et de l'amphotéricine B à l'encontre des biofilms multi-espèces de *S. lentus* et *C. albicans* présente des SCMI<sub>80</sub> de 16/16 µg/mL et 32/32 µg/mL pour les biofilms de 24 et 48 heures, respectivement (**Tableau N°13**). **Gourari-Bouzouina (2024)**, a constaté que la combinaison de ces deux agents antimicrobiens inhibe à 80% le biofilm mixte de *C. tropicalis/S. aureus* formé après 48h d'incubation avec une concentration de 16/16 µg/mL.

## 12. 2. Extraits végétaux

Les résultats de l'inhibition des biofilms mono et multi-espèces de 24 h formés par *S. lentus* et *C. albicans* par des extraits végétaux sont représentés dans la **figure N°22**.

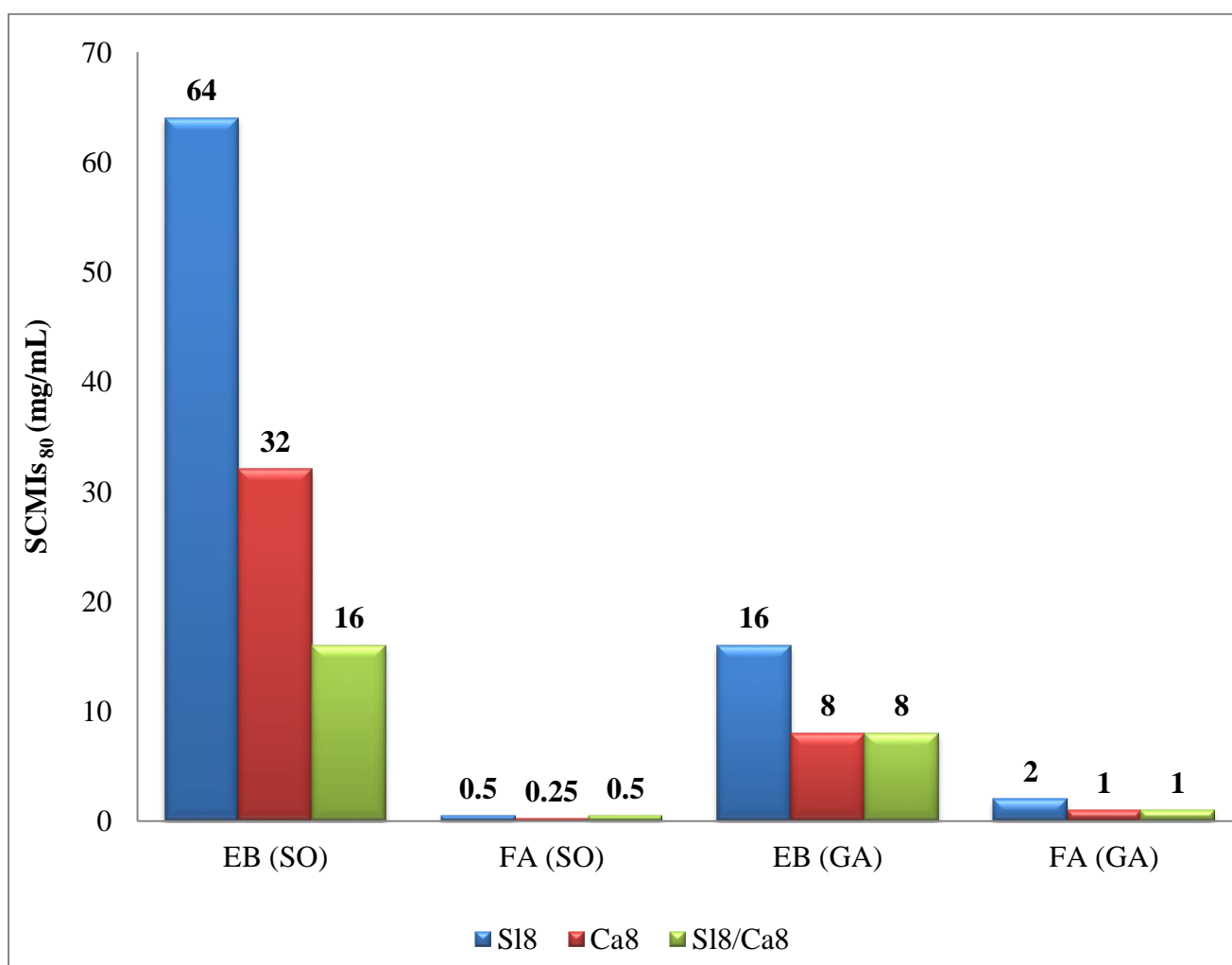


**Figure N° 22. SCMI<sub>80</sub> des extraits végétaux vis-à-vis des biofilms mono et multi-espèces de 24 h**

EB : Extrait brut, FA : Fraction acétate d'éthyle, SO : *Salvia officinalis*, GA : Gomme arabique, S18 : *S. lentus*, Ca : *C. albicans*

D'après la **figure N°22**, la fraction acétate d'éthyle de *S. officinalis* présente la plus forte activité anti-biofilm contre les biofilms mono et multi-espèces avec des SCMI<sub>80</sub> variant de 0,5 à 1 mg/mL. En outre, la fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique et les deux extraits bruts hydro-méthanoliques sont également efficaces dans l'inhibition de la croissance de ces biofilms avec des SCMI<sub>80</sub> allant de 1 à 128 mg/mL (**Figure N° 22**).

Les résultats de l'inhibition des biofilms mono et multi-espèces de 48 h formés par *S. lentus* et *C. albicans* par des extraits végétaux sont représentés dans la **figure N°23**.



**Figure N°23. SCMI<sub>80</sub> des extraits végétaux vis-à-vis des biofilms mono et multi-espèces de 48 h**

EB : Extrait brut, FA : Fraction acétate d'éthyle, SO : *S. officinalis*, GA : Gomme arabique,  
S1 : *S. lentus*, Ca : *C. albicans*

Nous observons que la fraction acétate d'éthyle de *S. officinalis* présente l'activité anti-biofilm la plus importante vis-à-vis des biofilms mono et multi-espèces avec des SCMI<sub>80</sub> variant de 0,25 à 0,5 mg/mL (**Figure N° 23**). Il a été rapporté que cette espèce végétale est capable d'inhiber la formation des biofilms (**Mocan et al., 2020**). Selon l'étude de **Kerkoub et al. (2018)**, une concentration de 1 mg/mL de *S. officinalis* a réduit 95 % des cellules sessiles de *Candida* spp. **Stefanović et al. (2022)** ont également mis en évidence les propriétés anti-biofilm de cette plante avec des SCMI allant de 2,5 à 10 mg/mL vis-à-vis des biofilms d'*Escherichia Coli*. De plus, **Purgato et al. (2024)** ont observé que les terpénoïdes multicycliques issus de *S. officinalis* inhibent 30 % à 82 % des souches de *S. aureus* en mode sessile avec des SCMI comprises entre 0,09 et 0,74 mg/mL.

Il a été démontré que les extraits de *S. officinalis* exercent une action inhibitrice sur l'activité métabolique des cellules microbiennes sessiles (**Stefanović et al., 2022**).

En outre, la fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique et les deux extraits bruts hydro-méthanoliques présentent également une activité anti-biofilm contre les biofilms mono et multi-espèces avec des SCMI<sub>80</sub> allant de 1 à 64 mg/mL (**Figure N°23**).

Selon les études antérieures, l'activité anti-biofilm de la gomme arabique seule n'a pas été documentée à ce jour. Mais des recherches ont montré leur efficacité contre le biofilm lorsqu'elle est associée à d'autres substances. **Ansari et al. (2014)** ont montré qu'une concentration de 50 µg /mL de nanoparticules d'argent recouvertes de cette gomme inhibait 95 % du biofilm formé par *P. aeruginosa*. Une autre étude menée par **Raj et al. (2022)** a révélé que les nanotransporteurs d'alizarine intégrés à la gomme arabique et au chitosane, à une concentration de 5 µg/ml, étaient capables d'inhiber la production de biofilm mixte composé de *S. aureus* et *C. albicans*.

L'activité anti-biofilm de la gomme arabique résulte d'une perturbation du QS, notamment le système de signalisation AI-2 (auto-inducteur 2), qui est utilisé par plusieurs microorganismes pathogènes impliqués dans les maladies bucco-dentaires. Elle renforce également les défenses immunitaires de l'hôte, et stimule la croissance des microorganismes bénéfiques. Ces mécanismes entraînent la perturbation de la formation du biofilm pathogène [(**Liu et al., 2017**) ; (**Al-Jubori et al.,2023**)].

Le potentiel anti-biofilm des extraits végétaux est lié à la composition et à la quantité en métabolites secondaires, ainsi qu'à l'interaction synergique de ces métabolites (Stefanović et al., 2022).

### 13. Identification des composés phytochimiques présents dans les fractions acétate d'éthyle de *S. officinalis* et de la gomme arabique par la méthode de LC-ESI-MS/MS

Grâce à sa sensibilité et à sa sélectivité élevées, la méthode LC-ESI-MS/MS se montre plus performante que les autres techniques de chromatographie en phase liquide [(Gülçin et al., 2010) ; (Yilmaz, 2020)].

Dans cette étude, l'analyse par LC-ESI-MS/MS a été réalisée exclusivement sur les fractions acétate d'éthyle de *S. officinalis* et de la gomme arabique, car elles présentent des activités antibactériennes, antifongiques et antibiobifilms supérieures à celles des extraits bruts des mêmes produits végétaux.

#### 13.1. Identification des composés phytochimiques présents dans la fraction acétate d'éthyle de *S. officinalis*

Le chromatogramme LC-ESI-MS/MS de la fraction acétate d'éthyle de *S. officinalis* est illustré dans la figure N°24.

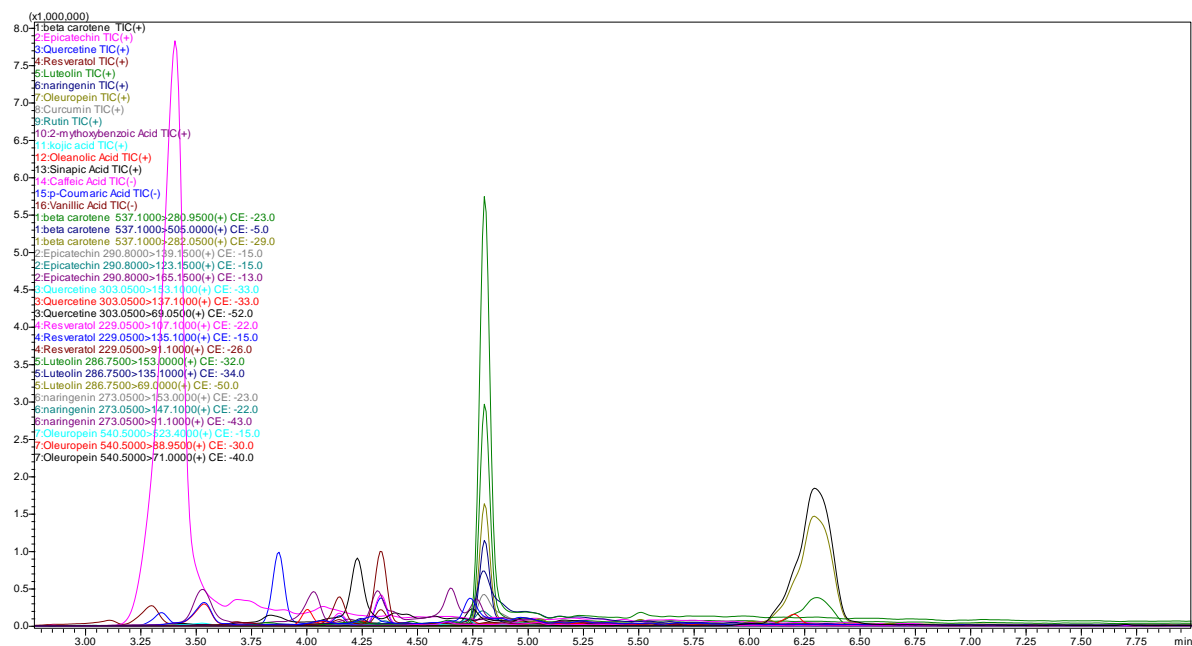


Figure N°24. Chromatogramme LC-ESI-MS/MS de la fraction acétate d'éthyle de *S. officinalis*

Comme l'illustre le chromatogramme ci-dessus, divers constituants phytochimiques ont été détectés dans la fraction acétate d'éthyle de *S. officinalis*, chaque constituant est associé à différents pics entre 3.299 et 6.307 minutes. Le pic abondant, observé à 3.407 minute et associé à la transition  $m/z$  179.1500>135.0000, correspond à l'acide caféique, qui est l'un des principaux acides phénoliques identifiés. De nombreuses études ont démontré que l'acide caféique et ses dérivés présentent une activité antibactérienne et antifongique contre les espèces de *Staphylococcus* et de *Candida*, respectivement [(**Vaquero et al., 2007**) ; (**dos Santos et al., 2018**) ; (**Kepe et al., 2018**) ; (**Lukáč et al., 2024**)].

Les résultats relatifs à l'identification quantitative des composés phytochimiques présents dans la fraction acétate d'éthyle de *S. officinalis* par LC-ESI-MS/MS sont regroupés dans le **tableau N°14**.

Tableau N° 14. Composés phytochimiques identifiés dans la fraction acétate d'éthyle de *S. officinalis* par LC-ESI-MS/MS

Nom de composé	Formule moléculaire	Poids moléculaire	Charge ESI (+/-)	Transition m/z	Temps de rétention	Hauteur de pic	Aire de pic
Epicatechine <sup>a</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	290.27	(+)	290.8000>139.1500	5.050	47718	11896
Quercétine <sup>b</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	302.23	(+)	303.0500>153.1000	4.727	224210	72695
Resvératol <sup>c</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	228.24	(+)	229.0500>107.1000	4.337	1521594	397505
Lutéoline <sup>d</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	286.24	(+)	286.7500>153.0000	4.806	9953279	2916758
Naringénine <sup>e</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	272.25	(+)	273.0500>153.0000	4.802	1944971	381737
Oleuropéine <sup>f</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	540.5	(+)	540.5000>88.9500	6.010	158064	37910
Curcumine <sup>g</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>	368.4	(+)	368.9000>177.0500	3.377	40758	12086
Rutine <sup>b</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	610.5	(+)	611.0000>303.1000	4.355	132666	34807
Beta-carotène <sup>h</sup>	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub>	536.87	(+)	537.1000>280.9500	6.307	3760778	369261
Acide 2-méthoxybenzoïque <sup>i</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	152.15	(+)	153.0500>135.0000	4.652	877531	246224
Acide kojique <sup>j</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	142.11	(+)	142.7500>40.9500	3.525	39902	8847
Acide oléanolique <sup>k</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	456.7	(+)	457.3000>411.4000	6.203	524296	107729
Acide sinapique <sup>i</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	224.21	(+)	225.0000>207.1500	4.229	2765189	706408
Acide caféique <sup>i</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	180.16	(-)	179.1500>135.0000	3.407	47736503	6477656
Acide p-Coumarique <sup>i</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	164.16	(-)	163.0500>118.9500	3.874	3223067	844101
Acide vanillique <sup>i</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	168.15	(-)	166.9500>151.9000	3.299	858713	150646

<sup>a</sup>: flavane-3-ol (flavanol), <sup>b</sup>: flavonol, <sup>c</sup>: stilbène, <sup>d</sup>: flavone, <sup>e</sup>: flavanone, <sup>f</sup>: sécoiridoïde, <sup>g</sup>: curcuminoïde, <sup>h</sup>: carotène, <sup>i</sup>: acide phénolique, <sup>j</sup>: pyranone et ses dérivés, <sup>k</sup>: triterpénoïde pentacyclique

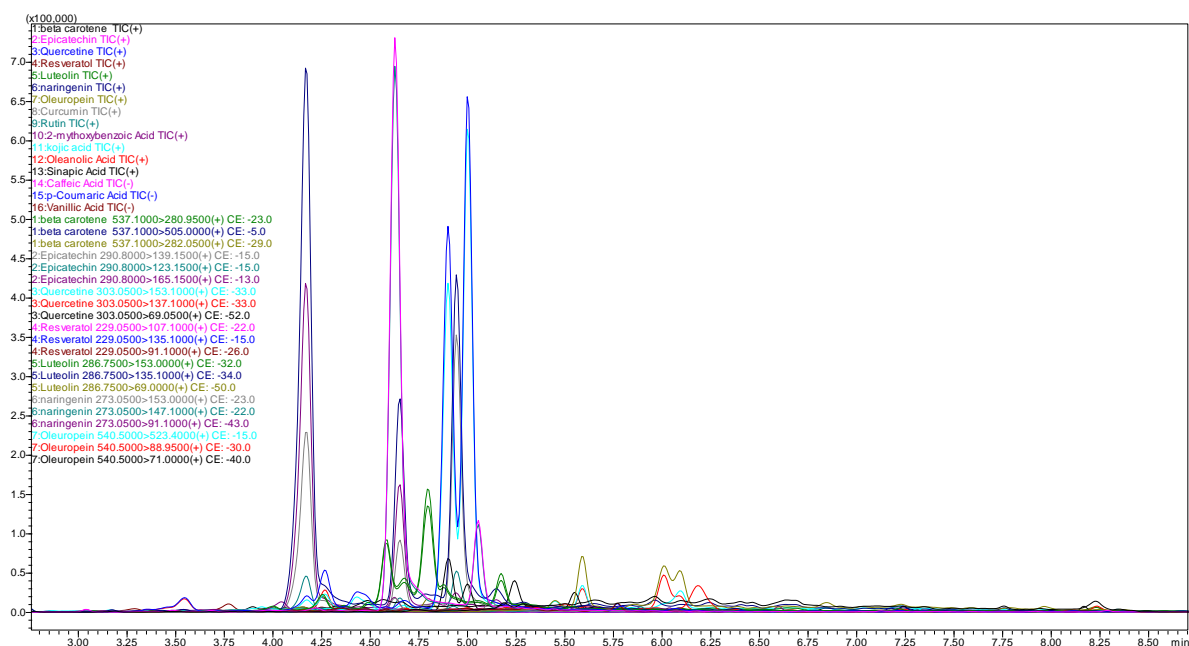
Au total, 16 composés phytochimiques ont été identifiés et quantifiés dans la fraction acétate d'éthyle de *S. officinalis* : cinq acides phénoliques, deux flavonols, un flavane-3-ol (flavanol), un flavone, un flavanone, un stilbène, un sécoiridoïde, un curcuminoïde, un carotène, un triterpénoïde pentacyclique et un pyranone et ses dérivés. Dans notre étude, l'acide caféique était le composé le plus abondant (aire de pic=6477656) dans la fraction acétate d'éthyle de *S. officinalis* (**Tableau N°14**).

**Jasicka-Misiak et al. (2018)**, ont identifié 11 acides phénoliques et 6 flavonoïdes dans les extraits de *S. officinalis*. Nos résultats sont en accord avec ceux des études antérieures, qui ont montré que cette espèce végétale contient plusieurs composants phénoliques, dont les acides phénoliques (acide vanillique, caféique, et p-coumarique) et les flavonoïdes (quercétine et lutéoline) [(**Lu et Foo, 2002**) ; (**Roby et al., 2013**) ; (**Jasicka-Misiak et al., 2018**)]. En revanche, d'autres recherches ont mis en évidence la présence de monoterpènes dans les extraits de cette plante, notamment le 1,8-cinéole, l' $\alpha$ - et le  $\beta$ -thuyone, et le camphre, ainsi que des diterpènes tels que le carnosol, l'acide carnosique, le manool et le rosmadial. Ils révèlent en outre la présence de triterpènes, tels que l'acide oléanolique [(**Glisic et al., 2011**) ; (**Jokić et al., 2018**) ; (**Sharma et al., 2020**)]. Ce dernier a également été identifié dans notre étude dans la fraction acétate d'éthyle de *S. officinalis*.

Il est important de noter que les conditions de récolte et la région géographique ont une influence significative sur la composition phytochimique de l'extrait végétal (**Jakovljević et al., 2019**).

### **13.2. Identification des composés phytochimiques présents dans la fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique**

Le chromatogramme LC-ESI-MS/MS de la fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique est illustré dans la **figure N°25**.



**Figure N° 25. Chromatogramme LC-ESI-MS/MS de la fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique**

Comme l'illustre le chromatogramme ci-dessus, divers constituants phytochimiques ont été détectés dans la fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique, chaque constituant est associé à différents pics entre 3.774 et 8.233 minutes. Le pic le plus important, observé à 5.003 minutes et associé à la transition  $m/z$  303.0500>153.1000, correspond à la quercétine, qui est l'un des principaux flavonoïdes identifiés. La quercétine présente une activité antimicrobienne remarquable, elle inhibe la prolifération de nombreuses espèces bactériennes et fongiques par l'induction de lésions de la membrane cellulaire microbienne et l'altération de sa perméabilité. Elle inhibe également la production de protéines et d'acides nucléiques, ainsi que la formation des biofilms chez les microorganismes (Nguyen et Bhattacharya, 2022).

Les résultats relatifs à l'identification quantitative des composés phytochimiques présents dans la fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique par LC-ESI-MS/MS sont regroupés dans le **tableau N°15**.

Tableau N° 15. Composés phytochimiques identifiés dans la fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique par LC-ESI-MS/MS

Nom de composé	Formule moléculaire	Poids moléculaire	Charge ESI (+/-)	Transition m/z	Temps de rétention	Hauteur de pic	Aire de pic
Epicatechine <sup>a</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	290.27	(+)	290.8000>139.1500	4.629	62561	17084
Quercétine <sup>b</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	302.23	(+)	303.0500>153.1000	5.003	2038976	604290
Resvératol <sup>c</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	228.24	(+)	229.0500>107.1000	4.481	6421	1531
Lutéoline <sup>d</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	286.24	(+)	286.7500>153.0000	4.799	445713	109929
Naringénine <sup>e</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	272.25	(+)	273.0500>153.0000	4.946	1174348	344612
Oleuropéine <sup>f</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	540.5	(+)	540.5000>88.9500	6.011	189770	44239
Curcumine <sup>g</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>	368.4	(+)	368.9000>177.0500	5.118	33721	10499
Rutine <sup>b</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	610.5	(+)	611.0000>303.1000	4.246	8284	2572
Beta-carotène <sup>h</sup>	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub>	536.87	(+)	537.1000>280.9500	8.233	11010	3528
Acide 2-méthoxybenzoïque <sup>i</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	152.15	(+)	153.0500>135.0000	6.040	12313	4650
Acide kojique <sup>j</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	142.11	(+)	142.7500>40.9500	4.152	15823	2026
Acide oléanolique <sup>k</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	456.7	(+)	457.3000>411.4000	6.191	116434	21919
Acide sinapique <sup>i</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	224.21	(+)	225.0000>207.1500	5.244	81999	24720
Acide caféique <sup>i</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	180.16	(-)	179.1500>135.0000	4.515	2339	583
Acide p-Coumarique <sup>i</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	164.16	(-)	163.0500>118.9500	3.838	11289	2069
Acide vanillique <sup>i</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	168.15	(-)	166.9500>151.9000	3.774	39596	8814

<sup>a</sup>: flavane-3-ol (flavanol), <sup>b</sup>: flavonol, <sup>c</sup>: stilbène, <sup>d</sup>: flavone, <sup>e</sup>: flavanone, <sup>f</sup>: sécoiridoïde, <sup>g</sup>: curcuminoïde, <sup>h</sup>: carotène, <sup>i</sup>: acide phénolique, <sup>j</sup>: pyranone et ses dérivés, <sup>k</sup>: triterpénoïde pentacyclique

Au total, 16 composés phytochimiques ont été identifiés et quantifiés dans la fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique : cinq acides phénoliques, deux flavonols, un flavane-3-ol (flavanol), un flavone, un flavanone, un stilbène, un sécoiridoïde, un curcuminoïde, un carotène, un triterpénoïde pentacyclique et un pyranone et ses dérivés (**Tableau N°15**). Ces résultats sont en accord avec ceux d'**Abdel-Farid et al. (2014)**, qui ont rapporté que le genre *Acacia* contient plusieurs composés phytochimiques, notamment des flavonoïdes, de même qu'avec ceux d'**Elnour et al. (2018)**, qui ont identifié la présence de resvératrol et de la quercétine dans la gomme arabique (GA). Dans notre étude, la quercétine était le composé majoritaire (aire de pic= 604290) dans la fraction acétate d'éthyle de GA (**Tableau N°15**).

Selon l'étude de **Seigler (2003)**, les espèces d'*Acacia* sont caractérisées par la présence de tanins condensés et de tanins hydrolysables. Notre analyse a révélé une absence totale de ces métabolites secondaires dans la fraction acétate d'éthyle de la gomme arabique.

La composition phytochimique de la gomme arabique peut varier en fonction de plusieurs facteurs, notamment l'origine géographique, l'âge des arbres, les conditions climatiques et les propriétés caractéristiques du sol (**Mariod, 2018**).

# **Quatrième partie :**

# **Conclusion générale**

La cavité buccale est le reflet de l'état de santé général. Elle abrite plusieurs structures anatomiques, telles que les dents, la gencive et la langue, lesquelles hébergent une diversité de micro-organismes, incluant bactéries et levures. Cette communauté microbienne, appelée microbiote, varie selon les sites. La langue, par exemple, présente un microbiote plus complexe et plus diversifié que celui des autres tissus mous de la bouche. Le microbiote lingual, qui existe principalement sous forme de biofilm, est dans un état d'équilibre et joue des rôles fondamentaux pour la santé bucco-dentaire et systémique. Toute perturbation de cet équilibre peut entraîner diverses affections, telles que les maladies parodontales et les caries, elles-mêmes associées à des pathologies systémiques comme le diabète et l'hypertension. Dans ce contexte, le maintien de la santé buccale et générale nécessite une prévention et un traitement efficaces de ces maladies.

En dentisterie, un éventail de méthodes thérapeutiques est employé pour les traiter. Cependant, outre leur coût élevé, ces traitements peuvent s'accompagner d'effets indésirables. Face à ces enjeux, il devient impératif d'explorer des approches alternatives à la fois efficaces, économiques et dépourvues d'effets secondaires.

Sur la base de ce constat, les objectifs de cette étude étaient les suivants :

- Caractériser le microbiote lingual de patients atteints de pathologies bucco-dentaires et le comparer à celui de patients sains.
- Déterminer la sensibilité aux antibiotiques et antifongiques de souches microbiennes isolées.
- Évaluer la cytotoxicité et l'activité antimicrobienne de *S. officinalis* (Sauge) et de la gomme arabique.
- Mesurer la capacité de souches isolées à former des biofilms *in vitro* et évaluer l'inhibition de ces biofilms par des agents antimicrobiens et des produits végétaux (Sauge et gomme arabique).
- Déterminer la composition phytochimique de *S. officinalis* et de la gomme arabique par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).

Les principaux résultats de cette étude sont les suivants :

- Les femmes sont plus touchées par la xérostomie, la gingivite et les caries, tandis que les hommes sont plus sensibles à la parodontite.

- Sur 184 prélèvements effectués, 136 se sont révélés positifs. Aucune différence significative n'a été observée dans la distribution des familles microbiennes entre les faces dorsale et ventrale de la langue ( $p = 0,706$ ).
- 234 souches ont été isolées et identifiées ; *S. aureus* et *C. albicans* sont prédominantes, tant chez les patients atteints de maladies bucco-dentaires que chez les sujets sains.
- Les staphylocoques se sont montrés sensibles à la majorité des antibiotiques testés. En revanche, 60 % des bactéries à Gram négatif étaient multirésistantes.
- Toutes les souches de *Candida* spp. se sont avérées sensibles à l'amphotéricine B.
- Les tests de cytotoxicité ont montré que les extraits de sauge et de gomme arabique n'induisent qu'une faible hémolyse.
- En mode planctonique, les extraits végétaux inhibent la croissance de la majorité des bactéries et de toutes les levures testées.
- Toutes les souches testées forment des biofilms, avec une intensité variable selon les trois milieux de culture utilisés.
- Pour les biofilms mono-espèces de 24 h, le milieu BHIB favorise la formation des biofilms de *Staphylococcus* spp., tandis que le milieu RPMI-1640 stimule celle des biofilms de *Candida* spp.
- Pour les biofilms mono-espèces de 48 h, le milieu TSB facilite la production de biofilms par *Staphylococcus* spp. et *Candida* spp. La majorité des bactéries à Gram négatif sont des formatrices modérées de biofilms après 24 et 48 heures d'incubation dans les trois milieux.
- Concernant les biofilms multi-espèces, 78 % et 67 % d'entre eux produisent une plus grande biomasse en milieu RPMI-1640 après, respectivement, 24 et 48 heures d'incubation.
- L'inhibition des biofilms nécessite des concentrations minimales inhibitrices (CMI) plus élevées pour les antimicrobiens et les extraits végétaux bruts que celles observées en mode planctonique. Les fractions d'acétate d'éthyle de la sauge et de la gomme arabique présentent une puissante activité anti-biofilm.
- L'analyse phytochimique de ces fractions à l'acétate d'éthyle a révélé la présence de plusieurs composés bioactifs, notamment des flavonoïdes et des acides phénoliques.

### **Perspectives de recherche**

Cette étude ouvre la voie à plusieurs prolongements :

- Élargir l'échantillonnage à différentes régions d'Algérie pour obtenir une vision plus représentative du microbiote lingual national.

- Visualiser les biofilms linguaux par microscopie électronique.
- Évaluer la toxicité *in vivo* de *S. officinalis* et de la gomme arabique.
- Étudier l'effet synergique d'une part entre la sauge et la gomme arabique, et d'autre part entre ces produits végétaux et les agents antimicrobiens conventionnels (antibiotiques, antifongiques).
- Purifier les composés bioactifs identifiés dans *S. officinalis* et la gomme arabique, puis tester leur activité antimicrobienne et anti-biofilm.
- Élaborer des formulations pharmaceutiques à base exclusive de sauge ou de gomme arabique pour la prévention et le traitement des maladies bucco-dentaires.

**Cinquième partie :**  
**Références**  
**bibliographiques**

1. Ababneh, K. T., Abu Hwajj, Z. M. F., & Khader, Y. S. (2012). Prevalence and risk indicators of gingivitis and periodontitis in a multi-centre study in North Jordan: a cross sectional study. *BMC Oral Health*, *12*(1), 1–8.
2. Abbas, M. H., Al-Yasseen, A. K., & Alhamadi, W. W. (2017). Prevalence of *Staphylococcus aureus* among gingivitis in patient with orthodontic wires in Kufa City/Iraq. *Pakistan Journal of Biotechnology*, *14*(1), 91–96.
3. Abdalla, N. M., Osman, A. A., Haimour, W. O., Sarhan, M. A., Mohammed, M. N., Zyad, E. M., & Al-Ghtani, A. M. (2013). Antimicrobial susceptibility pattern in nosocomial infections caused by *Acinetobacter* species in Asir Region, Saudi Arabia. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *16*(6), 275–280.
4. Abdel-Farid, I. B., Sheded, M. G., & Mohamed, E. A. (2014). Metabolomic profiling and antioxidant activity of some *Acacia* species. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *21*(5), 400–408.
5. Abdullah, M. J. (2015). Prevalence of xerostomia in patients attending Shorish dental speciality in Sulaimani city. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, *7*(1), e45.
6. Abe, S., Ishihara, K., & Okuda, K. (2001). Prevalence of potential respiratory pathogens in the mouths of elderly patients and effects of professional oral care. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, *32*(1), 45–55.
7. Abebe, G. M. (2021). Oral biofilm and its impact on oral health, psychological and social interaction. *International Journal of Oral and Dental Health*, *7*, 127.
8. Acar, B., Berker, E., Tan, Ç., İlarıslan, Y. D., Tekçiçek, M., & Tezcan, İ. (2019). Effects of oral prophylaxis including tongue cleaning on halitosis and gingival inflammation in gingivitis patients—a randomized controlled clinical trial. *Clinical Oral Investigations*, *23*, 1829–1836.
9. Adler, C. J., Dobney, K., Weyrich, L. S., Kaidonis, J., Walker, A. W., Haak, W., ... & Cooper, A. (2013). Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and Industrial revolutions. *Nature Genetics*, *45*(4), 450–455.
10. Adolfsson, A., Lenér, F., Marklund, B., Mossberg, K., & Çevik-Aras, H. (2022). Prevalence of dry mouth in adult patients in primary health care. *Acta Odontologica Scandinavica*, *80*(8), 605–610.
11. Adoui, K., & Bouaoune, M. (2022). Activité antibactérienne de la gomme arabique provenant de l'*Acacia* sp. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimı de Bordj Bou Arréridj. Mémoire de Master.

12. Agha-Hosseini, F., Mirzaii-Dizgah, I., Mansourian, A., & Khayamzadeh, M. (2009). Relationship of stimulated saliva  $17\beta$ -estradiol and oral dryness feeling in menopause. *Maturitas*, 62(2), 197–199.
13. Akdeniz, B. G., Koparal, E., Şen, B. H., Ateş, M., & Denizci, A. A. (2002). Prevalence of *Candida albicans* in oral cavities and root canals of children. *Journal of Dentistry for Children*, 69(3), 289–292.
14. Al-Ahmad, A., Auschill, T. M., Dakhel, R., Wittmer, A., Pelz, K., Heumann, C., ... & Arweiler, N. B. (2015). Prevalence of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* in caries-free and caries-active children in relation to the oral microbiota—a clinical study. *Clinical Oral Investigations*, 20(8), 1963–1971.
15. Al Alawi, S. M., Hossain, M. A., & Abusham, A. A. (2018). Antimicrobial and cytotoxic comparative study of different extracts of Omani and Sudanese Gum *acacia*. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(1), 22–26.
16. Albuquerque, P., & Casadevall, A. (2012). Quorum sensing in fungi—a review. *Medical Mycology*, 50(4), 337–345.
17. Alfakry, H., Malle, E., Koyani, C. N., Pussinen, P. J., & Sorsa, T. (2016). Neutrophil proteolytic activation cascades: a possible mechanistic link between chronic periodontitis and coronary heart disease. *Innate Immunity*, 22(1), 85–99.
18. Ali, S., Nasir, N., Masood, A., & Bashir, U. (2012). Prevalence of gingivitis in patients visiting Islamic International Dental Hospital. *Annals of Pakistan Institute of Medical Sciences*, 8(2), 150–152.
19. Al-Jubori, Y., Ahmed, N. T. B., Albusaidi, R., Madden, J., Das, S., & Sirasanagandla, S. R. (2023). The efficacy of gum Arabic in managing diseases: A systematic review of evidence-based clinical trials. *Biomolecules*, 13(1), 138.
20. Alkanani, N., Alburaiki, M., Alhabib, A., Alabsi, W., Alasmari, H., Alqahtani, G., & Sayed Abdul, N. (2022). Prevalence of xerostomia and its associated risk factors among Saudi population: a cross-sectional survey. *F1000Research*, 11, 1154.
21. Al-Khawlany, R. S., Edrees, W. H., AL-Jaufy, A. Y., Nasher, M. A., Al-Shehari, W. A., Reem, A., & Almezgagi, M. M. (2021). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and antibacterial susceptibility among patients with skin and soft tissue infection at Ibb City, Yemen. *PSM Microbiology*, 6(1), 1–11.
22. Allaker, R. P., Waite, R. D., Hickling, J., North, M., McNab, R., & Bosma, M. P. (2008). Topographic distribution of bacteria associated with oral malodour on the tongue. *Archives of Oral Biology*, 53, S8–S12.

23. Al-Mohamed, H. I., & Amin, T. T. (2010). Pattern and prevalence of smoking among students at King Faisal University, Al Hassa, Saudi Arabia. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 16(1).
24. Almstahl, A., & Wikstrom, M. (1999). Oral microflora in subjects with reduced salivary secretion. *Journal of Dental Research*, 78(8), 1410–1416.
25. Aloqbi, A. A. (2020). Gum Arabic as a natural product with antimicrobial and anticancer activities. *Archives of Pharmacy Practice*, 11(2–2020), 107–112.
26. Alshahrani, S., Alshuaibi, A., Alkhaldi, M., & Koppolu, P. (2021). Perception and knowledge of patients from different regions in the kingdom of Saudi Arabia towards oral hygiene and oral hygiene aids. *In Healthcare*, 9(5), 592.
27. Ammendolia, D. A., Bement, W. M., & Brumell, J. H. (2021). Plasma membrane integrity: implications for health and disease. *BMC Biology*, 19(1), 71.
28. Anand, U., Jacobo-Herrera, N., Altemimi, A., & Lakhssassi, N. (2019). A comprehensive review on medicinal plants as antimicrobial therapeutics: potential avenues of biocompatible drug discovery. *Metabolites*, 9(11), 258.
29. Ansari, M. A., Khan, H. M., Khan, A. A., Cameotra, S. S., Saquib, Q., & Musarrat, J. (2014). Gum arabic capped-silver nanoparticles inhibit biofilm formation by multi-drug resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Basic Microbiology*, 54(7), 688–699.
30. Ansiliero, R., Gelinski, J. M. L. N., Samistraro, Q. L., Baratto, C. M., Almeida, C. A., & Locatelli, C. (2021). Pathogenic microbial profile and antibiotic resistance associated with periodontitis. *Indian Journal of Microbiology*, 61, 55–65.
31. Antunes, A. L. S., Bonfanti, J. W., Perez, L. R. R., Pinto, C. C. F., Freitas, A. L. P. D., Macedo, A. J., & Barth, A. L. (2011). High vancomycin resistance among biofilms produced by *Staphylococcus* species isolated from central venous catheters. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106, 51–55.
32. Aoyama, N., Suzuki, J. I., Kumagai, H., Ikeda, Y., Akazawa, H., Komuro, I., ... & Isobe, M. (2018). Specific periodontopathic bacterial infection affects hypertension in male cardiovascular disease patients. *Heart and Vessels*, 33(2), 198–204.
33. Asakawa, M., Takeshita, T., Furuta, M., Kageyama, S., Takeuchi, K., Hata, J., ... & Yamashita, Y. (2018). Tongue microbiota and oral health status in community-dwelling elderly adults. *Msphere*, 3(4), 10–1128.

34. Ashour, M. A., Fatima, W., Imran, M., Ghoneim, M. M., Alshehri, S., & Shakeel, F. (2022). A review on the main phytoconstituents, traditional uses, inventions, and patent literature of gum Arabic emphasizing *Acacia seyal*. *Molecules*, 27(4), 1171.
35. Asih, D. W., Widodo, A. D. W., Setiabudi, R. J., Tyasningsih, W., & Wahyunitisari, M. R. (2023). Biofilm formation by the interaction of fungi (*Candida tropicalis*) with various bacteria. *Journal of Advanced Biotechnology and Experimental Therapeutics*, 6(1), 84–93.
36. Awad, S.S., Rabah, A., Hassan, I.A., & Mahmoud, T.E. (2016). *Acacia Seyal* gums in Sudan: A review. *University Of Khartoum Engineering Journal*, 6, 94–98.
37. Ballini, A., Dipalma, G., Isacco, C. G., Boccellino, M., Di Domenico, M., Santacrose, L., ... & Inchingolo, F. (2020). Oral microbiota and immune system crosstalk: a translational research. *Biology*, 9(6), 131.
38. Bansal, K., Chaudhary, R., Mathur, V. P., & Tewari, N. (2020). Comparison of oral micro-flora in caries active and caries free Indian children using culture techniques and PCR analysis. *Indian Journal of Dental Research*, 31(3), 420–425.
39. Barbadoro, P., Ponzio, E., Coccia, E., Prospero, E., Santarelli, A., Rappelli, G. G., & D'Errico, M. M. (2021). Association between hypertension, oral microbiome and salivary nitric oxide: a case-control study. *Nitric Oxide*, 106, 66–71.
40. Becheker, I., Becheker, A., Melakhessou, M. A., Marref, S. E., & Berredjem, H. (2022). Antibacterial, antifungal, cytotoxic and genotoxic activities of different extracts of arabic and myrrh gums. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 12(1), 20–27.
41. Benahmed, A. (2024). Étude des infections polymicrobiennes au centre hospitalo universitaire de Tlemcen. Université de Tlemcen. Thèse de doctorat.
42. Bendaas, R., Messaadia, L., Bekkar, Y., Bourougaa, L., & Messaoudi, A. (2025). Comprehensive *in vitro* and molecular docking analysis of antioxidant and antimicrobial properties of *Salvia officinalis* L. extracts and essential oils. *Journal of Molecular Structure*, 1331, 141621.
43. Bensmaine, N. A., & Bengrine, Y. (2024). Prospection sur la consommation du sucre et ses substituts chez la population de la région de Constantine. Université Frères Mentouri Constantine 1. Mémoire de master.
44. Berger, D., Rakhamimova, A., Pollack, A., & Loewy, Z. (2018). Oral biofilms: development, control, and analysis. *High-throughput*, 7(3), 24.

45. Bernardi, S., Continenza, M. A., Al-Ahmad, A., Karygianni, L., Follo, M., Filippi, A., & Macchiarelli, G. (2019). *Streptococcus* spp. and *Fusobacterium nucleatum* in tongue dorsum biofilm from halitosis patients: A fluorescence *in situ* hybridization (FISH) and confocal laser scanning microscopy (CLSM) study. *The New Microbiologica*, 42(2), 108–113.
46. Bertolini, M., Costa, R. C., Barão, V. A. R., Villar, C. C., Retamal-Valdes, B., Feres, M., & Silva Souza, J. G. (2022). Oral microorganisms and biofilms: new insights to defeat the main etiologic factor of oral diseases. *Microorganisms*, 10(12), 2413.
47. Bordas, A., McNab, R., Staples, A. M., Bowman, J., Kanapka, J., & Bosma, M. P. (2008). Impact of different tongue cleaning methods on the bacterial load of the tongue dorsum. *Archives of Oral Biology*, 53, S13–S18.
48. Brill, N., Tryde, G., Stoltze, K., & El Ghamrawy, E. A. (1977). Ecologic changes in the oral cavity caused by removable partial dentures. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 38(2), 138–148.
49. Brown, L. R., Dreizen, S., Handler, S., & Johnston, D. A. (1975). Effect of radiation-induced xerostomia on human oral microflora. *Journal of dental research*, 54(4), 740–750.
50. Bryan, N. S., Tribble, G., & Angelov, N. (2017). Oral microbiome and nitric oxide: the missing link in the management of blood pressure. *Current Hypertension Reports*, 19(4), 33.
51. Budtz-Jørgensen, E. (1990). Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. *Acta Odontologica Scandinavica*, 48(1), 61–69.
52. Burcham, Z. M., Garneau, N. L., Comstock, S. S., Tucker, R. M., Knight, R., & Metcalf, J. L. (2020). Patterns of oral microbiota diversity in adults and children: a crowdsourced population study. *Scientific Reports*, 10(1), 2133.
53. Calvo, J., & Martínez-Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 27(1), 44–52.
54. Cardoso, A. M. R., Cavalcanti, Y. W., de Almeida, L. D. F. D., de Lima Pérez, A. L. A., & Padilha, W. W. N. (2012). Antifungal activity of plant-based tinctures on *Candida*. *Revista Sul-Brasileira de Odontologia*, 9(1), 25–30.
55. Carmo, C. D. S., Ribeiro, M. R. C., Teixeira, J. X. P., Alves, C. M. C., Franco, M. M., França, A. K. T. C., ... & Ribeiro, C. C. C. (2018). Added sugar consumption and chronic oral disease burden among adolescents in Brazil. *Journal of Dental Research*, 97(5), 508–514.

56. Chavan, S. S., Damale, M. G., Shinde, D. B., & Sangshetti, J. N. (2018). Antibacterial and antifungal drugs from natural source: A review of clinical development. *Natural Products in Clinical Trials, 1*, 114–164.
57. Chen, P., Abercrombie, J. J., Jeffrey, N. R., & Leung, K. P. (2012). An improved medium for growing *Staphylococcus aureus* biofilm. *Journal of Microbiological Methods, 90*(2), 115–118.
58. Chen, B. Y., Lin, W. Z., Li, Y. L., Bi, C., Du, L. J., Liu, Y., ... & Duan, S. Z. (2023). Characteristics and correlations of the oral and gut fungal microbiome with hypertension. *Microbiology Spectrum, 11*(1), e01956–22.
59. Cho, H., Uehara, T., & Bernhardt, T. G. (2014). Beta-lactam antibiotics induce a lethal malfunctioning of the bacterial cell wall synthesis machinery. *Cell, 159*(6), 1300–1311.
60. Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M., & Beachey, E. H. (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: A quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology, 22*(6), 996–1006.
61. Chuang, C. Y., Sun, H. L., & Ku, M. S. (2018). Allergic rhinitis, rather than asthma, is a risk factor for dental caries. *Clinical Otolaryngology, 43*(1), 131–136.
62. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2008). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard-Third edition M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute.
63. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2012). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard-Ninth edition M07-A9. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.
64. Çolak, H., Dülgergil, Ç. T., Dalli, M., & Hamidi, M. M. (2013). Early childhood caries update: A review of causes, diagnoses, and treatments. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine, 4*(1), 29.
65. Colombo, A. P. V., do Souto, R. M., da Silva-Boghossian, C. M., Miranda, R., & Lourenço, T. G. B. (2015). Microbiology of oral biofilm-dependent diseases: have we made significant progress to understand and treat these diseases?. *Current Oral Health Reports, 2*, 37–47.
66. Colombo, A. P. V., Magalhães, C. B., Hartenbach, F. A. R. R., do Souto, R. M., & da Silva-Boghossian, C. M. (2016). Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance. *Microbial Pathogenesis, 94*, 27–34.

67. Correa, M. B., Peres, M. A., Peres, K. G., Horta, B. L., Gigante, D. P., & Demarco, F. F. (2010). Life-course determinants of need for dental prostheses at age 24. *Journal of Dental Research*, 89(7), 733–738.
68. Costalonga, M., & Herzberg, M. C. (2014). The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. *Immunology Letters*, 162(2), 22–38.
69. Costa, D. C., Costa, H. S., Albuquerque, T. G., Ramos, F., Castilho, M. C., & Sanches-Silva, A. (2015). Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications. *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 336–354.
70. Costa Oliveira, B. E., Ricomini Filho, A. P., Burne, R. A., & Zeng, L. (2021). The route of sucrose utilization by *Streptococcus mutans* affects intracellular polysaccharide metabolism. *Frontiers in Microbiology*, 12, 636684.
71. Cui, Y., Wang, Y., Zhang, Y., Pang, L., Zhou, Y., Lin, H., & Tao, Y. (2021). Oral mycobiome differences in various spatial niches with and without severe early childhood caries. *Frontiers in Pediatrics*, 9, 748656.
72. Dafar, A., Bankvall, M., Çevik-Aras, H., Jontell, M., & Sjöberg, F. (2017). Lingual microbiota profiles of patients with geographic tongue. *Journal of Oral Microbiology*, 9(1), 1355206.
73. Daniluk, T., Tokajuk, G., Stokowska, W., Fiedoruk, K., Sciepek, M., Zaremba, M. L., ... & Kedra, B. R. (2006). Occurrence rate of oral *Candida albicans* in denture wearer patients. *Advances in Medical Sciences*, 51, 77–80.
74. Daniyan, S. Y., & Abalaka, M. E. (2011). Prevalence and susceptibility pattern of bacterial isolates of dental caries in a secondary health care institution, Nigeria. *Shiraz E-Medical Journal*, 12(3), 135–139.
75. Darwazeh, A. M., & Darwazeh, T. A. (2014). What makes oral candidiasis recurrent infection? A clinical view. *Journal of Mycology*, 2014(1), 758394.
76. da Silva Farias, A. G., Cruz, G. S., Rodrigues, J. C., Benedito, F. C. S., de Sousa, D. F., & de Melo Leite, A. C. R. (2019). Bio-sociodemographic and economic aspects and their connection to the oral health behavior of Brazilian and non-Brazilian academics. *Acta Scientiarum. Health Sciences*, 41, 42649.
77. de Almeida Júnior, J. N., & Hennequin, C. (2016). Invasive *Trichosporon* infection: a systematic review on a re-emerging fungal pathogen. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1629.

78. Deeley, K., Letra, A., Rose, E. K., Brandon, C. A., Resick, J. M., Marazita, M. L., & Vieira, A. R. (2008). Possible association of amelogenin to high caries experience in a Guatemalan-Mayan population. *Caries Research*, *42*(1), 8–13.
79. De Jesus, V. C., Shikder, R., Oryniak, D., Mann, K., Alamri, A., Mittermuller, B., ... & Chelikani, P. (2020). Sex-based diverse plaque microbiota in children with severe caries. *Journal of Dental Research*, *99*(6), 703–712.
80. Demmitt, B. A., Corley, R. P., Huibregtse, B. M., Keller, M. C., Hewitt, J. K., McQueen, M. B., ... & Krauter, K. S. (2017). Genetic influences on the human oral microbiome. *BMC Genomics*, *18*, 1–15.
81. Deo, P. N., & Deshmukh, R. (2019). Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, *23*(1), 122–128.
82. Dhakal, B., Humagain, M., & Kafle, D. (2015). Prevalence of gingivitis among the patients visiting dental OPD of Dhulikhel hospital. *Journal of Nepal Dental Association*, *15*(1), 25.
83. Dinç, M., Pinar, N.M., Dogu, S., & Yildirimli, S. (2009). Micromorphological studies of *Lallemantia* l. (Lamiaceae) species growing in Turkey. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, *51*, 45–54.
84. Di Stefano, M., Polizzi, A., Santonocito, S., Romano, A., Lombardi, T., & Isola, G. (2022). Impact of oral microbiome in periodontal health and periodontitis: a critical review on prevention and treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(9), 5142.
85. Dos Santos, J. F., Tintino, S. R., de Freitas, T. S., Campina, F. F., Menezes, I. R. D. A., Siqueira-Júnior, J. P., ... & Cunha, F. A. (2018). *In vitro* e *in silico* evaluation of the inhibition of *Staphylococcus aureus* efflux pumps by caffeic and gallic acid. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, *57*, 22–28.
86. Dye, B. A., Tan, S., Smith, V., Barker, L. K., Thornton-Evans, G., Eke, P. I., & Beltrán-Aguilar, E. D. (2007). Trends in oral health status; United States, 1988-1994 and 1999-2004. *Vital and Health Statistics. Series 11, Data from the National Health Survey*, *248*, 1–92.
87. Eckert, M., Mizgalska, D., Sculean, A., Potempa, J., Stavropoulos, A., & Eick, S. (2018). *In vivo* expression of proteases and protease inhibitor, a serpin, by periodontal pathogens at teeth and implants. *Molecular Oral Microbiology*, *33*(3), 240–248.
88. Einhorn, O. M., Georgiou, K., & Tompa, A. (2020). Salivary dysfunction caused by medication usage. *Physiology International*, *107*(2), 195–208.

89. Eke, P. I., Dye, B. A., Wei, L., Thornton-Evans, G. O., & Genco, R. J. (2012). Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *Journal of Dental Research*, *91*(10), 914–920.
90. El-Azizi, M. A., Starks, S. E., & Khardori, N. (2004). Interactions of *Candida albicans* with other *Candida* spp. and bacteria in the biofilms. *Journal of Applied Microbiology*, *96*(5), 1067–1073.
91. Elebiary, D. M., Mahdy, H. M., Mansour, A. M., Amer, W. H., & Abu-Elghait, M. (2024). Evaluation of arabic gum antibacterial and wound healing activities against *Staphylococcus aureus* isolates obtained from skin infections. *Microbial Biosystems*, *9*(1), 129–138.
92. Eley, B. M. (1999). Antibacterial agents in the control of supragingival plaque—a review. *British Dental Journal*, *186*(6), 286–296.
93. Elkhodary, H. M., Abdelnabi, M. H., Swelem, A. A., Sabbagh, H. J., El Meligy, O. A. E. S., Talaat, I. M., ... & El Tantawi, M. (2023). Individual, familial and country-level factors associated with oral hygiene practices in children: an international survey. *BMC Oral Health*, *23*(1), 50.
94. Ellepola, K., Truong, T., Liu, Y., Lin, Q., Lim, T. K., Lee, Y. M., ... & Seneviratne, C. J. (2019). Multi-omics analyses reveal synergistic carbohydrate metabolism in *Streptococcus mutans*-*Candida albicans* mixed-species biofilms. *Infection and Immunity*, *87*(10), 10–1128.
95. Elnour, A. A. M., Mirghani, M. E. S., Kabbashi, N. A., Md Alam, Z., & Musa, K. H. (2018). Study of antioxidant and anti-inflammatory crude methanol extract and fractions of *Acacia seyal* gum. *American Journal of Pharmacotherapy and Pharmaceutical Sciences*, *5*(1), 3.
96. Elshanti, A., Aldirawi, A., Mehjez, A., Zaida, M., Nada, I. A., & Nada, M. A. (2020). Prevalence and severity of gingivitis in high school students in Gaza Strip-Palestine: Cross-sectional study. *Journal of Medical Research and Health Sciences*, *3*(9), 1098–1105.
97. Fakhruddin, K. S., Perera Samaranayake, L., Egusa, H., Ngo, H. C., & Pese, S. (2021). Profuse diversity and acidogenicity of the *candida*-biome of deep carious lesions of severe early childhood caries (S-ECC). *Journal of Oral Microbiology*, *13*(1), 1964277.
98. Falsetta, M. L., Klein, M. I., Colonne, P. M., Scott-Anne, K., Gregoire, S., Pai, C. H., ... & Koo, H. (2014). Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and

- Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms *in vivo*. *Infection and Immunity*, 82(5), 1968–1981.
99. Farsi, J. M. (2010). Dental visit patterns and periodontal treatment needs among Saudi students. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 16(7), 801–806.
100. Favari, M., Feres, M., Shibli, J. A., Hayacibara, R. F., Hayacibara, M. M., & De Figueiredo, L. C. (2006). Microbiota of the dorsum of the tongue after plaque accumulation: an experimental study in humans. *Journal of Periodontology*, 77(9), 1539–1546.
101. Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623–633.
102. Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563–575.
103. Forsblad-d'Elia, H., Carlsten, H., Labrie, F., Kontinen, Y. T., & Ohlsson, C. (2009). Low serum levels of sex steroids are associated with disease characteristics in primary Sjogren's syndrome; supplementation with dehydroepiandrosterone restores the concentrations. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(6), 2044–2051.
104. Galimanas, V., Hall, M. W., Singh, N., Lynch, M. D. J., Goldberg, M., Tenenbaum, H., ... & Senadheera, D. B. (2014). Bacterial community composition of chronic periodontitis and novel oral sampling sites for detecting disease indicators. *Microbiome*, 2(1), 32.
105. Gallus, S., Muttarak, R., Martínez-Sánchez, J. M., Zuccaro, P., Colombo, P., & La Vecchia, C. (2011). Smoking prevalence and smoking attributable mortality in Italy, 2010. *Preventive Medicine*, 52(6), 434–438.
106. Galvin, S., Anishchuk, S., Healy, C. M., & Moran, G. P. (2023). Smoking, tooth loss and oral hygiene practices have significant and site-specific impacts on the microbiome of oral mucosal surfaces: a cross-sectional study. *Journal of Oral Microbiology*, 15(1), 2263971.
107. Gamboa, F., García, D. A., Acosta, A., Mizrahi, D., Paz, A., Martínez, D., ... & Abba, M. (2013). Presence and antimicrobial profile of Gram-negative facultative anaerobe rods in patients with chronic periodontitis and gingivitis. *Acta Odontológica Latinoamericana*, 26(1), 24–30.

108. Gameiro, C., & Romao, F. (2010). Changes in the immune system during menopause and aging. *Frontiers in Bioscience (Elite edition)*, 2(4), 1299–1303.
109. García-Godoy, F., & Hicks, M. J. (2008). Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *The Journal of the American Dental Association*, 139, 25S–34S.
110. Ghezelbash, G. R., Parishani, M. R., & Fouani, M. H. (2015). Antimicrobial activity of *Salvia officinalis* acetone extract against pathogenic isolates. *Journal of Herbal Drugs*, 5(4), 215–218.
111. Ghojoghi, A., Khodavaisy, S., Mahmoudabadi, A. Z., Nazar, E., & Fatahinia, M. (2024). Exploring the diversity of uncommon oral yeast species and associated risk factors among substance abusers in southwestern Iran. *Scientific Reports*, 14(1), 1906.
112. Ghorbani, A., & Esmaeilzadeh, M. (2017). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(4), 433–440.
113. Giurazza, R., Mazza, M. C., Andini, R., Sansone, P., Pace, M. C., & Durante-Mangoni, E. (2021). Emerging treatment options for multi-drug-resistant bacterial infections. *Life*, 11(6), 519.
114. Glisic, S. B., Ristic, M., & Skala, D. U. (2011). The combined extraction of sage (*Salvia officinalis* L.): Ultrasound followed by supercritical CO<sub>2</sub> extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(1), 318–326.
115. Gorlenko, C. L., Kiselev, H. Y., Budanova, E. V., Zamyatnin Jr, A. A., & Ikryannikova, L. N. (2020). Plant secondary metabolites in the battle of drugs and drug-resistant bacteria: new heroes or worse clones of antibiotics?. *Antibiotics*, 9(4), 170.
116. Gourari-Bouzouina, K. (2024). Etude des altérations mixtes *Candida* sp./ bactéries Gram positives chez les enfants atteints de mucoviscidose dans l'ouest Algérien. Université de Tlemcen. Thèse de doctorat.
117. Grover, V., Jain, A., Kapoor, A., Malhotra, R., & Singh Chahal, G. (2016). The gender bender effect in periodontal immune response. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 16(1), 12–20.

118. Gülçin, I., Bursal, E., Şehitoğlu, M. H., Bilsel, M., & Gören, A. C. (2010). Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8–9), 2227–2238.
119. Hajishengallis, G., Darveau, R. P., & Curtis, M. A. (2012). The keystone-pathogen hypothesis. *Nature Reviews Microbiology*, 10(10), 717–725.
120. Hajishengallis, G., & Chavakis, T. (2021). Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nature Reviews Immunology*, 21(7), 426–440.
121. Han, Y. W., & Wang, X. (2013). Mobile microbiome: oral bacteria in extra-oral infections and inflammation. *Journal of Dental Research*, 92(6), 485–491.
122. Han, P., Suarez-Durall, P., & Mulligan, R. (2015). Dry mouth: a critical topic for older adult patients. *Journal of Prosthodontic Research*, 59(1), 6–19.
123. Hartmann, M., Berditsch, M., Hawecker, J., Ardakani, M. F., Gerthsen, D., & Ulrich, A. S. (2010). Damage of the bacterial cell envelope by antimicrobial peptides gramicidin S and PGLa as revealed by transmission and scanning electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(8), 3132–3142.
124. Hashim, N. T., Babiker, R., Rahman, M. M., Chaitanya, N. C., Mohammed, R., Dasnadi, S. P., & Gismalla, B. G. (2024). Gum Arabic as a potential candidate in quorum quenching and treatment of periodontal diseases. *Frontiers in Oral Health*, 5, 1459254.
125. Helgesen, E., Sætre, F., & Skarstad, K. (2021). Topoisomerase IV tracks behind the replication fork and the SeqA complex during DNA replication in *Escherichia coli*. *Scientific Reports*, 11(1), 474.
126. Hicks, J., Garcia-Godoy, F., & Flaitz, C. (2004). Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 1). *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 28(1), 47–52.
127. Higgins, P. G., Wisplinghoff, H., Stefanik, D., & Seifert, H. (2004). *In vitro* activities of the  $\beta$ -lactamase inhibitors clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam alone or in combination with  $\beta$ -lactams against epidemiologically characterized multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(5), 1586–1592.
128. Hoceini, A., Khelil, N. K., Ben-Yelles, I., Mesli, A., Ziouani, S., Ghellai, L., ... & Arab, M. (2016). Caries-related factors and bacterial composition of supragingival

- plaques in caries free and caries active Algerian adults. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(8), 720–726.
129. Hoceini, A. (2017). Caractérisation de la microflore constitutive du biofilm bucco-dentaire de la plaque supra-gingivale chez des sujets indemnes de caries dentaires et des sujets cariés. Université de Tlemcen. Thèse de doctorat.
130. Hornby, J. M., Jensen, E. C., Lisec, A. D., Tasto, J. J., Jahnke, B., Shoemaker, R., ... & Nickerson, K. W. (2001). Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(7), 2982–2992.
131. Hsu, P. C., Wu, H. K., Huang, Y. C., Chang, H. H., Lee, T. C., Chen, Y. P., ... & Lo, L.C. (2019). The tongue features associated with type 2 diabetes mellitus. *Medicine*, 98(19), e15567.
132. Hussain, M. B., Perumal, K., & Kumar, M. P. (2018). Knowledge, attitude, and practices toward oral hygiene maintenance among patients visiting a dental college. *Drug Invention Today*, 10(6).
133. Hussein, R. A., & El-Anssary, A. A. (2019). Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *Herbal medicine*, 1(3), 11–30.
134. Jain, R., Patil, S., Shivakumar, K. M., & Srinivasan, S. R. (2018). Sociodemographic and behavioral factors associated with early childhood caries among preschool children of Western Maharashtra. *Indian Journal of Dental Research*, 29(5), 568–574.
135. Jakovljević, M., Jokić, S., Molnar, M., Jašić, M., Babić, J., Jukić, H., & Banjari, I. (2019). Bioactive profile of various *Salvia officinalis* L. preparations. *Plants*, 8(3), 55.
136. Jasicka-Misiak, I., Poliwoda, A., Petecka, M., Buslovych, O., Shlyapnikov, V. A., & Wiczorek, P. P. (2018). Antioxidant phenolic compounds in *Salvia officinalis* L. and *Salvia sclarea* L. *Ecological Chemistry and Engineering*, 25(1), 133.
137. Jedidi, S., Aloui, F., Selmi, H., Rtibi, K., Dallali, S., Abbes, C., & Sebai, H. (2018). Ethnobotanical survey on the traditional use of officinal sage (*Salvia officinalis* L.) in Tabarka and Aïn Draham (Northwestern of Tunisia). *Journal of New Sciences*, 18, 3402–3412.
138. Jepsen, S., Caton, J. G., Albandar, J. M., Bissada, N. F., Bouchard, P., Cortellini, P., ... & Yamazaki, K. (2018). Periodontal manifestations of systemic

- diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 world workshop on the classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, 45, S219–S229.
139. Jesus, F., Gonçalves, A. C., Alves, G., & Silva, L. R. (2019). Exploring the phenolic profile, antioxidant, antidiabetic and anti-hemolytic potential of *Prunus avium* vegetal parts. *Food Research International*, 116, 600–610.
140. Jha, P., Ranson, M. K., Nguyen, S. N., & Yach, D. (2002). Estimates of global and regional smoking prevalence in 1995, by age and sex. *American Journal of Public Health*, 92(6), 1002–1006.
141. Jokić, S., Molnar, M., Jakovljević, M., Aladić, K., & Jerković, I. (2018). Optimization of supercritical CO<sub>2</sub> extraction of *Salvia officinalis* L. leaves targeted on oxygenated monoterpenes,  $\alpha$ -humulene, viridiflorol and manool. *The Journal of Supercritical Fluids*, 133, 253–262.
142. Joly-Guillou, M. L. (2005). Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clinical Microbiology and Infection*, 11(11), 868–873.
143. Kaan, A. M., Kahharova, D., & Zaura, E. (2021). Acquisition and establishment of the oral microbiota. *Periodontology 2000*, 86(1), 123–141.
144. Kassebaum, N. J., Smith, A. G., Bernabé, E., Fleming, T. D., Reynolds, A. E., Vos, T., ... & GBD 2015 Oral Health Collaborators. (2017). Global, regional, and national prevalence, incidence, and disability-adjusted life years for oral conditions for 195 countries, 1990–2015: a systematic analysis for the global burden of diseases, injuries, and risk factors. *Journal of Dental Research*, 96(4), 380–387.
145. Kawayanagi, T., Kawada-Matsuo, M., Takeshita, T., Le, M. N. T., Asakawa, M., Sugawara, Y., ... & Komatsuzawa, H. (2024). The oral cavity is a potential reservoir of Gram-negative antimicrobial-resistant bacteria, which are correlated with ageing and the number of teeth. *Heliyon*, 10(21).
146. Kępa, M., Mikłasińska-Majdanik, M., Wojtyczka, R. D., Idzik, D., Korzeniowski, K., Smoleń-Dzirba, J., & Wąsik, T. J. (2018). Antimicrobial potential of caffeic acid against *Staphylococcus aureus* clinical strains. *BioMed Research International*, 2018(1), 7413504.
147. Kerkoub, N., Panda, S. K., Yang, M. R., Lu, J. G., Jiang, Z. H., Nasri, H., & Luyten, W. (2018). Bioassay-guided isolation of anti-*Candida* biofilm compounds from methanol extracts of the aerial parts of *Salvia officinalis* (Annaba, Algeria). *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1418.

148. Khalil, R., & Li, Z. G. (2011). Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria. *African Journal of Biotechnology*, *10*(42), 8397–8402.
149. Khan, H., Sher, S. A., Hanif, M. I., Zemawal, N. A., Ahmad, A., Khan, F., & Daftani, M. H. (2024). Prevalence, proportions, and identities of antibiotic-resistant bacteria in the oral microflora of healthy children. *Cureus*, *16*(8).
150. Kim, G. Y., & Lee, C. H. (2015). Antimicrobial susceptibility and pathogenic genes of *Staphylococcus aureus* isolated from the oral cavity of patients with periodontitis. *Journal of Periodontal & Implant Science*, *45*(6), 223–228.
151. Kim, T. J., MacElroy, A. S., Defreitas, A., Shenker, B. J., & Boesze-Battaglia, K. (2024). A synthetic small molecule, LGM2605: A promising modulator of increased pro-inflammatory cytokine and osteoclast differentiation by *agggregatibacter actinomycetemcomitans* cytolethal distending toxin. *Dentistry Journal*, *12*(7), 195.
152. Kinane, D. F., Stathopoulou, P. G., & Papapanou, P. N. (2017). Periodontal diseases. *Nature reviews Disease Primers*, *3*(1), 1–14.
153. Kishi, M., Namioka, T., Onodera, N., Aizawa, F., Sekine, M., & Yonemitsu, M. (2012). Prevalence of tongue cleaning habit and related factors in healthy individuals in Iwate Prefecture, Japan. *Journal of Dental Health*, *62*(1), 14–22.
154. Kleinstein, S. E., Nelson, K. E., & Freire, M. (2020). Inflammatory networks linking oral microbiome with systemic health and disease. *Journal of Dental Research*, *99*(10), 1131–1139.
155. Kocher, T., König, J., Borgnakke, W. S., Pink, C., & Meisel, P. (2018). Periodontal complications of hyperglycemia/diabetes mellitus: Epidemiologic complexity and clinical challenge. *Periodontology 2000*, *78*(1), 59–97.
156. Kodori, M., Nikmanesh, B., Hakimi, H., & Ghalavand, Z. (2021). Antibiotic susceptibility and biofilm formation of bacterial isolates derived from pediatric patients with cystic fibrosis from Tehran, Iran. *Archives of Razi Institute*, *76*(2), 397–406.
157. Kong, E. F., Tsui, C., Kucharíková, S., Van Dijck, P., & Jabra-Rizk, M. A. (2017). Modulation of *Staphylococcus aureus* response to antimicrobials by the *Candida albicans* quorum sensing molecule farnesol. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *61*(12), 10–1128.
158. Koné, K. P. F. O., Soro, Y., & Siaka, S. (2017). Détermination des paramètres influençant le rendement d'extraction hydro-alcoolique des métabolites secondaires de

- Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) et *Tridax procumbens* Linn (Asteraceae). *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 44, 15–22.
159. Koukos, G., Sakellari, D., Arsenakis, M., Tsalikis, L., Slini, T., & Konstantinidis, A. (2015). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the oral cavity. *Archives of Oral Biology*, 60(9), 1410–1415.
160. Ksiazek, M., Mizgalska, D., Eick, S., Thøgersen, I. B., Enghild, J. J., & Potempa, J. (2015). KLIKK proteases of *Tannerella forsythia*: putative virulence factors with a unique domain structure. *Frontiers in Microbiology*, 6, 312.
161. Kulak, M. (2020). Recurrent drought stress effects on essential oil profile of Lamiaceae plants: An approach regarding stress memory. *Industrial Crops and Products*, 154, 112695.
162. Kumar, P., Nagarajan, A., & Uchil, P. D. (2018). Analysis of cell viability by the MTT assay. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018(6), pdb-prot095505.
163. Kurtzman, G. M., Horowitz, R. A., Johnson, R., Prestiano, R. A., & Klein, B. I. (2022). The systemic oral health connection: Biofilms. *Medicine*, 101(46), e30517.
164. Lamont, R. J., Koo, H., & Hajishengallis, G. (2018). The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 16(12), 745–759.
165. Laudенbach, J. M., & Simon, Z. (2014). Common dental and periodontal diseases: evaluation and management. *Medical Clinics*, 98(6), 1239–1260.
166. Lee, Y. H., Chung, S. W., Auh, Q. S., Hong, S. J., Lee, Y. A., Jung, J., ... & Hong, J. Y. (2021). Progress in oral microbiome related to oral and systemic diseases: an update. *Diagnostics*, 11(7), 1283.
167. Lee, S. H., Zhao, L., Park, S., Moore, L. V., Hamner, H. C., Galuska, D. A., & Blanck, H. M. (2023). High added sugars intake among US adults: Characteristics, eating occasions, and top sources, 2015–2018. *Nutrients*, 15(2), 265.
168. Leroy, R., Jara, A., Martens, L., & Declerck, D. (2011). Oral hygiene and gingival health in Flemish pre-school children. *Community Dental Health*, 28(1), 75.
169. Li, J., Quinque, D., Horz, H. P., Li, M., Rzhetskaya, M., Raff, J. A., ... & Stoneking, M. (2014). Comparative analysis of the human saliva microbiome from different climate zones: Alaska, Germany, and Africa. *BMC Microbiology*, 14, 1–13.

170. Li, J., Deng, Q., Yu, X., & Wang, W. (2020). Structural studies of a new fraction obtained by gradient ethanol precipitation from *Acacia seyal* gum. *Food Hydrocolloids*, *107*, 105932.
171. Li, Y., Cui, J., Liu, Y., Chen, K., Huang, L., & Liu, Y. (2021). Oral, tongue-coating microbiota, and metabolic disorders: a novel area of interactive research. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, *8*, 730203.
172. Li, X., Liu, Y., Yang, X., Li, C., & Song, Z. (2022). The oral microbiota: community composition, influencing factors, pathogenesis, and interventions. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 895537.
173. Ligtenberg, A. J. M., & Almståhl, A. (2015). Xerostomia and the oral microflora. In *Dry mouth: a clinical guide on causes, effects and treatments* (pp. 81–101). Springer.
174. Listl, S., Galloway, J., Mossey, P. A., & Marcenes, W. (2015). Global economic impact of dental diseases. *Journal of Dental Research*, *94*(10), 1355–1361.
175. Liu, L., Wu, R., Zhang, J., Shang, N., & Li, P. (2017). D-Ribose interferes with quorum sensing to inhibit biofilm formation of *Lactobacillus paraplantarum* L-ZS9. *Frontiers in Microbiology*, *8*, 1860.
176. Lobo, C. I. V., Rinaldi, T. B., Christiano, C. M. S., De Sales Leite, L., Barbugli, P. A., & Klein, M. I. (2019). Dual-species biofilms of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* exhibit more biomass and are mutually beneficial compared with single-species biofilms. *Journal of Oral Microbiology*, *11*(1), 1581520.
177. Loesche, W. (2007). Dental caries and periodontitis: contrasting two infections that have medical implications. *Infectious Disease Clinics of North America*, *21*(2), 471–502.
178. Lu, Y., & Foo, L. Y. (2002). Polyphenolics of *Salvia*—a review. *Phytochemistry*, *59*(2), 117–140.
179. Lu, J. J., Lo, H. J., Lee, C. H., Chen, M. J., Lin, C. C., Chen, Y. Z., ... & Wang, S. H. (2021). The use of MALDI-TOF mass spectrometry to analyze commensal oral yeasts in nursing home residents. *Microorganisms*, *9*(1), 142.
180. Lucia Macedo Paizan, M., & Fernando Vilela-Martin, J. (2014). Is there an association between periodontitis and hypertension?. *Current Cardiology Reviews*, *10*(4), 355–361.

181. Lukacs, J. R., & Largaespada, L. L. (2006). Explaining sex differences in dental caries prevalence: Saliva, hormones, and “life-history” etiologies. *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Association*, 18(4), 540–555.
182. Lukáč, M., Slobodníková, L., Mrva, M., Dušeková, A., Garajová, M., Kello, M., ... & Bittner Fialová, S. (2024). Caffeic Acid Phosphonium Derivatives: Potential selective antitumor, antimicrobial and antiprotozoal agents. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2), 1200.
183. Lundberg, J. O., & Govoni, M. (2004). Inorganic nitrate is a possible source for systemic generation of nitric oxide. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(3), 395–400.
184. Macfarlane, T. V., Kawecki, M. M., Cunningham, C., Bovaird, I., Morgan, R., Rhodes, K., & Watkins, R. (2011). Mouthwash use in general population: results from adult dental health survey in grampian, Scotland. *Journal of Oral & Maxillofacial Research*, 1(4), e2.
185. Mager, D. L., Haffajee, A. D., & Socransky, S. S. (2003). Effects of periodontitis and smoking on the microbiota of oral mucous membranes and saliva in systemically healthy subjects. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(12), 1031–1037.
186. Mahdi, S., Azzi, R., & Lahfa, F. B. (2020). Evaluation of *in vitro*  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory potential and hemolytic effect of phenolic enriched fractions of the aerial part of *Salvia officinalis* L. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 14(4), 689–694.
187. Mahfoudhi, N., Sessa, M., Chouaibi, M., Ferrari, G., Donsì, F., & Hamdi, S. (2014). Assessment of emulsifying ability of almond gum in comparison with gum arabic using response surface methodology. *Food Hydrocolloids*, 37, 49–59.
188. Maier, T. (2023). Oral microbiome in health and disease: Maintaining a healthy, balanced ecosystem and reversing dysbiosis. *Microorganisms*, 11(6), 1453.
189. Mamai-Homata, E., Polychronopoulou, A., Topitsoglou, V., Oulis, C., & Athanassouli, T. (2010). Periodontal diseases in Greek adults between 1985 and 2005-risk indicators. *International Dental Journal*, 60(4), 293–299.
190. Man, V. C., Neelakantan, P., & Yiu, C. K. (2024). The prevalence of *Candida albicans* and *Malassezia globosa* in preschool children with severe early childhood caries: A case-control study. *Healthcare*, 12(13), 1359.

191. Mariod, A. A. (2018). Chemical properties of gum Arabic. In: *Gum arabic* (pp. 67–73). Academic Press.
192. Marsh, P. D., & Percival, R. S. (2006). The oral microflora—friend or foe? Can we decide?. *International Dental Journal*, 56, 233–239.
193. Marsh, P. D. (2009). Dental plaque as a biofilm: the significance of pH in health and caries. *Compendium of Continuing Education in Dentistry (Jamesburg, NJ: 1995)*, 30(2), 76–78.
194. Martínez-Pabón, M. C., Isaza-Guzmán, D. M., Mira-López, N. R., García-Vélez, C., & Tobón-Arroyave, S. I. (2010). Screening for subgingival occurrence of Gram-negative enteric rods in periodontally diseased and healthy subjects. *Archives of Oral Biology*, 55(10), 728–736.
195. Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S., & Ferreira, I. C. (2015). Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. *Food chemistry*, 170, 378–385.
196. Mason, M. R., Chambers, S., Dabdoub, S. M., Thikkurissy, S., & Kumar, P. S. (2018). Characterizing oral microbial communities across dentition states and colonization niches. *Microbiome*, 6(1), 67.
197. Matsuda, S., Saito, T., Yoshida, H., Yoshimura, H., & Sano, K. (2019). Prevalence of tongue cleaning using a toothbrush: a questionnaire survey in Fukui Prefecture, Japan. *BioMed Research International*, 2019(1), 6320261.
198. McKeown, N. M., Dashti, H. S., Ma, J., Haslam, D. E., Kiefte-de Jong, J. C., Smith, C. E., ... & Herman, M. A. (2018). Sugar-sweetened beverage intake associations with fasting glucose and insulin concentrations are not modified by selected genetic variants in a ChREBP-FGF21 pathway: a meta-analysis. *Diabetologia*, 61, 317–330.
199. Mejía-Rubalcava, C., Alanís-Tavira, J., Argueta-Figueroa, L., & Legorreta-Reyna, A. (2012). Academic stress as a risk factor for dental caries. *International Dental Journal*, 62(3), 127–131.
200. Millen, A. E., Dahhan, R., Freudenheim, J. L., Hovey, K. M., Li, L., McSkimming, D. I., ... & Wactawski-Wende, J. (2022). Dietary carbohydrate intake is associated with the subgingival plaque oral microbiome abundance and diversity in a cohort of postmenopausal women. *Scientific Reports*, 12(1), 2643.
201. Miranda, T. T., Vianna, C. R., Rodrigues, L., Monteiro, A. S., Rosa, C. A., & Corrêa Jr, A. (2009). Diversity and frequency of yeasts from the dorsum of the tongue

- and necrotic root canals associated with primary apical periodontitis. *International Endodontic Journal*, 42(9), 839–844.
202. Miranda-Rius, J., Brunet-Llobet, L., Lahor-Soler, E., & Farré, M. (2015). Salivary secretory disorders, inducing drugs, and clinical management. *International Journal of Medical Sciences*, 12(10), 811.
203. Mocan, A., Babotă, M., Pop, A., Fizeşan, I., Diuzheva, A., Locatelli, M., ... & Crişan, G. (2020). Chemical constituents and biologic activities of sage species: A comparison between *Salvia officinalis* L., *S. glutinosa* L. and *S. transsylvanica* (schur ex griseb. & schenk) schur. *Antioxidants*, 9(6), 480.
204. Mohammed, M. M. A., Al Kawas, S., & Al-Qadhi, G. (2025). The tongue microbiome: A gateway to systemic health and disease. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology*, 37(4), 733–742.
205. Mokhtari, R., Kazemi Fard, M., Rezaei, M., Moftakharzadeh, S. A., & Mohseni, A. (2023). Antioxidant, antimicrobial activities, and characterization of phenolic compounds of thyme (*Thymus vulgaris* L.), Sage (*Salvia officinalis* L.), and thyme–sage mixture extracts. *Journal of Food Quality*, 2023(1), 2602454.
206. Monea, A., Monea, M., Pop, D., & Beresescu, G. (2014). Tongue microflora and periodontal disease. *European Scientific Journal*, 10(36).
207. Monteiro, L. C., RIbeiro, I. L. A., Batista, R. F. B. D., Maciel, P. P., Valença, A. M. G., Dulgheroff, A. C. B., ... & Bonan, P. R. F. (2019). *Candida* on oral cavity of pediatric individuals with ALL and its susceptibility to nystatin and amphotericin B. *RGO-Revista Gaúcha de Odontologia*, 67, e20190018.
208. Moran, J. M. (2008). Home-use oral hygiene products: mouthrinses. *Periodontology 2000*, 48(1).
209. Mosafa, E., Yahyaabadi, S., & Doudi, M. (2014). *In-vitro* antibacterial properties of sage (*Salvia officinalis*) ethanol extract against multidrug resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 16(10), 42–46.
210. Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1–2), 55–63.
211. Mukherjee, P. K., Wang, H., Retuerto, M., Zhang, H., Burkey, B., Ghannoum, M. A., & Eng, C. (2017). Bacteriome and mycobiome associations in oral tongue cancer. *Oncotarget*, 8(57), 97273.

212. Munoz Aguilera, E., Suvan, J., Buti, J., Czesnikiewicz-Guzik, M., Barbosa Ribeiro, A., Orlandi, M., ... & D'Aiuto, F. (2020). Periodontitis is associated with hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Cardiovascular Research*, 116(1), 28–39.
213. Murdoch, F. E., Sammons, R. L., & Chapple, I. L. C. (2004). Isolation and characterization of subgingival staphylococci from periodontitis patients and controls. *Oral Diseases*, 10(3), 155–162.
214. Nacsá-Farkas, E., Kerekes, E., Kerekes, E. B., Krisch, J., Roxana, P., Vlad, D. C., ... & Vágvolgyi, C. (2014). Antifungal effect of selected european herbs against *Candida albicans* and emerging pathogenic non-albicans *Candida* species. *Acta Biologica Szegediensis*, 58(1), 61–64.
215. Nadig, S. D., Ashwathappa, D. T., Manjunath, M., Krishna, S., Annaji, A. G., & Shivaprakash, P. K. (2017). A relationship between salivary flow rates and *Candida* counts in patients with xerostomia. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 21(2), 316.
216. Namal, N., Can, G., Vehid, S., Koksál, S., & Kaypmaz, A. (2008). Dental health status and risk factors for dental caries in adults in Istanbul, Turkey. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 14(1).
217. Naseem, M., Khiyani, M. F., Nauman, H., Zafar, M. S., Shah, A. H., & Khalil, H. S. (2017). Oil pulling and importance of traditional medicine in oral health maintenance. *International Journal of Health Sciences*, 11(4), 65.
218. Nasr, A. M., Abdel-Sater, M. A., Hussein, N. A. G., Daniala, A., & Edrees, M. F. (2023). Mycobiota associated with teeth, oral cavity, and their relevant to dental and periodontal diseases. *Assiut University Journal of Multidisciplinary Scientific Research*, 52(2), 195–231.
219. Nasir, O. (2013). Renal and extrarenal effects of gum arabic (*Acacia senegal*)- what can be learned from animal experiments?. *Kidney and Blood Pressure Research*, 37(4–5), 269–279.
220. Nasir, E. F. (2023). Dental caries level among patients attending dental clinics complex at King Faisal University, Saudi Arabia: A retrospective study. *Saudi Journal of Oral Sciences*, 10(2), 66–71.
221. Navazesh, M., Wood, G. J., & Brightman, V. J. (1995). Relationship between salivary flow rates and *Candida albicans* counts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 80(3), 284–288.

222. Nazir, M. A., AlGhamdi, L., AlKadi, M., AlBejan, N., AlRashoudi, L., & AlHussan, M. (2018). The burden of diabetes, its oral complications and their prevention and management. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 6(8), 1545.
223. Ndebele, P. (2013). The Declaration of Helsinki, 50 years later. *JAMA*, 310(20), 2145–2146.
224. Nguyen, T. L. A., & Bhattacharya, D. (2022). Antimicrobial activity of quercetin: an approach to its mechanistic principle. *Molecules*, 27(8), 2494.
225. Ng, E., Tay, J. R. H., Boey, S. K., Laine, M. L., Ivanovski, S., & Seneviratne, C. J. (2024). Antibiotic resistance in the microbiota of periodontitis patients: an update of current findings. *Critical Reviews in Microbiology*, 50(3), 329–340.
226. Nie, S. P., Wang, C., Cui, S. W., Wang, Q., Xie, M. Y., & Phillips, G. O. (2013). A further amendment to the classical core structure of gum arabic (*Acacia senegal*). *Food Hydrocolloids*, 31(1), 42–48.
227. Nyvad, B., & Takahashi, N. (2020). Integrated hypothesis of dental caries and periodontal diseases. *Journal of Oral Microbiology*, 12(1), 1710953.
228. Ober, C., Loisel, D. A., & Gilad, Y. (2008). Sex-specific genetic architecture of human disease. *Nature Reviews Genetics*, 9(12), 911–922.
229. O'Connor, A. M., McManus, B. A., Kinnevey, P. M., Brennan, G. I., Fleming, T. E., Cashin, P. J., ... & Coleman, D. C. (2018). Significant enrichment and diversity of the staphylococcal arginine catabolic mobile element ACME in *Staphylococcus epidermidis* isolates from subgingival peri-implantitis sites and periodontal pockets. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1558.
230. Oka, I., Shigeishi, H., & Ohta, K. (2022). Co-infection of oral *Candida albicans* and *Porphyromonas gingivalis* is associated with active periodontitis in middle-aged and older Japanese people. *Medicina*, 58(6), 723.
231. O'Toole, G., Kaplan, H. B., & Kolter, R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology*, 54(1), 49–79.
232. Paleczny, J., Brożyna, M., Dudek-Wicher, R., Dydak, K., Oleksy-Wawrzyniak, M., Madziała, M., ... & Junka, A. (2022). The medium composition impacts *Staphylococcus aureus* biofilm formation and susceptibility to antibiotics applied in the treatment of bone infections. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11564.

233. Palmer, J., Flint, S., & Brooks, J. (2007). Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34(9), 577–588.
234. Pammi, M., Liang, R., Hicks, J., Mistretta, T. A., & Versalovic, J. (2013). Biofilm extracellular DNA enhances mixed species biofilms of *Staphylococcus epidermidis* and *Candida albicans*. *BMC Microbiology*, 13(1), 257.
235. Panda, S. K. (2014). Ethno-medicinal uses and screening of plants for antibacterial activity from Similipal Biosphere Reserve, Odisha, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(1), 158–175.
236. Panda, S. K., Mohanta, Y. K., Padhi, L., Park, Y. H., Mohanta, T. K., & Bae, H. (2016). Large scale screening of ethnomedicinal plants for identification of potential antibacterial compounds. *Molecules*, 21(3), 293.
237. Patangia, D. V., Anthony Ryan, C., Dempsey, E., Paul Ross, R., & Stanton, C. (2022). Impact of antibiotics on the human microbiome and consequences for host health. *Microbiology Open*, 11(1), e1260.
238. Pereira, D. F. A., Seneviratne, C. J., Koga-Ito, C. Y., & Samaranayake, L. P. (2018). Is the oral fungal pathogen *Candida albicans* a cariogen?. *Oral Diseases*, 24(4), 518–526.
239. Patel, S., & Goyal, A. (2015). Applications of natural polymer gum arabic: A review, *International Journal of Food Properties*, 18(5), 986–998.
240. Patir, A., Seymen, F., Yildirim, M., Deeley, K., Cooper, M. E., Marazita, M. L., & Vieira, A. R. (2008). Enamel formation genes are associated with high caries experience in Turkish children. *Caries Research*, 42(5), 394–400.
241. Petersen, P. E., Bourgeois, D., Ogawa, H., Estupinan-Day, S., & Ndiaye, C. (2005). The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bulletin of The World Health Organization*, 83, 661–669.
242. Peters, B. M., Ovchinnikova, E. S., Krom, B. P., Schlecht, L. M., Zhou, H., Hoyer, L. L., ... & Shirliff, M. E. (2012). *Staphylococcus aureus* adherence to *Candida albicans* hyphae is mediated by the hyphal adhesin Als3p. *Microbiology*, 158(12), 2975–2986.
243. Peters, B. A., Wu, J., Hayes, R. B., & Ahn, J. (2017). The oral fungal mycobiome: characteristics and relation to periodontitis in a pilot study. *BMC Microbiology*, 17, 1–11.

244. Petinate, S. D., Martins, R. M., Coelho, R. R., Meirelles, M. N. L., Branquinha, M. H., & Vermelho, A. B. (1999). Influence of growth medium in proteinase and pigment production by *Streptomyces cyaneus*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, *94*, 173–177.
245. Pierce, C. G., Uppuluri, P., Tristan, A. R., Wormley, F. L., Mowat, E., Ramage, G., & LopezRibot, J. L. (2008). A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. *Nature Protocols*, *3*(9), 1494–1500.
246. Pisano, M., Giordano, F., Sangiovanni, G., Capuano, N., Acerra, A., & D'Ambrosio, F. (2023). The interaction between the oral microbiome and systemic diseases: a narrative review. *Microbiology Research*, *14*(4), 1862–1878.
247. Pradeep, A. R., Agarwal, E., Bajaj, P., Naik, S. B., Shanbhag, N., & Uma, S. R. (2012). Clinical and microbiologic effects of commercially available gel and powder containing *Acacia arabica* on gingivitis. *Australian Dental Journal*, *57*(3), 312–318.
248. Preshaw, P. M., Heasman, L., Stacey, F., Steen, N., McCracken, G. I., & Heasman, P. A. (2005). The effect of quitting smoking on chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, *32*(8), 869–879.
249. Purgato, G. A., Píccolo, M. S., Moreira, M. A. S., Pizziolo, V. R., Diaz-Muñoz, G., Rossi, C. C., & Diaz, M. A. N. (2024). Isolation and identification of antimicrobial multicyclic terpenoids from the medicinal plant *Salvia officinalis* and development of a formulation against clinical *Staphylococcus aureus* strains. *Letters in Applied Microbiology*, *77*(8), ovae077.
250. Qian, M., Ismail, B. B., He, Q., Zhang, X., Yang, Z., Ding, T., ... & Guo, M. (2023). Inhibitory mechanisms of promising antimicrobials from plant byproducts: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *22*(4), 2523–2590.
251. Radunovic, M., Barac, M., Kuzmanovic Pfcicer, J., Pavlica, D., Jovanovic, A., Pucar, A., & Petrovic, S. (2022). Antifungal susceptibility of *Candida albicans* isolated from tongue and subgingival biofilm of periodontitis patients. *Antibiotics*, *11*(6), 802.
252. Raj, V., Kim, Y., Kim, Y. G., Lee, J. H., & Lee, J. (2022). Chitosan-gum arabic embedded alizarin nanocarriers inhibit biofilm formation of multispecies microorganisms. *Carbohydrate Polymers*, *284*, 118959.

253. Ranganathan, A. T., Sarathy, S., Chandran, C. R., & Iyan, K. (2017). Subgingival prevalence rate of enteric rods in subjects with periodontal health and disease. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 21(3), 224–228.
254. Rahouma, N., & Omar, K. D. (2023). A retrospective study on the prevalence of periodontal disease among Libyan adults. *Khalij-Libya Journal of Dental and Medical Research*, 7(2), 110–114.
255. Rani, P., Latha, M. B., Reddy, S. G., & Bilolikar, A. K. (2015). A study of *Acinetobacter* from various clinical specimens and its antibiotic sensitivity pattern in a tertiary care hospital. *Journal of Medical Science & Research*, 3(4), 162–165.
256. Relvas, M., López-Jarana, P., Monteiro, L., Pacheco, J. J., Braga, A. C., & Salazar, F. (2022). Study of prevalence, severity and risk factors of periodontal disease in a Portuguese population. *Journal of Clinical Medicine*, 11(13), 3728.
257. Ren, W., Zhang, Q., Liu, X., Zheng, S., Ma, L., Chen, F., ... & Xu, B. (2017). Exploring the oral microflora of preschool children. *Journal of Microbiology*, 55(7), 531–537.
258. Riley III, J. L., & Gilbert, G. H. (2001). Orofacial pain symptoms: an interaction between age and sex. *Pain*, 90(3), 245–256.
259. Roa, I., & Del Sol, M. (2018). Obesity, salivary glands and oral pathology. *Colombia Médica*, 49(4), 280–287.
260. Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A. H., & Khalel, K. I. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 43, 827–831.
261. Rodríguez-Archilla, A., & Piedra-Rosales, C. (2021). *Candida* species oral detection and infection in patients with diabetes mellitus: a meta-analysis. *Iberoamerican Journal of Medicine*, 3(2), 115–121.
262. Rosier, B. T., Moya-Gonzalvez, E. M., Corell-Escuin, P., & Mira, A. (2020). Isolation and characterization of nitrate-reducing bacteria as potential probiotics for oral and systemic health. *Frontiers in Microbiology*, 11, 555465.
263. Said-Al Ahl, H., Hussein, M. S., Gendy, A. S., & Tkachenko, K. G. (2015). Quality of sage (*Salvia officinalis* L.) essential oil grown in Egypt. *International Journal of Plant Science and Ecology*, 1(4), 119–123.

264. Sanchez, C. J., Mende, K., Beckius, M. L., Akers, K. S., Romano, D. R., Wenke, J. C., & Murray, C. K. (2013). Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. *BMC Infectious Diseases*, *13*, 1–12.
265. Sánchez-Vargas, L. O., Estrada-Barraza, D., Pozos-Guillen, A. J., & Rivas-Caceres, R. (2013). Biofilm formation by oral clinical isolates of *Candida* species. *Archives of Oral Biology*, *58*(10), 1318–1326.
266. Săndulescu, M., Sîrbu, V. D., & Popovici, I. A. (2023). Bacterial species associated with peri-implant disease—a literature review. *Germs*, *13*(4), 352.
267. Sannathimmappa, M. B., Nambiar, V., Aravindakshan, R., Al Khabori, M. S. J., Al-Flaiti, A. H. S., Al-Azri, K. N. M., ... & Al Kiyumi, A. R. M. (2021). Diabetic foot infections: Profile and antibiotic susceptibility patterns of bacterial isolates in a tertiary care hospital of Oman. *Journal of Education and Health Promotion*, *10*(1), 254.
268. Santos, P. S. D. S., Mariano, M., Kallas, M. S., & Vilela, M. C. N. (2013). Impact of tongue biofilm removal on mechanically ventilated patients. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, *25*, 44–48.
269. Santos, B. R. M. D., Demeda, C. F., Silva, E. E. N. F. D., Britto, M. H. M. F. D., Lima, K. C., & Melo, M. C. N. D. (2014). Prevalence of subgingival *Staphylococcus* at periodontally healthy and diseased sites. *Brazilian Dental Journal*, *25*(4), 271–276.
270. Sapaar, B., Nur, A., Hirota, K., Yumoto, H., Murakami, K., Amoh, T., ... & Miyake, Y. (2014). Effects of extracellular DNA from *Candida albicans* and pneumonia-related pathogens on *Candida* biofilm formation and hyphal transformation. *Journal of Applied Microbiology*, *116*(6), 1531–1542.
271. Scully Cbe, C. (2003). Drug effects on salivary glands: dry mouth. *Oral Diseases*, *9*(4), 165–176.
272. Seddiki, S. M. L. (2014). Evaluation de la formation des biofilms de *Candida* sp. isolées des dispositifs médicaux au CHU de Sidi Bel Abbès. Université de Tlemcen. Thèse de doctorat.
273. Seghir, A. (2015). Recherche de biofilms mixtes sur cathéters veineux périphériques au CHU de Tlemcen. Université de Tlemcen. Thèse de doctorat.
274. Seghir, A., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., Sari-Belkharroubi, L., & Anselme-Bertrand, I. (2015). Evaluation of mixed biofilm formation between *Candida albicans* and a variety of bacterial species isolated from peripheral catheters at

- Tlemcen CHU. First study in Algeria. *Journal de Mycologie Medicale*, 25(2), 123–129.
275. Seigler, D. S. (2003). Phytochemistry of *Acacia*—sensu lato. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(8), 845–873.
276. Seitz, M. W., Listl, S., Bartols, A., Schubert, I., Blaschke, K., Haux, C., & Van Der Zande, M. M. (2019). Current knowledge on correlations between highly prevalent dental conditions and chronic diseases: an umbrella review. *Preventing Chronic Disease*, 16, E132.
277. Shaiber, A., Willis, A. D., Delmont, T. O., Roux, S., Chen, L. X., Schmid, A. C., ... & Eren, A. M. (2020). Functional and genetic markers of niche partitioning among enigmatic members of the human oral microbiome. *Genome Biology*, 21, 1–35.
278. Sharma, N., Bhatia, S., Sodhi, A. S., & Batra, N. (2018). Oral microbiome and health. *AIMS Microbiology*, 4(1), 42.
279. Sharma, Y., Velamuri, R., Fagan, J., Schaefer, J., Streicher, C., & Stimson, J. (2020). Identification and characterization of polyphenols and volatile terpenoid compounds in different extracts of garden sage (*Salvia officinalis* L.). *Pharmacognosy Research*, 12(2).
280. Shehzad, S., Waheed, Z., Khan, K., Shah, M., Durrani, S. H., & Farooq, A. (2021). Comparison of periodontal diseases among genders in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *International Journal of Science and Innovative Research*, 2, 0100037IJESIR.
281. Sheiham, A., & James, W. P. T. (2014). A reappraisal of the quantitative relationship between sugar intake and dental caries: the need for new criteria for developing goals for sugar intake. *BMC Public Health*, 14, 1–8.
282. Shenker, B. J., Walker, L. P., Zekavat, A., Korostoff, J., & Boesze-Battaglia, K. (2022). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* cytolethal distending toxin induces cell cycle arrest in a glycogen synthase kinase (GSK)-3-dependent manner in oral keratinocytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11831.
283. Shinozaki, S., Moriyama, M., Hayashida, J. N., Tanaka, A., Maehara, T., Ieda, S., & Nakamura, S. (2012). Close association between oral *Candida* species and oral mucosal disorders in patients with xerostomia. *Oral Diseases*, 18(7), 667–672.
284. Shirzaiy, M., & Bagheri, F. (2016). Prevalence of xerostomia and its related factors in patients referred to Zahedan dental school in Iran. *Dental Clinical and Experimental Journal*, 2(1), e7138.

285. Shivaji, S., Nagapriya, B., & Ranjith, K. (2023). Differential susceptibility of mixed polymicrobial biofilms involving ocular coccoid bacteria (*Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis*) and a filamentous fungus (*Fusarium solani*) on *ex vivo* human corneas. *Microorganisms*, *11*(2), 413.
286. Silva, G. L., Lee, I. S., & Kinghorn, A. D. (1998). Special problems with the extraction of plants. *Natural Products Isolation*, 343–363.
287. Silva, L. N., Zimmer, K. R., Macedo, A. J., & Trentin, D. S. (2016). Plant natural products targeting bacterial virulence factors. *Chemical Reviews*, *116*(16), 9162–9236.
288. Singh, A. K., Prakash, P., Achra, A., Singh, G. P., Das, A., & Singh, R. K. (2017). Standardization and classification of *in vitro* biofilm formation by clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Global Infectious Diseases*, *9*(3), 93–101.
289. Solano, C., Echeverz, M., & Lasa, I. (2014). Biofilm dispersion and quorum sensing. *Current Opinion in Microbiology*, *18*, 96–104.
290. Spatafora, G., Li, Y., He, X., Cowan, A., & Tanner, A. C. (2024). The evolving microbiome of dental caries. *Microorganisms*, *12*(1), 121.
291. Splieth, C. H., Schwahn, C. H., Bernhardt, O., Kocher, T., Born, G., John, U., & Hensel, E. (2003). Caries prevalence in an adult population: results of the study of health in Pomerania, Germany (SHIP). *Oral Health & Preventive Dentistry*, *1*(2).
292. Stefanović, O., Mladenović, D., Mladenović, K., Grujović, M., & Ivanović, D. (2022). *Escherichia coli* biofilm formation and control by phenolic compounds from *Salvia officinalis* L. extracts. *Indian Journal of Experimental Biology*, *60*(10), 771–780.
293. Stöhr, J., Barbaresko, J., Neuenschwander, M., & Schlesinger, S. (2021). Bidirectional association between periodontal disease and diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Scientific Reports*, *11*(1), 13686.
294. Sudhakara, P., Gupta, A., Bhardwaj, A., & Wilson, A. (2018). Oral dysbiotic communities and their implications in systemic diseases. *Dentistry Journal*, *6*(2), 10.
295. Sulaiman, C. T., & Gopalakrishnan, V. K. (2013). Radical scavenging and *in vitro* hemolytic activity of aqueous extracts of selected *acacia* species. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *3*(3), 109–111.

296. Sumi, Y., Miura, H., Nagaya, M., Michiwaki, Y., & Uematsu, H. (2006). Colonisation on the tongue surface by respiratory pathogens in residents of a nursing home—a pilot study. *Gerodontology*, *23*(1), 55–59.
297. Supriya, H., Harishchandra, R., Suhasini, P. D., & Rajalekshmi, V. (2016). Pathogenic mechanism of *Candida albicans* in oral mucosa—A review. *International Journal of Health Sciences and Research*, *1*, 489–497.
298. Sutherland, I. W. (2001). Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology*, *147*(1), 3–9.
299. Szoke, J., & Petersen, P. E. (2004). State of oral health of adults and the elderly in Hungary. *Fogorvosi szemle*, *97*(6), 219–229.
300. Tan, Y., Leonhard, M., Ma, S., & Schneider-Stickler, B. (2016). Influence of culture conditions for clinically isolated non-albicans *Candida* biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*, *130*, 123–128.
301. Tan, Y., Leonhard, M., & Schneider-Stickler, B. (2017). Evaluation of culture conditions for mixed biofilm formation with clinically isolated non-albicans *Candida* species and *Staphylococcus epidermidis* on silicone. *Microbial Pathogenesis*, *112*, 215–220.
302. Teshome, A., Andualem, G., & Derese, K. (2020). Dental caries and associated factors among patients attending the University of Gondar Comprehensive Hospital Dental Clinic, North West Ethiopia: a hospital-based cross-sectional study. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*, 191–198.
303. The connection between thyroid problems and oral health (CTPOH). Consulté le 13 juin 2025, sur <https://granburydental.com/blog/the-connection-between-thyroid-problems-and-oral-health/>
304. Thiyahuddin, N. M., Lamping, E., Rich, A. M., & Cannon, R. D. (2019). Yeast species in the oral cavities of older people: A comparison between people living in their own homes and those in rest homes. *Journal of Fungi*, *5*(2), 30.
305. Tiwari, R., & Rana, C. S. (2015). Plant secondary metabolites: a review. *International Journal of Engineering Research and General Science*, *3*(5), 661–670.
306. Torres, S. R., Peixoto, C. B., Caldas, D. M., Silva, E. B., Akiti, T., Nucci, M., & de Uzeda, M. (2002). Relationship between salivary flow rates and *Candida* counts in subjects with xerostomia. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, *93*(2), 149–154.

307. Touil, H. F. Z. (2022). Formation et inhibition des biofilms mixtes (*Candida albicans*/bactéries) isolées des dispositifs médicaux au CHU de Tlemcen. Université de Tlemcen. Thèse de doctorat.
308. Toumi, Y., & Miloudi, Z. (2020). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire de *Salvia officinalis* L. Université Saad Dahleb Blida 1. Mémoire de master.
309. Traglia, G. M., Almuzara, M., Vilacoba, E., Tuduri, A., Neumann, G., Pallone, E. C., ... & Ramírez, M. S. (2014). Bacteremia caused by an *Acinetobacter junii* strain harboring class 1 integron and diverse DNA mobile elements. *Journal of Infection in Developing Countries*, 8(5):666–669.
310. Tsai, H. Y., Cheng, A., Liu, C. Y., Huang, Y. T., Lee, Y. C., Liao, C. H., & Hsueh, P. R. (2012). Bacteremia caused by *Acinetobacter junii* at a medical center in Taiwan, 2000–2010. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 31, 2737–2743.
311. Tuganbaev, T., Yoshida, K., & Honda, K. (2022). The effects of oral microbiota on health. *Science*, 376(6596), 934–936.
312. Uribe-García, A., Paniagua-Contreras, G. L., Monroy-Pérez, E., Bustos-Martínez, J., Hamdan-Partida, A., Garzón, J., ... & Vaca, S. (2021). Frequency and expression of genes involved in adhesion and biofilm formation in *Staphylococcus aureus* strains isolated from periodontal lesions. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 54(2), 267–275.
313. Urzúa, B., Hermosilla, G., Gamonal, J., Morales-Bozo, I., Canals, M., Barahona, S., ... & Cifuentes, V. (2008). Yeast diversity in the oral microbiota of subjects with periodontitis: *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* colonize the periodontal pockets. *Sabouraudia*, 46(8), 783–793.
314. Vaquero, M. R., Alberto, M. R., & De Nadra, M. M. (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 18(2), 93–101.
315. Villar-Vidal, M., Marcos-Arias, C., Eraso, E., & Quindós, G. (2011). Variation in biofilm formation among blood and oral isolates of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(9), 660–665.
316. vom Steeg, L. G., & Klein, S. L. (2016). SeXX matters in infectious disease pathogenesis. *PLoS Pathogens*, 12(2), e1005374.
317. Wang, S., Feng, Y., Han, X., Cai, X., Yang, L., Liu, C., & Shen, L. (2021). Inhibition of virulence factors and biofilm formation by wogonin attenuates

- pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 via targeting pqs quorum-sensing system. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12699.
318. Washio, J., Sato, T., Koseki, T., & Takahashi, N. (2005). Hydrogen sulfide-producing bacteria in tongue biofilm and their relationship with oral malodour. *Journal of Medical Microbiology*, 54(9), 889–895.
319. Weerasekera, M. M., Wijesinghe, G. K., Jayarathna, T. A., Gunasekara, C. P., Fernando, N., Kottegoda, N., & Samaranayake, L. P. (2016). Culture media profoundly affect *Candida albicans* and *Candida tropicalis* growth, adhesion and biofilm development. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111, 697–702.
320. Wei, G. X., & Bobek, L. A. (2004). *In vitro* synergic antifungal effect of MUC7 12-mer with histatin-5 12-mer or miconazole. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(5), 750–758.
321. WHO. (2020). Oral health. Consulté le 3 Juin 2025, sur <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
322. WHO. (2022a). Draft global strategy on oral health . In : Seventy- fifth World Health Assembly, Geneva. Consulté le 10 Juillet 2025, sur [https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA75/A75\\_10Add1](https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA75/A75_10Add1)
323. WHO. (2022b). Global oral health status report: towards universal health coverage for oral health by 2030. Consulté le 1 Juin 2025, sur <https://www.who.int/publications/i/item/9789240061484>
324. WHO. (2022c). Algeria, Oral health profile. Consulté le 8 Août 2025, sur [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/country-profiles/oral-health/oral-health-dza-2022-country-profile.pdf?sfvrsn=a5d1ff45\\_4&download=true](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/country-profiles/oral-health/oral-health-dza-2022-country-profile.pdf?sfvrsn=a5d1ff45_4&download=true)
325. Wijesinghe, G., Dilhari, A., Gayani, B., Kottegoda, N., Samaranayake, L., & Weerasekera, M. (2019). Influence of laboratory culture media on *in vitro* growth, adhesion, and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Medical Principles and Practice*, 28(1), 28–35.
326. Winnik, W. M., & Kitchin, K. T. (2008). Measurement of oxidative stress parameters using liquid chromatography–tandem mass spectroscopy (LC–MS/MS). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 233(1), 100–106.
327. Wolff, A., Joshi, R. K., Ekström, J., Aframian, D., Pedersen, A. M. L., Proctor, G., ... & Dawes, C. (2017). A guide to medications inducing salivary gland dysfunction, xerostomia, and subjective sialorrhea: a systematic review sponsored by the world workshop on oral medicine VI. *Drugs in R&D*, 17, 1–28.

328. Xiao, X. N., Wang, F., Yuan, Y. T., Liu, J., Liu, Y. Z., & Yi, X. (2019). Antibacterial activity and mode of action of dihydromyricetin from *Ampelopsis grossedentata* leaves against food-borne bacteria. *Molecules*, *24*(15), 2831.
329. Xu, X. L., Lee, R. T. H., Fang, H. M., Wang, Y. M., Li, R., Zou, H., ... & Wang, Y. (2008). Bacterial peptidoglycan triggers *Candida albicans* hyphal growth by directly activating the adenylyl cyclase Cyr1p. *Cell Host & Microbe*, *4*(1), 28–39.
330. Xu, X., He, J., Xue, J., Wang, Y., Li, K., Zhang, K., ... & Zhou, X. (2015). Oral cavity contains distinct niches with dynamic microbial communities. *Environmental Microbiology*, *17*(3), 699–710.
331. Yamazaki, K., & Kamada, N. (2024). Exploring the oral-gut linkage: Interrelationship between oral and systemic diseases. *Mucosal Immunology*, *17*(1), 147–153.
332. Yang, H., Ma, Y., Gao, H., Xie, X., Wang, H., Li, X., & Bai, Y. (2024). Supragingival microbiome variations and the influence of *Candida albicans* in adolescent orthodontic patients with gingivitis. *Journal of Oral Microbiology*, *16*(1), 2366056.
333. Yilmaz, M. A. (2020). Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants: A detailed, robust and comprehensive LC–MS/MS method validation. *Industrial Crops and Products*, *149*, 112347.
334. Yoon, Y. K., Kim, J., Moon, C., Lee, M. S., Hur, J., Lee, H., & Kim, S. W. (2019). Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from patients with intraabdominal infection in Korea: a multicenter study. *Journal of Korean Medical Science*, *34*(47).
335. Youbi, O. (2020). Etude de l'effet d'antimicrobiens sur des levures de *Candida albicans* isolées de la cavité buccale. Université de Tlemcen. Mémoire de master.
336. Yu-Hong, D., & Xing-Yu, Z. (2019). Study on the relationship between the structure of bacterial flora on the tongue and types of tongue coating in patients with type 2 diabetes mellitus. *Traditional Medicine Research*, *4*(6), 326.
337. Zahid, T. M., Wang, B. Y., & Cohen, R. E. (2011). The effects of thyroid hormone abnormalities on periodontal disease status. *Journal of the International Academy of Periodontology*, *13*(3), 80–85.

338. Zhang, J., Xuan, D., Fan, W., Zhang, X., Dibart, S., De Vizio, W., ... & Zhang, Y. P. (2010). Severity and prevalence of plaque-induced gingivitis in the Chinese population. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 31(8), 624–629.
339. Zhang, Y., He, J., He, B., Huang, R., & Li, M. (2019). Effect of tobacco on periodontal disease and oral cancer. *Tobacco Induced Diseases*, 17, 40.
340. Zhao, A., Sun, J., & Liu, Y. (2023). Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1137947.
341. Zheng, S., Wang, Y., Liu, H., Chang, W., Xu, Y., & Lin, F. (2019). Prediction of hemolytic toxicity for saponins by machine-learning methods. *Chemical Research in Toxicology*, 32(6), 1014–1026.
342. Zidani, B. (2023). Contribution à l'étude des bactéries à Gram positif isolées de la cavité buccale des enfants sains dans la région de Tlemcen. Université de Tlemcen. Mémoire de master.
343. Zimmermann, B. F., Walch, S. G., Tinzoh, L. N., Stühlinger, W., & Lachenmeier, D. W. (2011). Rapid UHPLC determination of polyphenols in aqueous infusions of *Salvia officinalis* L. (sage tea). *Journal of Chromatography B*, 879(24), 2459–2464.
344. Zitzmann, N. U., Haggmann, E., & Weiger, R. (2007). What is the prevalence of various types of prosthetic dental restorations in Europe?. *Clinical Oral Implants Research*, 18, 20–33.

# **Annexes**

## Annexe N°1:

### Questionnaire

Prélèvement N°:

Date:

Nom et prénom :

Sexe:  Homme

Femme

Age :

Motif de la consultation :  Soins  Contrôle

Fréquence de brossage des dents par jour :

< 1 fois  1 fois  2 fois  3 fois  > 3fois  Irrégulière

Brossage de langue :  Oui  Non

Utilisation de bains de bouche :

Non

Oui (détails) :

Consommation de sucres ajoutés:  Oui  Non

Port de prothèses dentaires :  Oui  Non

Tabagisme :  Oui  Non

Maladies bucco-dentaires :

Oui (détails):

Non :

Maladies systémiques :

Oui (détails) :

Non

Pharmacothérapie :

Non

Oui (détails) :

## Annexe N°2:

Liste d'antibiotiques utilisés pour *Staphylococcus* spp.

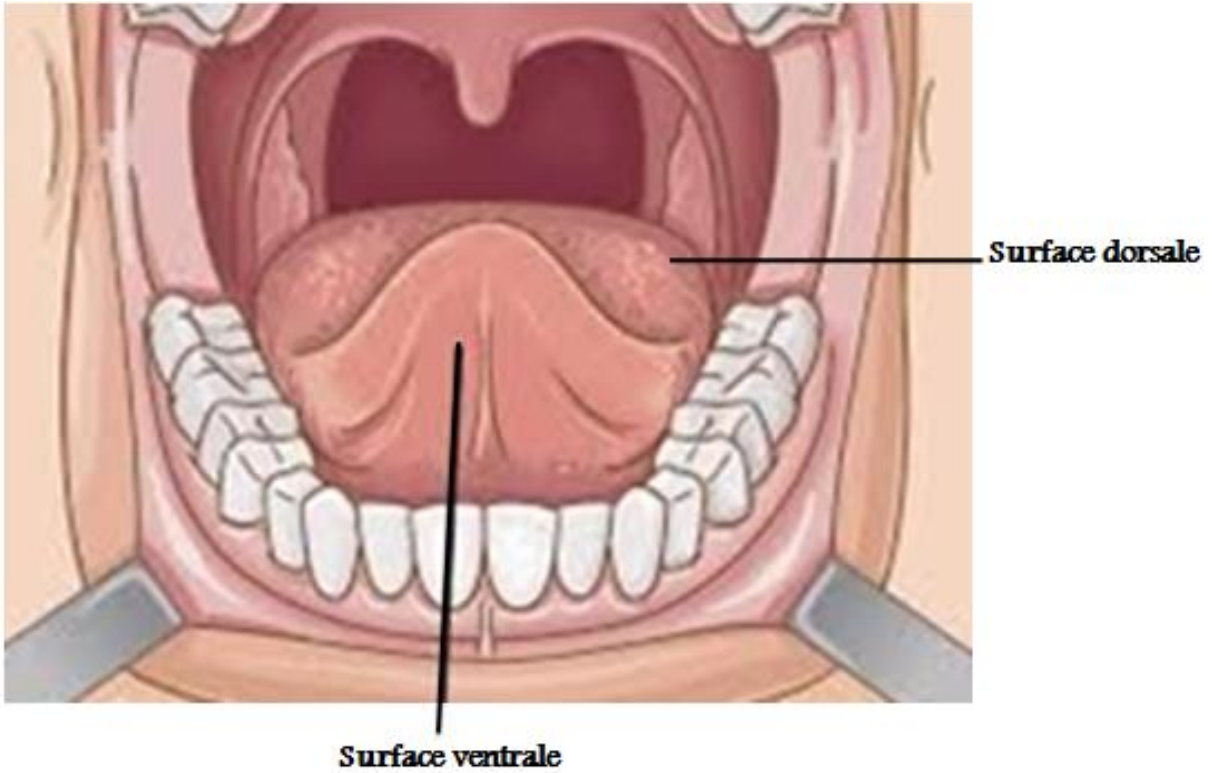
Famille	Antibiotique	Mécanisme d'action
<b>Aminosides</b>	Gentamicine Kanamycine	<b>Inhibition de la synthèse protéique</b>
<b>Lincosamides</b>	Clindamycine	
<b>Streptogramines</b>	Quinupristine/dalfopristine	
<b>Oxazolidinones</b>	Linézolide	
<b>Cyclines</b>	Tétracycline	
<i>Fusidanes</i>	Acide fusidique	
<b>Lipopeptides</b>	Daptomycine	<b>Dépolarisation de la membrane</b>
<b>Glycopeptides</b>	Téicoplanine Vancomycine	<b>Inhibition de la synthèse de la paroi</b>
<b>Bêta-lactamines</b>	Céfoxitine Oxacilline	
<b>Nitrofuranes</b>	Nitrofurantoïne	<b>Blocage de métabolisme</b>
<b>Rifamycines</b>	Rifampicine	<b>Blocage de la transcription</b>
<b>Antifolates</b>	Triméthoprim/sulfaméthoxazole	<b>Inhibition du métabolisme de l'acide folique</b>
<b>Fluoroquinolones</b>	Lévofloxacine	<b>Inhibition ADN gyrase + topoisomérase IV</b>

### Annexe N°3 :

Liste d'antibiotiques utilisés pour les bactéries à Gram négatif

<b>Famille</b>	<b>Antibiotique</b>	<b>Mécanisme d'action</b>
<b>Bêta--lactamines</b>	Ampicilline Amoxicilline/ acide clavulanique Pipéracilline/tazobactam Ticarcilline/acide clavulanique Pipéracilline Ticarcilline Ertapénème Imipénème Méropénème Céfazoline Céfotaxime Ceftazidime Céfépime	<b>Inhibition de la synthèse de la paroi</b>
<b>Aminosides</b>	Amikacine Gentamicine Tobramycine	<b>Inhibition de la synthèse protéique</b>
<b>Tétracyclines</b>	Minocycline	
<b>Fluoroquinolones</b>	Ciprofloxacine	<b>Inhibition ADN gyrase + topoisomérase IV</b>
<b>Nitrofuranes</b>	Nitrofurantoïne	<b>Blocage du métabolisme</b>
<b>Antifolates</b>	Triméthoprime/sulfaméthoxazole	<b>Inhibition du métabolisme de l'acide folique</b>
<b>Polymyxines</b>	Colistine	<b>Altération de la membrane cellulaire</b>

**Annexe N°4:**



**Schéma représentatif des surfaces linguales**

يحتوي اللسان على مجموعة كبيرة ومتنوعة من الكائنات الحية الدقيقة التي تتواجد في حالة توازن نشط. يؤدي اختلال هذا التوازن إلى العديد من الأمراض الفموية والعمامة. ارتكزت هذه الدراسة على عدة أهداف: عزل البكتيريا والخمائر المتواجدة على السطحين الظهري والبطني للسان لدى مرضى يعانون من أمراض فموية وأخرين أصحاء في المركز الاستشفائي الجامعي الدكتور تيجاني دمرجي - تلمسان بالجزائر، وتقييم قدرة بعض السلالات المعزولة على تكوين الأغشية الحيوية مخبرياً، بالإضافة إلى تحديد التركيز المثبط الأدنى للمضادات الحيوية ومضادات الفطريات والمستخلصات النباتية (*Salvia officinalis* والصمغ العربي) ضد هذه السلالات في كل من طور العوائل وطور الأغشية الحيوية. أظهرت النتائج وجود اختلاف في مدى الإصابة بأمراض الفم بين الرجال والنساء ( $P = 0,014$ ). بلغ معدل العزل الإجمالي للكائنات الحية الدقيقة من عينات اللسان 74 %. علاوة على ذلك، لم تكن هناك اختلافات ذات دلالة إحصائية في تنوع الكائنات الحية الدقيقة بين سطحي اللسان ( $P = 0,706$ ). كان النوع البكتيري السائد الذي تم عزله هو *Staphylococcus aureus* (13 %) في جفاف الفم، 16 % في التهاب اللثة، 18 % في التهاب دواعم السن، 18 % في نخر الأسنان و 24 % لدى الأفراد الأصحاء). بالإضافة إلى ذلك، كان النوع الفطري الأكثر شيوعاً هو *Candida albicans* (39 % في جفاف الفم، 36 % في التهاب اللثة، 18 % في التهاب دواعم السن، 25 % في نخر الأسنان و 21 % لدى الأفراد الأصحاء). كشفت نتائج اختبارات تكوين الأغشية الحيوية أن جميع السلالات التي تم اختبارها أظهرت قدرة على إنتاج أغشية حيوية بدرجات متفاوتة في أوساط الزرع الثلاثة المختارة. وأظهرت اختبارات تحديد التركيز المثبط الأدنى في طور العوائل أن المكورات العنقودية كانت حساسة لغالبية المضادات الحيوية التي تم اختبارها، في حين أن 60 % من البكتيريا سلبية الغرام كانت متعددة المقاومة. أما بالنسبة للخمائر، فقد كانت جميع عزلات *Candida spp.* حساسة للأمفوتريسين B. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت المستخلصات النباتية نسبة تحلل دموي منخفضة وكانت قادرة على تثبيط غالبية السلالات البكتيرية بالإضافة إلى جميع السلالات الفطرية. في طور الأغشية الحيوية، كانت التركيزات المثبطة الدنيا للأغشية الحيوية للمضادات الميكروبية والمستخلصات النباتية الأولية أعلى من تلك المسجلة في حالة العوائل. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت مستخلصات أسيتات الإيثيل لـ *S. officinalis* والصمغ العربي نشاطاً ملحوظاً مضاداً للأغشية الحيوية يعزى إلى تركيبها الغنية بمركبات نشطة بيولوجياً مثل حمض الكافيين والكيرسيتين، كما أكد ذلك التحليل باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة-مطياف الكتلة الترادفي.

**الكلمات المفتاحية:** اللسان، الميكروبات، أمراض الفم، الأغشية الحيوية، *Salvia officinalis*، الصمغ العربي.

## Résumé

La langue abrite une grande diversité de microorganismes qui coexistent dans un état d'équilibre dynamique. La perturbation de cet équilibre peut entraîner diverses maladies bucco-dentaires et systémiques. Cette étude avait pour objectifs : l'isolement et l'identification des bactéries et des levures présentes sur les surfaces linguales (dorsale et ventrale) de patients souffrant de maladies bucco-dentaires et de patients sains au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Dr. Tidjani Damerdj de Tlemcen, en Algérie ; l'évaluation de la capacité de certaines souches isolées à former des biofilms *in vitro* ; et la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des antibiotiques, des antifongiques et des extraits végétaux (*Salvia officinalis* et gomme arabique) vis-à-vis de ces souches, aussi bien en phase planctonique qu'en phase biofilm. Les résultats ont montré une différence de prévalence des maladies bucco-dentaires entre les hommes et les femmes ( $p = 0,014$ ). Au total, 74 % des échantillons de langue présentaient une colonisation microbienne. De plus, aucune différence significative n'a été observée dans la détection microbienne entre les deux surfaces linguales ( $p = 0,706$ ). L'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée était *Staphylococcus aureus* (13 % dans les cas de xérostomie, 13 % dans la gingivite, 16 % dans la parodontite, 18 % dans la carie dentaire et 24 % chez les patients sains). L'espèce fongique la plus fréquente était *Candida albicans* (39 % dans la xérostomie, 36 % dans la gingivite, 18 % dans la parodontite, 25 % dans la carie dentaire et 21 % chez les patients sains). Les tests de formation de biofilm ont révélé que toutes les souches testées étaient capables de former des biofilms, à des degrés variables, dans les trois milieux de culture utilisés. Par ailleurs, les tests de CMI en phase planctonique ont montré que les staphylocoques étaient sensibles à la majorité des antibiotiques testés, tandis que 60 % des bactéries à Gram négatif présentaient une multirésistance. En ce qui concerne les levures, toutes les souches de *Candida spp.* étaient sensibles à l'amphotéricine B. De plus, les extraits végétaux ont montré de faibles taux d'hémolyse et ont inhibé la majorité des souches bactériennes ainsi que la totalité des souches fongiques. En phase biofilm, les concentrations minimales inhibitrices des biofilms (SCMI) des agents antimicrobiens et des extraits végétaux bruts étaient supérieures à celles observées en phase planctonique. Enfin, les fractions d'acétate d'éthyle de *S. officinalis* et de la gomme arabique ont présenté une remarquable activité anti-biofilm, attribuable à leur composition riche en substances bioactives telles que l'acide caféique et la quercétine, comme l'a révélé l'analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).

**Mots clés :** Langue, microorganismes, maladies bucco-dentaires, biofilms, *Salvia officinalis*, gomme arabique.

## Abstract

The tongue harbours a wide variety of microorganisms that exist in a dynamic equilibrium. The disruption of this equilibrium can lead to a number of oral and systemic diseases. This study aimed to achieve the following objectives: to isolate and identify the bacteria and yeasts present on the dorsal and ventral surfaces of the tongue in patients suffering from oral diseases and in healthy patients at the Dr. Tidjani Damerdj University Hospital Center in Tlemcen, Algeria; to evaluate the ability of some isolated strains to form biofilms *in vitro*; and to determine the minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibiotics, antifungals, and plant extracts (*Salvia officinalis* and gum arabic) against these strains in both the planktonic and biofilm phases. The results showed a difference in the prevalence of oral diseases between men and women ( $P = 0,014$ ). Microbial alteration was observed in 74 % of the tongue samples. Furthermore, there were no significant differences in the detection of microorganisms between the two tongue surfaces ( $P = 0,706$ ). The most frequently isolated bacterial species was *Staphylococcus aureus* (13 % in xerostomia, 13 % in gingivitis, 16 % in periodontitis, 18 % in dental caries, and 24 % in healthy patients). In addition, the most common fungal species was *Candida albicans* (39 % in xerostomia, 36 % in gingivitis, 18 % in periodontitis, 25 % in dental caries, and 21 % in healthy patients). The biofilm formation assays revealed that all tested strains were capable of producing biofilms to varying degrees in the three selected culture media. MIC determinations in the planktonic phase revealed that staphylococci were sensitive to the majority of the tested antibiotics, while 60 % of Gram-negative bacteria were multi-drug resistant. As for yeasts, all *Candida spp.* strains were sensitive to amphotericin B. Furthermore, the plant extracts showed low hemolysis rates and were able to inhibit the majority of bacterial strains as well as all fungal strains. In the biofilm phase, the sessile minimum inhibitory concentrations (SMICs) of the antimicrobials and crude plant extracts were higher than those observed in the planktonic state. Moreover, the ethyl acetate fractions of *S. officinalis* and gum arabic showed remarkable anti-biofilm activity, attributable to their composition rich in bioactive substances such as caffeic acid and quercetin, as revealed by analysis using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS).

**Keywords:** Tongue, microorganisms, oral diseases, biofilms, *Salvia officinalis*, gum arabic.