



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à
l'environnement « LAMAABE »

THESE

Présentée par

M^{lle} Wafae Didi

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Biologie cellulaire et moléculaire
Option : Maîtrise du développement microbien

Evaluation de l'adhérence des souches de *Streptococcus* et *Enterococcus* buccales sur prothèses dentaires

Soutenue le 16 / 07 / 2025

Devant le jury

Président	Rebiahi Sid Ahmed	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice	Boublenza Lamia	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur	Ghellai Lotfi	Professeur	Université de Saïda
Examineur	Khadir Abdelmounaim	Maître de conférences A	Université d'Oran
Directrice de thèse	Hassaine Hafida	Professeur	Université de Tlemcen

Année universitaire 2024/2025

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement LAMAABE, université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen.

Je tiens particulièrement à remercier l'ex-directeur du laboratoire le professeur Moussa Boudjemaa Boumediène, responsable de la formation doctorale « Maîtrise du développement microbien » de m'y avoir accueilli.

J'exprime ma profonde gratitude à ma directrice de thèse, Professeur Hassaine Hafida, de l'université Abou Bekr Belkaid. Je vous remercie pour m'avoir fait l'honneur de diriger ce projet, pour m'avoir accompagné et guidé, pour votre soutien et votre disponibilité. Ces années passées à vos côtés m'ont transmis la passion pour la microbiologie et le travail de recherche. Votre dévouement et votre quête du travail parfait m'ont insufflé une rigueur et une qualité de soin. Sans votre dévouement, mon projet n'aurait pas pu être envisagé. Je vous en suis redevable, car en plus de m'octroyer votre direction, vous m'avez accordé patience et confiance durant les moments difficiles que j'ai vécu. J'ai toujours apprécié votre très grande ouverture face à mes conditions et la confiance que vous avez su garder en ma capacité à rendre ce projet à terme. Veuillez trouver ici, cher professeur, le fruit de la rigueur de votre instruction ainsi que l'expression de mon profond respect.

Je suis très sensible à l'honneur que me fait Professeur Rebiahi Sid Ahmed, directeur du laboratoire LAMAABE, de l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, en acceptant de présider le jury de cette thèse. Je vous remercie pour le soutien scientifique et moral pendant toutes ces années et je vous en suis reconnaissante. Votre gentillesse, vos qualités humaines et votre modestie n'ont rien d'égal que votre compétence. Veuillez trouver dans ce travail, cher professeur, l'expression de ma profonde estime.

Je remercie Professeur Boublenza Lamia de l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, de faire partie du jury de cette thèse. Je vous suis redevable de la qualité de vos enseignements. Votre passion, votre positivité, vos qualités professionnelles et humaines m'ont beaucoup inspiré. Veuillez accepter, cher professeur, dans ce travail l'assurance de mon estime et mon respect.

J'adresse mes plus vifs remerciements au Professeur Ghellai Lotfi, de l'université Dr Mouley Tahar de Saïda, qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail. Pour votre disponibilité, votre écoute et vos conseils avisés, permettez-moi de vous exprimer ma profonde gratitude. C'est un honneur de vous compter parmi les membres du jury. Veuillez trouver ici, cher professeur, l'expression de mon plus profond respect.

Je tiens à remercier Docteur Khadir Abdelmounaim, Maître de conférences A, de l'université Ahmed ben Bella d'Oran, pour avoir accepté de juger ce travail. J'ai toujours apprécié votre gentillesse et votre soutien lors du travail au laboratoire. Vous me faites l'honneur de siéger dans ce jury. Veuillez trouver ici, Monsieur, le témoignage de ma sincère gratitude.

Je tiens à remercier Monsieur le professeur Latrache Hassan de l'université Sultane Moulay Slimane Beni Mellal Maroc, pour avoir accepté de m'accueillir dans son laboratoire et de m'avoir aidé à compléter ce travail. Je suis reconnaissante de m'avoir permis de bénéficier de ses précieux conseils et du savoir-faire. Je souhaite associer à ces remerciements tous les membres de son équipe pour la sympathie, la bonne humeur et la disponibilité.

Merci de m'avoir initiée à la physico-chimie des surfaces ! Je garderai pour toujours la meilleure des impressions.

Beaucoup de remerciement pour Mme Oussaadit chef de service de prothèse dentaire Clinique Dentaire B, CHU de Tlemcen qui nous a facilité les moyens pour le travail.

J'exprime mes sincères remerciements à Mr Rahaoui A, prothésiste dentaire, pour ses conseils précieux, son temps et son aide pour la confection des pastilles en résine.

Ma profonde reconnaissance va à Madame Pr Claire Poyart, PU-PH Université Paris V, pour son intérêt scientifique et son aide dans la partie de l'identification bactérienne.

J'ai particulièrement apprécié la disponibilité et les compétences scientifiques de Monsieur le professeur Mabrouki M, Université Sultane Moulay Slimane, Béni Mellal, Maroc. Mes vifs remerciements pour son aide précieuse et la réalisation des imageries microscopiques AFM.

J'aimerais aussi remercier Mr Amirouche Saifi, Université Mouloud Mammeri, Tizi ouzou, pour avoir assuré les observations microscopiques MEBE et le montage des images.

Je ne saurais terminer sans souligner le soutien amical et chaleureux de mes collègues "Lamaabiens" qui m'ont soutenu durant ce parcours doctoral. Je m'abstiens de les nommer tellement la liste est longue. Je nommerai tout de même mon amie Dr Gaouar Sarah, que je remercie spécialement pour sa présence et ses appuis. Un clin d'œil de connivence à Mr Ilyes Zatla pour l'aide qu'il m'a apporté pour la publication de mon article.

Mille Merci à tous ceux qui de près ou de loin m'ont éclairé, d'un mot, d'une idée, d'un sourire ou d'une petite attention...

A ma mère

Car on aime sa mère presque sans le savoir, sans le sentir...
Car cela est naturel comme de vivre...
Car sans toi rien de tout cela n'a de sens...

A la mémoire de mon Papa

J'espère que tu seras fier de moi, même de là-haut...

A la mémoire de Sofiane

A toi mon frère d'âme...
On a des mots pour dire une peine légère, mais les grandes douleurs ne savent que se taire...

A la mémoire de ma collègue Asma SIB et ma meilleure amie Sheryfa

Vous êtes plus là où vous étiez, mais vous êtes partout là où je suis...

A tous ceux qui m'ont soutenu et cru en moi ...

“The mystery of life isn't a problem to solve, but a reality to experience”

Frank Herbert

Table de matières

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
INTRODUCTION	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	4
I. L'écosystème buccal : une microflore riche et complexe	5
I.1. Le genre <i>Streptococcus</i>	5
I.1.1. Classification	5
I.1.2. Description	8
I.2. Le genre <i>Enterococcus</i>	8
I.2.1. Classification	8
I.2.2. Description	10
I.3. La prothèse dentaire : un vecteur microbien	10
I.3.1. Le matériau prothétique	10
I.3.2. Plaque prothétique : Le biofilm	11
II. Adhésion bactérienne : première étape de la formation du biofilm	13
II.1. Interactions physicochimiques	13
II.1.1. Interactions électrostatiques	14
II.1.2. Interactions non électrostatiques	15
II.1.2.1. Interactions de Lifshitz-van der Waals (LW)	15
II.1.2.2. Interaction Lewis Acide Base (AB)	16
II.2. Modèles théoriques prédictifs de l'adhésion	17
II.2.1. Théorie de la thermodynamique	17
II.2.2. La théorie classique DLVO	17
II.2.3. La DLVO étendue (XDLVO)	17
II.3. Facteurs influençant l'adhésion	18
II.3.1. Les microorganismes	18
II.3.2. Le substrat	19
II.3.3. Le milieu environnant	20
III. Hygiène orale et phytothérapie	20
III.1. L'entretien des prothèses dentaires	20
III.2. Phytothérapie	21
III.2.1. <i>Juglans regia</i>	22
III.2.2. <i>Salvadora persica</i>	23
MATERIEL ET METHODES	26
I. Population étudiée : collecte de données	27
II. Prélèvement sur prothèses dentaires et culture bactérienne	27

III. Identification des genres bactériens <i>Streptococcus</i> et <i>Enterococcus</i>	27
IV. Evaluation de la capacité des souches à former des biofilms.....	29
IV.1. Evaluation qualitative.....	29
IV.2. Evaluation quantitative.....	29
V. Détermination de l'hydrophobicité des surfaces cellulaires.....	30
VI. Approche prédictive de l'adhésion bactérienne.....	30
VI.1. Préparations des suspensions bactériennes	32
VI.2. Surface solide	32
VI.3. Propriétés physico chimiques des surfaces	32
VI.4. Adhésion des souches bactériennes sur les supports de résine acrylique	33
VII. Activité antibactérienne des extraits de <i>Juglans regia</i> et de <i>Salvadora persica</i>	34
VII.1. Préparation des extraits	34
VII.2. Activité antibactérienne	35
VII.2.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	35
VII.2.3. Activité Anti-Biofilm.....	36
VIII. Effet des extraits sur l'adhérence des souches sur la résine acrylique	37
IX. Analyse microscopique des biofilms.....	37
IX.1. Microscopie à force atomique (AFM).....	37
IX.2. Microscopie électronique à balayage environnementale (MEBE).....	39
RESULTATS ET DISCUSSION	40
I. Résultats du questionnaire adressé aux patients porteurs de prothèses dentaires.....	41
II. Isolement et identification des souches de <i>Streptococcus</i> et <i>Enterococcus</i>	50
III. Détection de la capacité de la formation de biofilm	54
IV. Caractérisations physicochimiques des surfaces	60
IV.1. Détermination de l'hydrophobicité des surfaces bactériennes.....	60
IV.2. Caractérisation des propriétés physicochimiques des surfaces	61
IV.3. Approche thermodynamique de l'adhésion.....	64
V. Activité antibactérienne des extraits de <i>Salvadora persica</i> et <i>Juglans regia</i> sur les espèces buccales de <i>Enterococcus</i> et <i>Streptococcus</i>.....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
V.1. Le rendement en extrait	68
V.2. Résultat de l'activité antibactérienne sur milieu solide	69
V.3. Effet sur la croissance planctonique: détermination des CMI.....	70
V.4. Effet antibiofilm des extraits de <i>S.persica</i> et <i>J.regia</i>	73
V.4.1. Effet des extraits sur biofilms formés sur microplaques 96 puits.....	73
V.4.2. Effet des extraits sur biofilms formés sur supports en résine acrylique	75
VI. Analyses microscopiques des biofilms formés sur résine acrylique.....	76
CONCLUSION.....	80
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	83
ANNEXES	

Résumé

Le port de prothèses dentaires amovibles induit des changements environnementaux locaux, notamment chez les personnes âgées qui ne gardent pas leurs prothèses suffisamment propres. Une enquête auprès des patients édentés porteurs de prothèses est réalisée pour explorer leurs attitudes en matière d'hygiène buccal. La capacité de formation de biofilm par des espèces buccales de *Streptococcus* et *Enterococcus*, prélevées de prothèses dentaires amovibles, est évaluée qualitativement et quantitativement. Les propriétés physicochimiques des surfaces bactériennes et du biomatériau dentaire à base de résine acrylique sont déterminées et une approche prédictive théorique de l'adhésion est réalisée pour mieux comprendre le phénomène, pour arriver à l'évaluation de la rétention de ces bactéries buccales sur matériau prothétique après traitement aux extraits naturels. Nous rapportons et pour la première fois l'effet antibiofilm de deux bâtonnets à mâcher récolés au sud Algérien *Salvadora persica* et *Juglans regia*, sur des biofilms adhérents à la résine acrylique *in vitro* et visualisés par microscope électronique à balayage environnemental et à force atomique. Suite à notre audit, la plupart des participants ne sont pas très conscients de l'hygiène prothétiques et de ses diverses complications. Les résultats confirment l'intérêt de détermination des propriétés physico-chimiques des surfaces dans l'adhésion bactérienne. L'évaluation de l'activité des extraits a révélé que toutes les bactéries testées, planctoniques ou en biofilms, étaient plus sensibles après traitement, l'extrait de *J.regia* montrant une activité plus importante que *S. persica*. Ainsi, compte tenu de leur activité antibactérienne, ces extraits pourraient être d'un grand intérêt pour de futures études sur les agents anti-plaques naturels dans les produits de soins bucco-dentaires quotidiens.

Mots clés. Prothèse dentaire. Résine acrylique. *Streptococcus*. *Enterococcus*. Biofilm buccal. *Juglans regia*. *Salvadora persica*. Antibactériens.

Abstract

Wearing removable dentures induces local environmental changes, especially in the elderly who do not keep their dentures sufficiently clean. A survey of edentulous patients with dentures is conducted to explore their attitudes regarding oral hygiene. Oral *Streptococcus* and *Enterococcus* species isolated from removable dentures are evaluated qualitatively and quantitatively for their biofilm forming ability. The physico-chemical properties of bacterial surfaces and acrylic resin biomaterial are assessed and a theoretical predictive approach is carried out to enhance the understanding of adhesion phenomena. The retention of these oral bacteria on dentures after treatment with natural extracts is investigated. We report for the first time the antibiofilm effect of two chewing sticks harvested in southern Algeria *Salvadora persica* and *Juglans regia*, on artificial biofilms adhered to acrylic resin *in vitro* and visualized by environmental scanning electron microscopy and atomic force microscopy. According to our audit, most participants are not very aware of denture hygiene and its various complications. The findings support the interest in identifying the physico-chemical properties of surfaces in bacterial adhesion. The evaluation of extracts activity revealed that all tested bacteria, planktonic or in biofilms, were more sensitive after treatment, the extract of *J. regia* showing a greater activity than *S. persica*. Thus, given their antibacterial activity, these extracts could be of great interest for future studies on natural anti-plaque agents in daily oral care products.

Keywords. Dentures. Acrylic resin. *Streptococcus*. *Enterococcus*. Oral biofilm. *Juglans regia*. *Salvadora persica*. Antibacterials.

ملخص

يؤدي إرتداء أطقم الأسنان إلى تغييرات بيئية محلية في الفم ، خاصة عند كبار السن الذين لا يحافظون على نظافة الأطقم بشكل كافٍ. قمنا في هذا العمل بإجراء استبيان لعادات حاملي أطقم الأسنان المركبة فيما يتعلق بنظافة هذه الأخيرة. على مستوى المخبر، يتم تقييم القدرة على تكوين الأغشية الحيوية البكتيرية، لأنواع المكورات المعوية والمكورات العقدية الفموية التي تم جمعها من الأطقم المركبة، نوعاً وكماً. كما يتم تحديد الخصائص الفيزيوكيميائية للأسطح البكتيرية والمواد الحيوية التعويضية المتمثلة في راتنج الأكريليك، ويتبع ذلك بتطبيق نهج تنبؤي نظري من أجل فهم أفضل لظاهرة الالتصاق البكتيري. للوصول أخيراً إلى تقييم احتباس بكتيريا الفم على المادة الحيوية التعويضية بعد استخدام المستخلصات الطبيعية، قدمنا تقريراً ولأول مرة عن التأثير المضاد للغشاء الحيوي لعيدان المضغ، المشتقة من لحاء شجر الجوز و الأراك الجزائري، على الأغشية الحيوية الملتصقة براتنج الأكريليك في المختبر و تُؤكّد النتائج بصور المجهر الإلكتروني الماسح و مجهر القوة الذرية. حسب الدراسة التي أجريناها، معظم المشاركين ليسوعلى دراية كبيرة بأهمية الإعتناء اليومي بنظافة أطقم الأسنان وبمضاعفات الإهمال. تؤكد النتائج أهمية تحديد الخصائص الفيزيوكيميائية للأسطح في شرح ظاهرة الالتصاق البكتيري. كما أظهر تقييم نشاط المستخلصات الطبيعية أن جميع البكتيريا المختبرة، حرة أو كأغشية حيوية ، كانت أكثر حساسية بعد المعالجة، وبالتالي و نظراً لنشاطها المضاد للبكتيريا، يمكن أن تكون هذه المستخلصات ذات أهمية كبيرة للدراسات المستقبلية حول استخدام المواد الطبيعية في منتجات العناية بالفم و أطقم الأسنان.

الكلمات الدالة: أطقم الأسنان. راتنج الأكريليك. المكورات العقدية الفموية. المكورات المعوية الفموية. الأغشية الحيوية. شجرة الجوز. الأراك. مضادات البكتيريا.

Liste des abréviations

AB	Acide Base
ADN	Acide désoxyribonucléique
AFM	Atomic Force Microscope
API	Analytical Profile Index
ARNr	Acide ribonucléique <i>ribosomique</i>
BHIB	Brain heart infusion broth
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CNR-Strep	Centre National de Référence des Streptocoques
DLVO	Derjaguin Landau Verwey Overbeek
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EL	Interactions électrostatiques
EPS	Exopolysaccharides
ESEM	Environmental scanning electron microscope
HOMD	Human Oral Microbiome Database
IC ₅₀	Inhibition concentration of 50%
LW	Lifshitz- van der Waals
MALDITOF	Matrix assisted laser desorption ionisation time-of-flight
MATS	Microbial adhesion to solvents
MEB	Microscope électronique à balayage
MEBE	Microscope électronique à balayage environnemental
MMA	Méthacrylate de méthyle
PAE	Pellicule acquise exogène
PMMA	Polyméthacrylate de méthyle
RCA	Rouge Congo Agar
SD	Standard of deviation
TCP	Tissu Culture Plate
UFC	Unités formant colonies
XDLVO	Extended Derjaguin Landau Verwey Overbeek

Liste des figures

Figure 1. Arbre phylogénétique circulaire des principaux genres du microbiome buccal.....	6
Figure 2. Les groupes phylogénétiques du genre <i>Streptococcus</i>	7
Figure 3. Phylogénie du genre <i>Enterococcus</i> reposant sur le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S	9
Figure 4. Schéma de la colonisation bactérienne orale	12
Figure 5. Représentation schématisée des étapes distinctes du développement du biofilm....	12
Figure 6. Représentation de l'intervention des forces d'interactions physicochimiques dans le phénomène d'adhésion.....	14
Figure 7. Représentation de la double couche électrique	14
Figure 8. Schéma de la variation du potentiel de surface avec la distance	15
Figure 9. Ecorces des racines de <i>Juglans regia</i>	23
Figure 10. Bâtons de <i>Salvadora persica</i>	24
Figure 11. Principe de la spectrométrie de masse MALDI TOF	28
Figure 12. Profil d'une goutte déposée sur un substrat selon Young	31
Figure 13. Goniomètre DIGIDROP	31
Figure 14. Approche thermodynamique de l'adhésion.....	34
Figure 15. Principe de fonctionnement du microscope à force atomique	38
Figure 16. Photographie du microscope à force atomique	38
Figure 17. Photographie du microscope électronique à balayage	39
Figure 18. Âge moyen du port des prothèses dentaires chez les patients participants.....	41
Figure 19. Fréquence d'entretien des prothèses amovibles chez les patients participants	44
Figure 20. Aspect de culture sur gélose au sang	50
Figure 21. Résultat des cultures bactériennes et des réactions à la catalase	52
Figure 22. Répartition des espèces identifiées par API® 20Strep.....	52
Figure 23. Répartition des espèces identifiées par spectrométrie de masse MALDITOF	53

Figure 24. La production du slime chez les souches isolées des prothèses dentaires	55
Figure 25. Quantification de la formation de biofilm par la technique TCP chez les souches isolées des prothèses dentaires	58
Figure 26. Pourcentage d'inhibition de la croissance planctonique des souches testées par l'extrait de <i>Salvadora persica</i>	71
Figure 27. Pourcentage d'inhibition de la croissance planctonique des souches testées par l'extrait de <i>Juglans regia</i>	71
Figure 28. Pourcentage d'inhibition des biofilms formés sur microplaque 96 puits par l'extrait de <i>S.persica</i>	74
Figure 29. Pourcentage d'inhibition des biofilms formés sur microplaque 96 puits par l'extrait de <i>J.regia</i>	74
Figure 30. Activité antibiofilm des extraits de <i>Juglans regia</i> et <i>Salvadora persica</i> sur les biofilms adhérents à la résine acrylique	75
Figure 31. Biofilm de <i>Streptococcus gordonii</i> sur résine acrylique visualisé par AFM.....	77
Figure 32. Topographie de résine acrylique avant et après formation du biofilm de <i>S.gordonii</i>	77
Figure 33. L'effet des extraits de <i>S.persica</i> et de <i>J.regia</i> sur le biofilm de <i>S.gordonii</i> formé sur la résine acrylique visualisé par MEBE.	78

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification taxonomique de l'espèce <i>Juglans regia</i>	22
Tableau 2. Classification taxonomique de l'espèce <i>Salvadora persica</i>	24
Tableau 3. Composants Van der waals(γ^{LW}), accepteur d'électron (γ^+) et donneur d'électron (γ^-) de l'énergie libre de surface des trois liquides utilisés dans la mesure des angles de contact.	32
Tableau 4. Parties et périodes de récolte des plantes étudiées	34
Tableau 5. Les mesures d'hygiène nocturne adaptées par les patients participants	42
Tableau 6. Fréquence d'entretien des prothèses dentaires selon le sexe, l'âge des patients et la durée du port des prothèses complètes amovibles	45
Tableau 7. Méthodes et produits d'entretien des prothèses dentaires chez les patients participants	47
Tableau 8. Taux de contamination des prothèses dentaires chez les patients participants	51
Tableau 9. Tableau récapitulatif des caractéristiques des souches bactériennes isolées et des prothèses dentaires étudiées	56
Tableau 10. Caractéristiques des souches bactériennes sélectionnées pour l'étude	59
Tableau 11. Pourcentage d'affinité des souches à l'héxadécane	61
Tableau 12. Détermination de l'angle de contact par rapport à l'eau (θ_w), au formamide (θ_F) et au diidométhane (θ_D) pour les souches bactériennes étudiées et la résine acrylique	62
Tableau 13. Les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion de souches bactériennes sur résine acrylique	64
Tableau 14. Variation de l'hydrophobicité de la résine Δ_{Giwi} et l'énergie libre d'adhésion ΔG^{Total} en fonction du pH.....	65
Tableau 15. Caractéristiques et rendement des extraits des plantes étudiées.....	68
Tableau 16. Moyenne des zones d'inhibition des extraits de <i>S.persica</i> et <i>J.regia</i> vis-à-vis des souches de <i>Streptococcus</i> et <i>Enterococcus</i> testées.....	69

Introduction

« Bien que mes dents soient bien entretenues, je trouvais entre elles une petite matière blanche, semblable à de la farine humide. J'en prélevais un peu et la diluais dans l'eau de pluie pour la voir au microscope. Le nombre des animalcules qui peuplent les dents de l'homme est si important que je crois qu'il excède la population du royaume »

Antonie van Leeuwenhoek (1684)

C'était la première description des bactéries buccales, proposée en 1684 par Antonie Van Leeuwenhoek, illustre précurseur de la microbiologie et de la biologie cellulaire. Si cette découverte est très ancienne, ce n'est qu'au milieu du XXème siècle que des recherches ont débuté sur la microflore buccale (**Gordon et Klaenhammer, 2011**). C'est à Black G.V en 1885, que l'on doit la première observation d'un dépôt localisé sur l'intrados d'une prothèse amovible sous la forme d'un enchevêtrement de microorganismes filamenteux qu'il identifia comme étant des bactéries. Dans les années 80, Michel Hirigoyen propose le terme de plaque subprothétique pour qualifier l'organisation microbienne associée au port d'une prothèse dentaire (**Le Bars et al., 2015**).

La prothèse dentaire complète est devenue la première option de traitement pour la réadaptation des patients édentés. Néanmoins les matériaux qui composent ce type de prothèse constituent des niches pour les micro-organismes, qui, par conséquent, peuvent conduire à la colonisation et la formation de biofilms (**Lang et al., 2000**). De plus, le port de prothèses amovibles induit des changements environnementaux locaux, notamment chez les personnes âgées, qui ne gardent pas leurs prothèses suffisamment propres, ce qui en résulte des pathologies buccales et systémiques telles que l'endocardite, l'infection gastro-intestinale et la maladie pulmonaire obstructive chronique [(**Suresan et al., 2016**) ; (**Doshi et Jones, 2019**)]. En général, les facteurs étiologiques comprennent une mauvaise hygiène, le port continu et nocturne ainsi que la contamination bactérienne et fongique de la surface prothétique [(**Mylonas et al., 2022**) ; (**Perić et al., 2024**)].

A des fins de désinfection, divers agents chimiques, tels que le glutaraldéhyde, l'hypochlorite de sodium, le dioxyde de chlore, l'iode, l'alcool et la chlorhexidine sont fréquemment utilisés, surtout chez les patients ayant une dextérité manuelle altérée. Bien qu'ils possèdent une action bactéricide, ces désinfectants ont des effets différents sur les caractéristiques de surface et la couleur des résines [(**Thu et al., 2024**) ; (**Elhagali et al., 2025**)]. Par conséquent, compte tenu de l'inefficacité croissante de l'éradication conventionnelle des biofilms oraux, la mise en œuvre de nouveaux traitements inspirés de la nature a récemment suscité un intérêt croissant.

La sage déclaration d'Hippocrate «La nature elle-même est le meilleur médecin» a été mise à jour pour inclure les influences bénéfiques du règne végétal contre les pathologies orales. Depuis des milliers d'années, l'utilisation des plantes est étroitement associée à l'hygiène dentaire et aux pratiques thérapeutiques [(Jang et Mosolygó, 2020) ; (Braga et al., 2022) ; (Narwal et al., 2024)]. Les bâtonnets à mâcher peuvent jouer un rôle dans la promotion de l'hygiène buccale, et une évaluation plus approfondie de leur efficacité est justifiée, comme indiqué dans le rapport de consensus sur l'hygiène buccale (WHO, 2000). En Algérie, la brosse à dents traditionnelle (Miswak ou Arak), dérivée de *Salvadora persica* et du noyer *Juglans regia* (Swek) communément appelé bâtonnets à mâcher, est utilisée pour nettoyer les dents et les gencives comme une brosse à dents synthétique. Malgré la large utilisation de *Salvadora persica* et de *Juglans regia*, les deux plantes n'ont pas reçu beaucoup d'attention pour être exploitées de manière rationnelle et appropriée en Algérie. Jusqu'à présent, il n'y a jamais eu d'étude sur l'activité antibiofilm de l'écotype algérien des deux plantes. De plus, les informations sur l'effet antimicrobien sur le biofilm des prothèses sont encore rares.

Dans ce contexte, la présente étude vise comme premier axe à explorer les connaissances et les attitudes des patients édentés porteurs de prothèses dentaires en matière d'hygiène buccal. Le deuxième axe s'articule sur l'évaluation de l'adhérence et la capacité de formation de biofilm *in vitro* par les espèces buccales de *Streptococcus* et *Enterococcus*, pour arriver à l'évaluation de la rétention de ces bactéries buccales sur matériau prothétique après traitement aux extraits naturels. Pour répondre à ce questionnement, le manuscrit s'articule en plusieurs chapitres couvrant premièrement une revue bibliographique composée de trois parties. A la lumière de cette synthèse, s'en suit un chapitre détaillant les méthodologies adoptées pour réaliser cette étude. Une section présentant les résultats y fait suite. Enfin, une conclusion générale ainsi que les perspectives envisagées sont proposées.

Synthèse bibliographique

I. L'écosystème buccal : une microflore riche et complexe

La cavité orale des êtres humains est un écosystème particulier, ouvert sur l'extérieur, habité par de nombreuses espèces bactériennes, la plupart sont commensales et nécessaires pour maintenir l'équilibre de cet écosystème. La composition de la microflore buccale change avec l'âge et est influencée par des facteurs de l'hôte, y compris l'éruption et la perte des dents, l'insertion de prothèses partielles ou complètes, le niveau d'hygiène bucco-dentaire, la qualité et la quantité de la salive, les médicaments administrés par voie orale et l'état général de santé (âge, système immunitaire, maladie) **(Belibasakis, 2018)**. Une telle dynamique déséquilibrée est le résultat de plusieurs facteurs tels que la réponse aux changements de pH, les interactions entre les bactéries, les mutations génétiques et le transfert horizontal de gènes **(McLean, 2014)**. Plus de 774 espèces procaryotes y ont été identifiées. Ces espèces appartiennent à 230 genres et 16 phyla, dont environ 58% sont officiellement nommés, 16% sont cultivés mais sans nom et 26% sont connus uniquement comme des phylotypes non cultivés. Les phyla sont Firmicutes, Fusobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Chlamydiae, Chloroflexi, Spirochaetes, Synergistetes, Saccharibacteria et Gracilibacteria **(Figure 1)**. Actuellement, plus de 8622 génomes de 568 taxons buccaux sont disponibles sur la base de données du microbiome buccal humain HOMB **(Expanded Human Oral Microbiome Database, 2025)**.

I.1. Le genre *Streptococcus*

I.1.1. Classification

Le genre *Streptococcus* a été rapporté pour la première fois en 1683, comme le montrent les croquis d'observation microscopique de substances prélevées entre les dents réalisés par Antonie Van Leeuwenhoek. La première description de l'infection streptococcique est attribuée au chirurgien autrichien Theodor Billroth en 1874, lorsqu'il a décrit l'organisme en cas d'érysipèle et d'infections des plaies. Il a décrit ces petits organismes (Kettenkokken) comme étant isolés ou disposés en paires, parfois en chaînes de quatre à vingt maillons ou plus, du grec « strepto » (torsadé) et « coccus » (sphérique) **(Billroth, 1874)**. De nombreux chercheurs ont examiné les lésions carieuses et identifièrent *Bacillus acidophilusodontolyticus* (aujourd'hui connus sous le nom de *Lactobacillus* spp.) comme responsable de la carie dentaire, mais c'est **Clarke (1924)**, qui par une approche judicieuse, démontra que les lésions carieuses précoces étaient en fait dominées par un autre microorganisme qu'il nomma *Streptococcus mutans*.

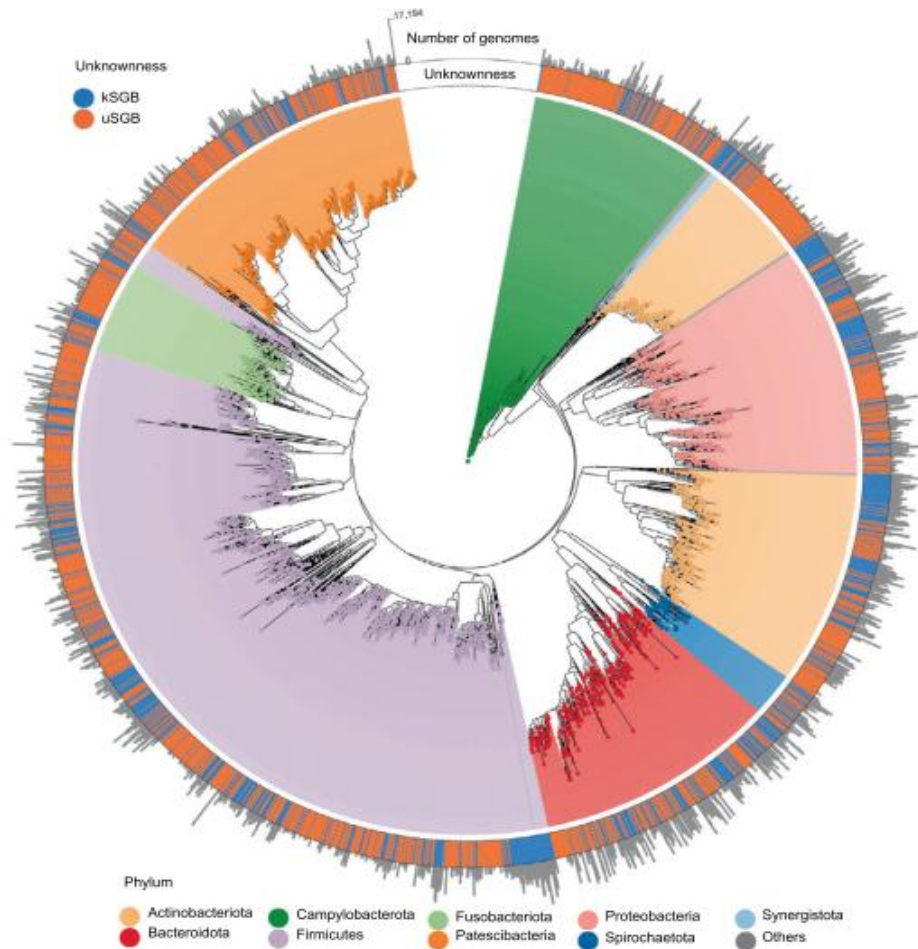


Figure 1. Arbre phylogénétique circulaire des principaux genres du microbiome buccal
(Zhu et al., 2022)

Les streptocoques ont été classifiés au départ sur le type d'hémolyse α , β ou non hémolytiques. Ce critère n'a aujourd'hui qu'une valeur d'orientation. En clinique, la classification de Lancefield est encore utilisée, et distingue 20 groupes sérologiques (désignés par des lettres de A à H et de K à W) définis sur les propriétés antigéniques d'un composé pariétal le polysaccharide C (Lancefield, 1933). La classification des streptocoques a été fondée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques, biochimiques et physiologiques, auxquelles se sont ajoutées par la suite des études phylogénétiques réalisées à partir de la séquence de l'ARNr 16S ou l'analyse d'une séquence partielle du gène *recN* (Glazunova et al., 2010). Ainsi la classification des streptocoques reste transitoire et sera amenée à subir des révisions en fonction de l'avancement dans le séquençage des différents génomes (Nicolas et Lavoie, 2011). Le genre *Streptococcus* comprend plus de 99 espèces reconnues, communément regroupées en huit groupes phylogénétiques: *mitis*, *sanguinis*, *anginosus*, *salivarius*, *downei*, *mutans*, *pyogenes* et *bovis* (Abranches et al., 2018) (Figure 2).

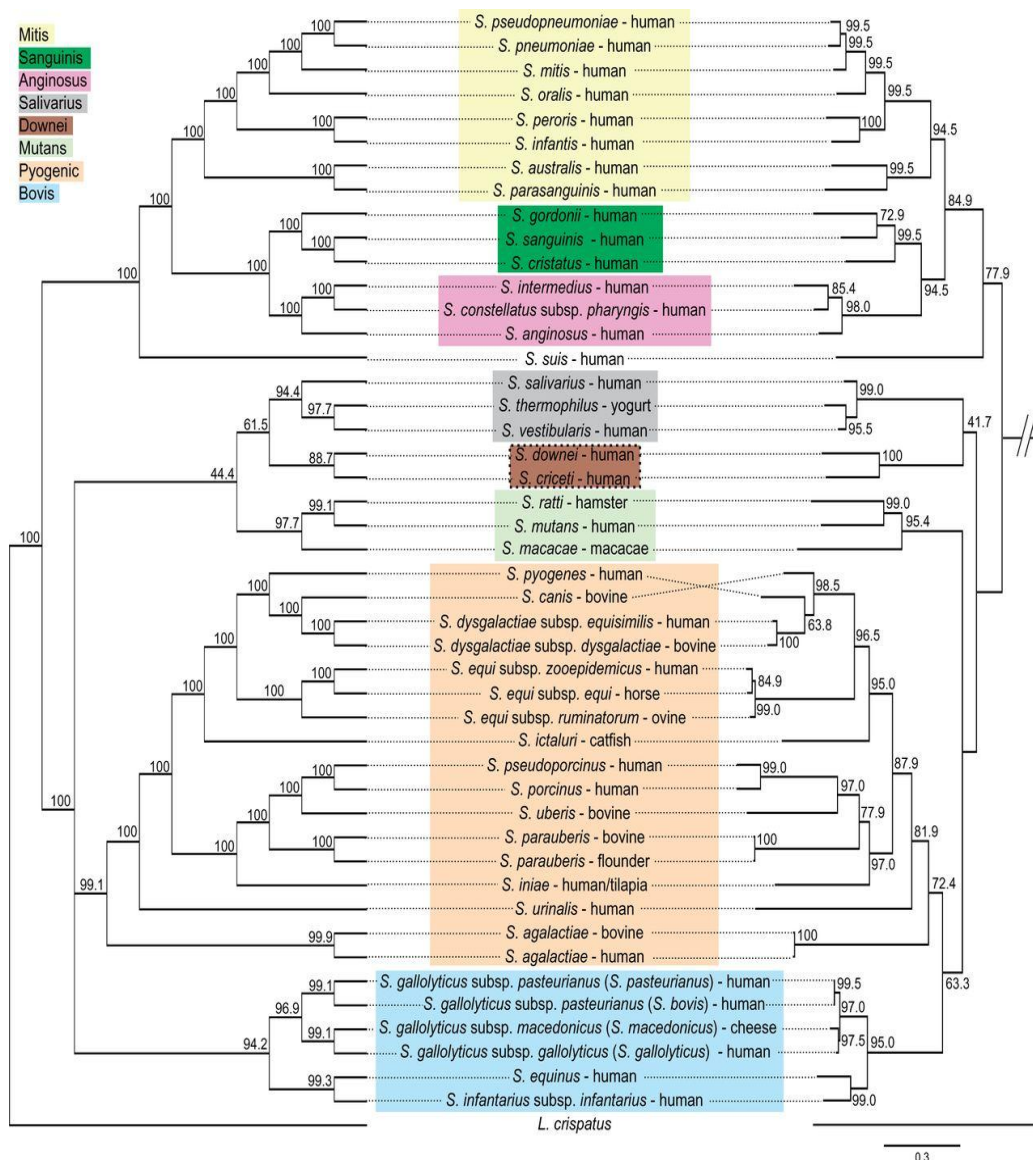


Figure 2. Les groupes phylogénétiques du genre *Streptococcus* (Richards et al., 2014)

Premiers colonisateurs de la bouche, dès deux jours après la naissance, les streptocoques sont prépondérants dans la cavité buccale et se regroupent dans tous les groupes phylogénétiques, à l'exception des groupes bovis et pyogene (Abranches et al., 2018). Entre ces groupes ainsi qu'entre les espèces au sein d'un même groupe, des différences de virulence et de pathogénicité peuvent être observées (Sitkiewicz, 2018). Cette prédominance s'explique tout d'abord par leur pouvoir d'inhibition sur d'autres microorganismes, grâce à la production d'acides organiques, d' H_2O_2 et de bactériocines. Leur taux de croissance très compétitif et la diversité des niches écologiques buccales qu'ils occupent sont également des atouts majeurs. Outre leur propriété d'acido-résistance et leur pathogénicité sont fortement associées à leurs propriétés d'adhésion [(Tang et al., 2022) ; (Bloch et al., 2024)].

I.1.2. Description

Ce genre appartient à la famille des *Streptococcaceae*, phylum des *Firmicutes* et regroupe des bactéries à Gram positif à bas pourcentage en bases GC. Ce sont des cocci ovoïdes ou sphériques, immobiles et asporulés, à Gram positif, dont le diamètre est compris entre 0,5 et 2µm. Groupés en diplocoques ou en chaînettes de longueur variable (2 à plus de 50 coques), ils sont des anaérobies aéro tolérants, dépourvus d'activité catalase, homo-fermentaires chimio-organotrophes [(Andrew et Mitchell, 1997) ; (Prescott et al., 2003)].

Les streptocoques buccaux sont encore souvent cités comme le groupe des streptocoques viridans, à cause du verdissement des géloses au sang, référé comme hémolyse partielle de type α et indique la production de peroxyde d'hydrogène notamment rapportée pour des souches de *S.gordonii*, *S.mitis*, *S.mutans*, *S.oralis*, *S.parasanguinis* et *S.sanguinis*. Seul le groupe pyogene est β -hémolytique produisant une hémolyse complète (Coykendall, 1989).

I.2. Le genre *Enterococcus*

I.2.1. Classification

Initialement décrits par Thiercelin et classés comme des streptocoques fécaux en 1906 (*Streptococcus faecalis*) et en 1919 (*Streptococcus faecium*) (Murray, 1990), il a fallu attendre l'année 1984 et des expériences d'hybridation ADN-ADN ainsi que l'analyse des séquences de l'ARNr 16S et de *sod A* pour montrer que les espèces *S. faecium* et *S.faecalis* étaient suffisamment distinctes des autres streptocoques pour justifier la création du genre *Enterococcus* (Franz et al., 2011). La phylogénie de ce genre ne cesse d'évoluer du fait de l'avènement de nouvelles technologies permettant une évolution quasi-constante de la taxonomie (Figure 3). En effet, initialement composé des deux espèces précédemment citées, le genre *Enterococcus* compte plus de 58 espèces en 2020 (Zaheer et al., 2020).

Bien que les espèces de *Enterococcus* soient généralement considérés comme des constituants transitoires du microbiome oral, on en sait étonnamment peu sur leur prévalence et leur incidence orale chez des individus de différents groupes d'âge, en bonne santé ou malades. *E.faecalis*, l'*Enterococcus* humain prédominant, suivi de *E. faecium* et *E.durans*, est le plus fréquemment isolé étant associé à des maladies bucco-dentaires, telles que les caries, les infections endodontiques, la parodontite et la péri implantite. Il a été impliqué dans l'échec du traitement endodontique, en raison de sa haute résistance aux médicaments et de sa capacité à former des biofilms récalcitrants à la fois dans les canaux radiculaires traités et non traités [(Sedgley et al., 2005) ; (Komiya et al., 2016) ; (Najafi et al., 2020)].

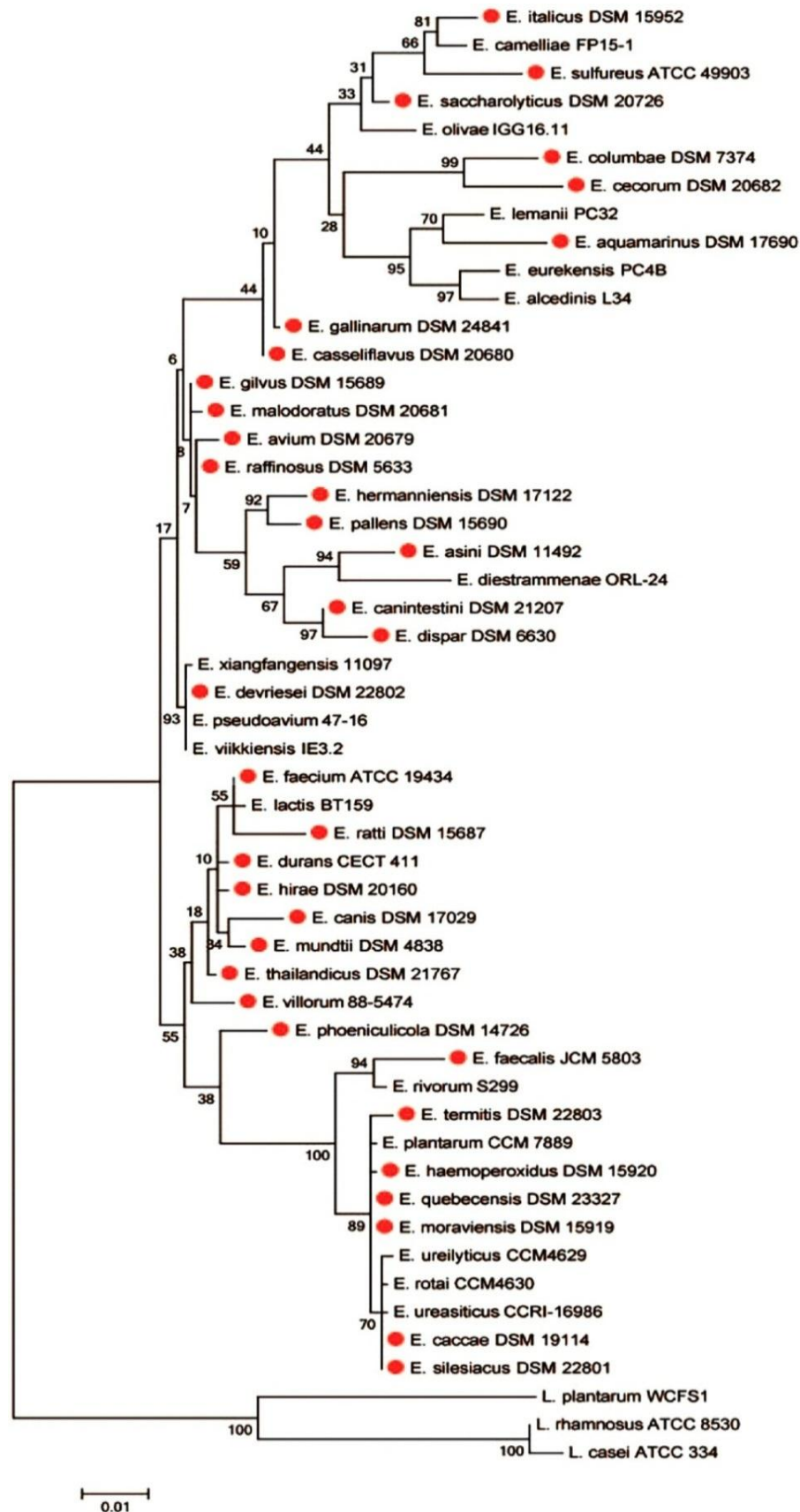


Figure 3. Phylogénie du genre *Enterococcus* reposant sur le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S (Zhong et al., 2017)

I.2.2. Description

Le genre *Enterococcus* appartient à la famille des *Enterococcaceae*, phylum des *Firmicutes*, et regroupe des bactéries à Gram positif, non sporulées qui se présentent sous forme de coques isolés ou arrangés en paires ou en chaînettes et dont le génome contient un faible pourcentage en G+C (37.5 à 44 %) (**Schloissnig et al., 2013**). Ce sont des organismes anaérobies aérotolestants, oxydase et catalase négatives. Ce sont des bactéries mésophiles qui pourraient croître à une température de 10°C à 45°C, avec une température optimale comprise entre 30°C et 35°C (**Garcia-Solache et al., 2019**). En outre, ils sont capables de croître dans une vaste gamme de pH de 4.4 et 9.6 et dans des milieux hyper salés avec 6.5% de NaCl. Les traits qui différencient les entérocoques des streptocoques sont leur capacité à se multiplier malgré des conditions de croissance hostiles comme survivre après 30min de chauffage à 60°C, à croître en présence de 40% de bile et même à hydrolyser l'esculine (**Foulquie Moreno et al., 2006**). Certaines souches de *Enterococcus faecalis* sont β -hémolytiques (*E. faecalis* var. *zymogenes*), alors que les autres espèces sont généralement α -hémolytiques ou non hémolytiques (**Benagli et al., 2011**).

I.3. La prothèse dentaire : un vecteur microbien

L'équilibre écologique (physique, chimique, biologique) de la cavité buccale est influencé par l'usage d'une prothèse. Chez les édentés, le port de prothèses amovibles et la diminution du flux salivaire, surtout chez les patients qui gardent leurs prothèses la nuit, s'accompagnent d'une diminution du pH buccal, ce qui déséquilibre la flore commensale et favorise l'apparition de candidoses, mais aussi l'aggravation des maladies parodontales, l'apparition de caries et de lésions muqueuses (**Le bars et al., 2002**). La structure et la texture du matériau, les macroporosités et microporosités auront une incidence sur l'accumulation de la plaque. De plus, les défauts de surface (rugosité due à un polissage insuffisant, manque d'étanchéité, matériaux débordant), les rendent iatrogènes car rétentives pour la plaque dentaire [(**Delacroix, 1999**) ; (**Sarna-Boś et al., 2021**)].

I.3.1. Le matériau prothétique

Les matériaux à base de résine acrylique sont les plus répandus pour la confection des prothèses amovibles. Ils sont composés de monomère liquide (méthacrylate de méthyle, MMA) mélangé à une poudre de polymère (polyméthacrylate de méthyle, PMMA), pour fournir une pâte malléable qui peut ensuite être moulé selon les spécifications du patient et durci pendant un processus de durcissement / polymérisation (**Blagojevic et Murphy, 1999**).

Facilement colonisable par la plaque bactérienne, la résine est un vecteur important des manifestations inflammatoires, traumatiques et à un moindre degré allergiques des reconstitutions prothétiques. La topographie rugueuse et, principalement, les surfaces microporeuses en résine acrylique fournissent une multitude d'environnements potentiels qui supportent des micro-organismes pathogènes, qui peuvent menacer la santé d'un patient physiquement vulnérable [(Coulthwaite et Verran, 2007) ; (Le bars et al., 2015)].

I.3.2. Plaque prothétique : Le biofilm

La plaque dentaire (biofilm dentaire) est un écosystème complexe qui varie beaucoup d'un individu à l'autre, et sert de modèle parfait pour étudier les biofilms polymicrobiens comme décrit par **Marsh et Bradshaw (1995)**. Elle diffère également chez le même individu, selon sa localisation en bouche et selon les conditions environnementales, telles que la présence d'antibactériens ou de sucres alimentaires (**Marsh, 2006**).

Comme pour la dentition naturelle, immédiatement après avoir été placée dans la bouche, la surface de la prothèse commence à être revêtue d'une couche dite «pellicule acquise exogène PAE» (**Siqueira et al., 2012**). La PEA est définie comme une couche acellulaire amorphe, homogène, d'une épaisseur comprise entre 0,1 et 1µm, formée par l'adsorption sélective de protéines salivaires et des immunoglobulines. Cette couche médiate les interactions entre la surface prothétique, les fluides buccaux et les micro-organismes; elle assure la diminution globale de l'impact des facteurs physico-chimiques et fournit des récepteurs d'adhésion spécifiques pour les colonisateurs primaires appartenant aux genres *Streptococcus* et *Actinomyces* [(**Marsh et Martin, 2009**) ; (**Ahariz et al., 2010**) ; (**Kolenbrander, 2011**)] (**Figure 4**). Le métabolisme bactérien des colonisateurs primaires de la PAE crée un micro-environnement favorable à la fixation d'autres genres bactériens majoritairement anaérobies stricts. Ces colonisateurs présentent de nouvelles adhésines et récepteurs spécifiques à la surface cellulaire sur lesquels viennent se fixer les colonisateurs secondaires (**Figure 4**).

Ces phénomènes de co-agrégation (entre 2 bactéries libres) et de co-adhésion (d'une bactérie libre sur une déjà fixée) correspondent à l'étape de maturation du biofilm. En effet, des interactions se produisent à plusieurs niveaux et comprennent le contact physique, l'échange métabolique, et l'échange de matériel génétique [(**Palmer et al., 2003**) ; (**Kolenbrander, 2011**)] (**Figure 5**).

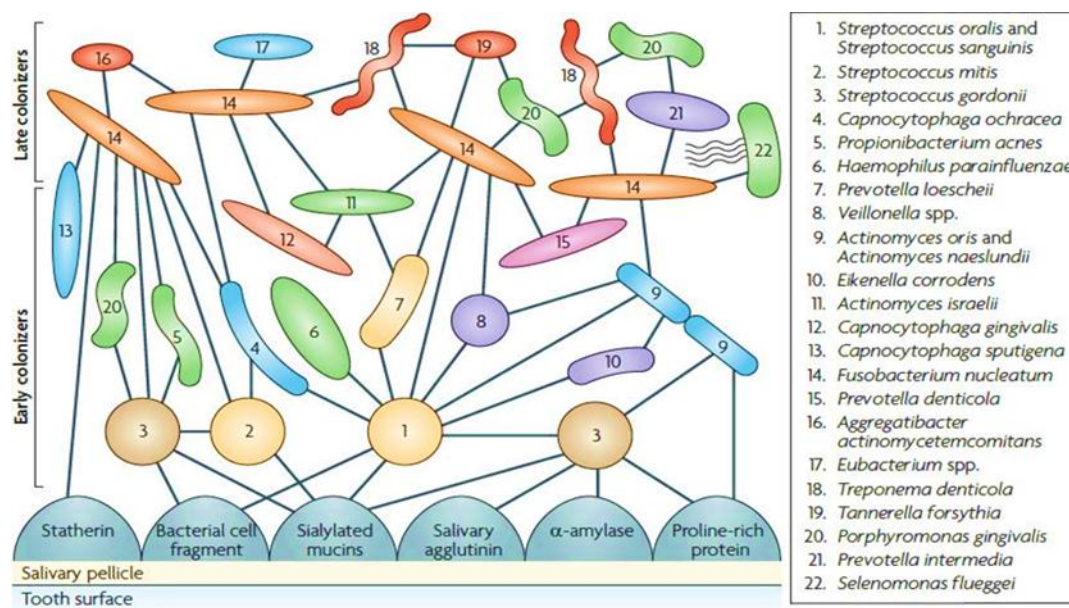


Figure 4. Schéma de la colonisation bactérienne orale (Kolenbrander et al., 2010)

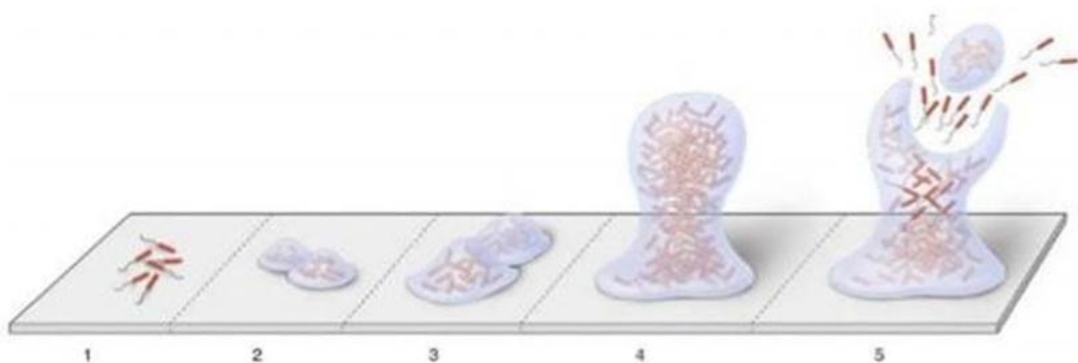


Figure 5. Représentation schématique des étapes distinctes du développement du biofilm (Bouchard, 2015)

- (1) L'attachement initial: faible et réversible (2) L'attachement irréversible: formation de matrice
 (3/4) Multiplication et co-adhésion (5) Dispersion des bactéries planctoniques

L'équilibre du biofilm est atteint en 2 à 3 semaines en absence de brossage. A ce stade, il peut contenir jusqu'à 10^9 bactéries par mg de matière. Les substances polymères extracellulaires, produites par les bactéries dans un biofilm mature, contiennent de grandes quantités de polysaccharides, de protéines, d'acides nucléiques et de lipides. Ceux-ci maintiennent l'intégrité structurelle du biofilm et fournissent une matrice idéale pour la croissance et la

survie des cellules bactériennes (**Sutherland, 2001**). Certaines peuvent se détacher du biofilm et aller coloniser d'autres sites, sous l'effet des variations physico-chimiques environnantes, ceci constituant la phase de dispersion (**Figure 5**). Le biofilm, malgré sa diversité, est donc composé d'une flore commensale relativement stable, en perpétuel renouvellement et en équilibre avec son environnement. C'est à la faveur de la rupture de cet équilibre que peuvent survenir les pathologies microbiennes de la cavité buccale [(**Chardin et al., 2006**) ; (**Bouchard, 2015**)].

II. Adhésion bactérienne : première étape de la formation du biofilm

Tout processus de contact entre un biomatériau et un tissu engendre une cascade d'évènements, conséquence de l'adsorption de protéines puis de l'adhésion (ou non) de diverses cellules à la surface du solide. Ces phénomènes initiaux à l'interface sont primordiaux car ils conditionnent l'adhésion de bactéries (**Van Loosdrecht et al., 1990**).

La formation de la plaque dentaire résulte des phénomènes d'adhésion et d'adhérence des bactéries. En microbiologie les deux termes se distinguent l'un de l'autre par leur signification. L'adhérence est un état, elle se définit par la capacité de la bactérie à se fixer sur une surface. C'est l'ensemble des phénomènes qui s'opposent à la séparation de deux corps en contact. Sans cette propriété, aucune bactérie ne pourrait se multiplier ou être à l'origine de phénomènes pathologiques (**Mouton et Robert, 1994**). L'adhésion est une action qui se caractérise par l'ensemble des phénomènes physico-chimiques, mécaniques et biologiques permettant à une bactérie de s'unir à une surface de façon durable (**Quirynen et Bollen, 1995**).

De façon à comprendre la bioadhésion, il est nécessaire de prendre en compte les différents types d'interactions physicochimiques et biologiques. Selon l'approche physico-chimique, le processus d'adhésion est le résultat des interactions intermoléculaires s'établissant entre les surfaces du microorganisme et du support; avec de manière détaillée : interactions de type électrostatique, les interactions liées aux forces de van der Waals et enfin les interactions polaires (hydrophiles / hydrophobes) (**Burgain et al., 2014**) (**Figure 6**).

II.1. Interactions physicochimiques

Durant le transport d'un microorganisme d'un fluide à une surface, celui-ci est soumis à des modifications de forces intervenant lors de son dépôt sur la surface et lors de son détachement (**Figure 6**).

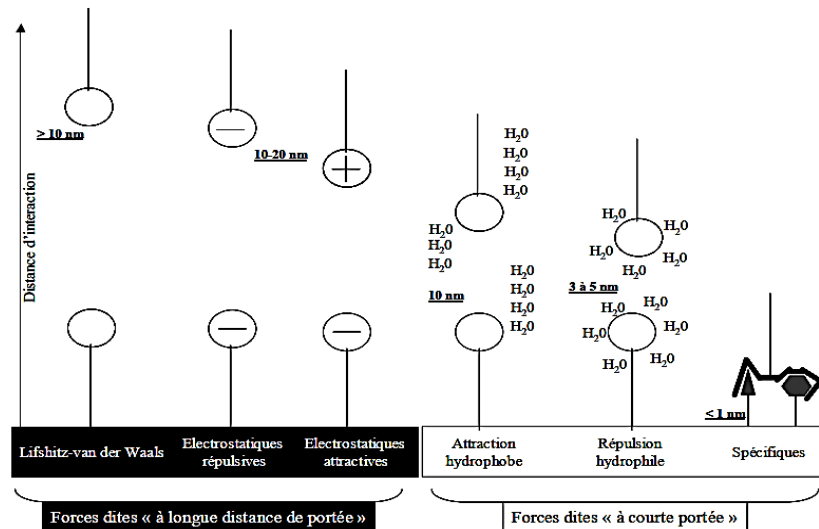


Figure 6. Représentation de l'intervention des forces d'interactions physicochimiques dans le phénomène d'adhésion (**Guillemot, 2006**)

II.1.1. Interactions électrostatiques

Immergée dans un fluide, une particule, une bactérie ou une surface plane, acquiert une charge et un potentiel de surface provoqué par l'adsorption ionique ou l'ionisation des groupements chargés présents en surface (**James, 1991**).

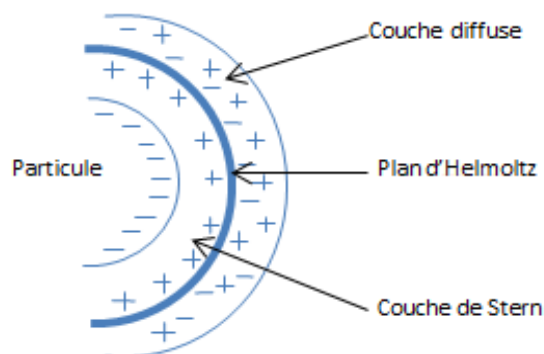


Figure 7. Représentation de la double couche électrique (**Hiemenz et Rajagopalan, 1997**)

La concentration d'ions diffère aux interfaces par rapport à l'intérieur de chaque phase (solide, liquide) engendrant une double couche ionique associée aux surfaces bactériennes et solides (**Vernhet et al., 1992**) (**Figure 7**).

La première couche, dite couche de Stern, est constituée d'ions fortement adsorbés sur la surface. Dans la seconde couche, dite couche diffuse, qui s'étend dans la phase liquide, l'excès en contre-ions diminue progressivement lorsque l'on s'éloigne de la surface chargée,

jusqu'à ce que l'équilibre ionique de la phase aqueuse soit retrouvé, ainsi le potentiel de surface (Ψ_0) décroît exponentiellement avec la distance (**Figure 8**) (**James, 1991**).

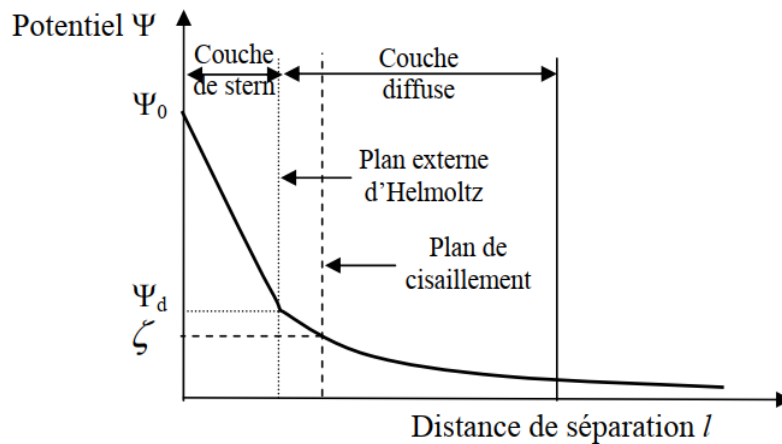


Figure 8. Schéma de la variation du potentiel de surface avec la distance (**James, 1991**)

Les interactions électrostatiques intervenant entre la surface d'un micro-organisme et la surface réceptrice sont dues au recouvrement de la double couche ionique associé aux groupements chargés présents à la surface des deux corps (**Rutter et Vincent, 1980**). Cette interaction est répulsive pour deux corps portant des charges de surface de même signe et attractive dans le cas contraire. A pH neutre, la plupart des surfaces naturelles acquièrent une charge négative et se repoussent mutuellement. Ainsi, puisque l'énergie des interactions électrostatiques ΔG^{EL} diminue avec l'augmentation de la force ionique du milieu liquide, elle devient négligeable pour une force ionique forte. Les interactions électrostatiques peuvent se ressentir jusqu'à des distances de 8 à 10 nm (**Van Loosdrechet et al., 1987**).

II.1.2. Interactions non électrostatiques

II.1.2.1. Interactions de Lifshitz-van der Waals (LW)

Ces forces impliquent l'existence d'une interaction d'attraction entre molécules neutres. Elles résultent de trois effets physiques différents: force de Keesom, force de Debye et force de London. L'effet cumulatif de ces interactions est groupé sous le terme d'interactions Lifshitz-van der Waals. Ainsi elles peuvent agir à des distances supérieures à 50 nm et décroissent à une distance inférieure à 10 nm (**Lifshitz, 1955**).

Dans le phénomène d'adhésion de cellules microbiennes, trois corps sont généralement en présence ; il faut alors déterminer l'énergie d'interaction entre le micro-organisme (1) et le

support (2) immergés dans un liquide (3). Dans ce cas, l'énergie libre est définie par l'équation de **Dupré (1869)**:

$$\Delta G_{123}^{LW} = 2 [(\gamma_3^{LW})^{1/2} - (\gamma_1^{LW})^{1/2}] [(\gamma_2^{LW})^{1/2} - (\gamma_3^{LW})^{1/2}]$$

$\gamma_1^{LW}, \gamma_2^{LW}, \gamma_3^{LW}$: tensions interfaciales des cellules, du support et du liquide respectivement .

Les interactions Lifshitz-van der Waals vont être répulsives dans le cas d'une énergie libre ΔG_{132}^{LW} positive pour : $\gamma_1^{LW} < \gamma_3^{LW} < \gamma_2^{LW}$ ou $\gamma_1^{LW} > \gamma_3^{LW} > \gamma_2^{LW}$, et attractives lorsque l'énergie ΔG_{132}^{LW} est négative. Dans la plupart des cas, la contribution des Lifshitz Van der Waals d'interaction est considérée comme extrêmement faible (**Van Oss, 1996**).

II.1.2.2. Interaction Lewis Acide Base (AB)

Ces interactions polaires restent les plus mal comprises d'un point de vue théorique; ce sont les interactions que l'on trouve en milieu aqueux, et qui décroissent de façon exponentielle en fonction de la distance. Elles concernent principalement l'interaction entre donneur et accepteur d'électrons ou entre donneur et accepteur d'hydrogène. Il existe différents degrés dans ce caractère, qui se traduit par l'existence d'interactions hydrophiles et hydrophobes plus ou moins importantes [(**Van Oss, 1996**) ; (**Hamadi, 2005**)].

Dans le cas d'adhésion microbienne, l'expression de l'énergie libre d'interaction ΔG^{AB} entre deux corps (1) et (2) immergés dans un liquide (3) peut être définie par :

$$\Delta G_{123}^{AB} = 2 [(\gamma_3^+)^{1/2} [(\gamma_1^-)^{1/2} + (\gamma_2^-)^{1/2} - (\gamma_3^-)^{1/2}] + (\gamma_3^-)^{1/2} [(\gamma_1^+)^{1/2} + (\gamma_2^+)^{1/2} - (\gamma_3^+)^{1/2}] - (\gamma_1^+ \gamma_2^-)^{1/2} - (\gamma_1^- \gamma_2^+)^{1/2}]$$

Selon les valeurs de γ^- et γ^+ , ΔG_{132}^{AB} peut être négative (attractive) ou positive (répulsive). Les interactions acido-basiques présentent des énergies pouvant être deux fois plus grandes que les interactions de Van der Waals ou les interactions électrostatiques (**Van Oss et al., 1988**). Les interactions hydrophiles et hydrophobes sont toutes les deux dues à une restructuration des molécules d'eau au voisinage des surfaces respectivement hydrophiles ou hydrophobes. Quand les deux surfaces hydratées s'approchent l'une de l'autre, la présence de cette eau liée induit une énergie de répulsion hydrophile, ΔG^{AB} , positive. Cette répulsion hydrophile est effective à des distances de l'ordre de 3 à 5 nm. Les surfaces ayant peu d'affinité pour l'eau sont dites hydrophobes, autour de ces surfaces, l'eau va s'organiser d'une façon défavorable d'un point de vue entropique (plus ordonnée que dans la masse de la phase aqueuse). Elle va donc tendre à se dissocier de ce type de surface, ce qui se traduit par une énergie d'attraction hydrophobe, ΔG^{AB} , négative. Cette attraction est effective à des distances de l'ordre de 10 nm et plus (**Vergnault, 2004**).

II.2. Modèles théoriques prédictifs de l'adhésion

II.2.1. Théorie de la thermodynamique

La description de l'adhésion par l'approche thermodynamique indique le rôle de l'énergie de la surface et de l'hydrophobicité et elle tient compte des forces à courte distance mais elle ne tient pas en considération les interactions électrostatiques (**Busscher et al., 1984**). L'approche thermodynamique peut être corrélée avec les résultats expérimentaux [(**Asther et al., 1990**) ; (**Busscher et al., 1990**) ; (**Vernhet, 1992**) ; (**Boulangé-Petermann et al., 1993**)]. Mais dans le cas d'adhésion, il est important de prendre en compte l'intervention de l'environnement cellulaire ainsi que les autres interactions qui ont lieu. De plus ce phénomène est considéré comme totalement réversible ce qui ne correspond pas au cas réel (**Sjollema et al., 1990**).

II.2.2. La théorie classique DLVO

C'est la première théorie de la stabilité de l'état colloïdal, doit son nom aux auteurs qui l'ont développé indépendamment: **Derjaguin et Landau (1941)** et par **Verwey et Overbeek (1948)**. Elle tient compte des interactions de van der Waals et met en évidence le rôle des interactions électrostatiques, mais néglige les interactions polaires. Ces dernières sont prédominantes dans les milieux aqueux et jouent un rôle très important dans l'adhésion microbienne. L'énergie libre d'interactions totale ΔG^{TOT} entre microorganisme et support est la somme des énergies libres liées aux interactions attractives de van der Waals ΔG^{Lw} et aux interactions électrostatiques ΔG^{EL} . Finalement, la théorie DLVO permet de prévoir qualitativement l'adhésion des microorganismes mais ne peut pas donner des renseignements quantitatifs sur le phénomène (**Van Oss, 1995**).

II.2.3. La DLVO étendue (XDLVO)

Généralement, il apparaît que les deux précédentes théories ne peuvent pas expliquer complètement l'adhésion microbienne. **Van Oss et al., (1986)** suggèrent le développement de la théorie DLVO. Dans cette nouvelle approche, les trois interactions fondamentales impliquées dans les phénomènes d'adhésion microbienne aux supports, sont prises en considération : interactions électrostatiques, interactions de Van der Waals, et interactions acido-basiques. Selon ce modèle, l'énergie libre d'interactions totale ΔG^{TOT} s'écrit donc :

$$\Delta G^{\text{TOT}} = \Delta G^{\text{EL}} + \Delta G^{\text{Lw}} + \Delta G^{\text{AB}}$$

II.3. Facteurs influençant l'adhésion

En plus des forces électrostatiques et de la thermodynamique, l'adhésion des organismes aux surfaces dépend d'autres facteurs pouvant interférer sur cette dernière. Ces facteurs sont issus des caractéristiques des micro-organismes, des surfaces et du milieu liquide environnant (**Boulangé-Petermann, 1997**).

II.3.1. Les microorganismes

L'affinité entre la surface de la cellule et celle du support est l'un des paramètres essentiels pour l'adhésion. De nombreuses études ont identifié ce facteur comme l'un des plus importants pour comprendre l'abondance plus ou moins grande de l'adhésion microbienne sur un support donné (**Habouzit et al., 2011**). Un support ne va pas permettre les mêmes abondances pour toutes les espèces microbiennes et une espèce donnée ne va pas adhérer équitablement sur toutes les surfaces. Il existe des conditions préférentielles d'adhésion, des affinités propres, notamment régies par l'hydrophobicité et la charge à la fois à la surface du support et à celle de la cellule. Selon **Rubio (2002)**, chaque famille de micro-organismes possède des propriétés physicochimiques qui lui sont propres. Les charges surfaciques, que l'on nomme potentiel Zéta, permet de déterminer si un micro-organisme tend à donner ou à accepter un électron au niveau de sa charge. En général, les espèces microbiennes sont chargées négativement et plus elles le sont, plus l'adhésion est compromise (**Habimana et al., 2014**). Néanmoins si le support est chargé positivement, alors l'adhésion est favorisée (**Terada et al., 2005**).

La forme de la cellule est un autre paramètre qui va être déterminant, une cellule allongée bénéficie d'une surface de contact beaucoup plus importante. Ce faisant le nombre de liaisons et sa force d'adhésion sont supérieurs à ceux de la cellule sphérique. Certaines espèces sont capables de s'allonger et former des filaments, par exemple lorsque les concentrations en ressources sont insuffisantes (**Kargar et al., 2016**).

Une des adaptations des cellules à leur état de biofilm est la sécrétion de polymères extracellulaires qui représentent 75 à 90 % du biofilm selon les espèces (**Costerton, 1999**). Le terme exopolysaccharides (EPS) ou polysaccharide exocellulaire a été proposé comme appellation générale pour les polymères sécrétés à l'extérieur de la cellule (**Cerning, 1994**). Les EPS jouent un rôle majeur dans l'adhésion aux surfaces et l'agrégation des cellules, la résistance aux composés antibactériens, aux métaux, la formation de colonies, la dégradation de composés organiques, la communication entre cellules (**Zhang et Fang, 2001**).

La capsule d'EPS semble également augmenter l'hydrophobicité de la surface bactérienne et favoriser l'adhésion, la cohésion et l'intégrité structurale des cellules (**Bergmaier et al., 2001**). Un autre processus réside dans les processus de co-adhésion et de co-agrégation. Comme rapporté par **Bos et al., (1994)** dans le contexte des biofilms dentaires, une véritable logistique se met en place avec des espèces qualifiées de “colonisateurs primaires”, souvent des bactéries à Gram positif, rejointes ensuite grâce à la co-adhésion par des bactéries à Gram négatif.

Enfin, afin de se regrouper sur la surface du support, certaines espèces sont capables de se déplacer sur celle-ci. Cette motilité saccadée (ou twitching) constitue une motilité spécifique à l'état fixé (**Monds et O'Toole, 2009**). Elle peut être guidée par un chimiotactisme qui va permettre aux microorganismes de se déplacer dans une direction préférentielle (**Miller et al., 2008**).

II.3.2. Le substrat

Il est généralement admis que des cellules hydrophobes adhèrent mieux sur une surface hydrophobe et, à l'inverse, des cellules hydrophiles sont plus enclines à adhérer sur des surfaces hydrophiles (**Van Loosdrecht et al., 1987**). L'importance de ces paramètres ont fait du conditionnement du support une étape essentielle pour de mieux contrôler les phénomènes d'adhésion.

La rugosité est une autre propriété qui joue également un rôle important quant à l'adhésion des bactéries sur les surfaces. Il est généralement admis que plus le matériau est rugueux et présente des aspérités, plus il favorise l'adhésion. La plaque dentaire adhère non seulement en plus grande quantité, mais est également plus difficile à enlever quand la surface du matériau est irrégulière (**Quirynen et Bollen 1995**). En effet au-delà d'offrir une protection face aux contraintes des agressions extérieures (nettoyant, désinfectant, cisaillement), une rugosité importante entraîne une augmentation de la surface colonisable. De nombreuses études ont corrélé la rugosité des matériaux aux processus d'adhésion [(**Terada et al., 2005**) ; (**Myint et al., 2010**)]. Pour d'autres, en revanche, la rugosité permet de réduire la surface de contact entre le microorganisme et le support, favorisant ainsi son détachement (**Boulangé-Petermann et al., 1997**). Mais les espèces étudiées, les supports et les méthodes d'évaluation de l'adhésion étant variés, il est difficile d'édicter des règles [(**Scheuerman et al., 1998**) ; (**Pembrey et al., 1999**) ; (**Jana et al., 2000**)]. La capacité des matériaux de restauration à résister à l'exposition à diverses substances dans la cavité buccale représente un facteur clé dans leur performance clinique et dans leur longévité (**Pereira et al., 2011**).

II.3.3. Le milieu environnant

Il suffit de penser au pH, à la concentration des électrolytes et aux forces ioniques qui peuvent modifier les composantes électrostatiques de la surface des bactéries. Ces modifications pourraient moduler l'adhésion sur les supports solides [(Van der Mei et Busscher, 1997) ; (Bos et al., 1999)]. Un autre moyen de promouvoir l'adhésion microbienne est de réduire les répulsions électrostatiques qui existent au sein de la double couche électrique. L'utilisation d'un milieu liquide avec une force ionique importante permet de neutraliser plus efficacement ces charges surfaciques et réduire les répulsions induites par la double couche (Hong et Brown, 2008).

Certaines études ont montré l'altération de la surface des matériaux restaurateurs par différents éléments de l'environnement oral. Ainsi, la baisse du pH par le biofilm cariogène, la consommation de boissons acides et l'activité enzymatique sont impliquées dans la détérioration des couches les plus externes des matériaux et dans l'augmentation de leur rugosité de surface (Willershausen et al., 1999). Leur analyse par microscopie électronique à balayage a ainsi montré l'augmentation de la porosité des résines suite à l'accumulation de la plaque dentaire (Fúcio et al., 2008).

III. Hygiène Orale et Phytothérapie

III.1. L'entretien des prothèses dentaires

Pour les personnes âgées, les maladies chroniques associées à l'âge augmentent et une détérioration lente et progressive de la santé bucco-dentaire apparaît (Chan et al., 2021). En raison d'une mauvaise hygiène bucco-dentaire, les prothèses dentaires peuvent devenir un «réservoir» de micro-organismes. Par conséquent, l'élimination quotidienne soigneuse des biofilms présents dans la cavité buccale et à la surface des prothèses complètes est d'une importance capitale pour minimiser le risque d'infections opportunistes, pour contribuer à une bonne santé bucco-dentaire et systémique globale (Mylonas et al., 2022).

Un nettoyant idéal doit être capable de réduire l'accumulation de biofilm sans affecter les propriétés physiques et mécaniques de la base de la prothèse ou des dents prothétiques (Pas de blanchiment ou d'abrasion). Il doit être non toxique, à action brève, facile à utiliser et rentable [(Coulthwaite et Verran, 2007) ; (Mylonas et al., 2022)]. Cependant, des études ont montré que les nettoyants pour prothèses actuellement utilisés ont des effets dégradants sur les propriétés physiques des bases de résines [(Sharma et al., 2017) ; (Ozyilmaz et Akin, 2019)]. En plus, il y a eu une résistance accrue contre ces agents chimiques par des micro-organismes pathogènes, donnant ainsi une place centrale aux extraits de plantes en tant que nouveaux

agents antimicrobiens Ainsi, il est encore nécessaire de mener des évaluations cliniques pour développer des protocoles naturels simples et efficaces pour le nettoyage des prothèses **(Namala et Hegde, 2019)**.

III.2. Phytothérapie

Le premier texte connu sur la médecine par les plantes « Phytothérapie » est gravé sur une tablette d'argile par les Sumériens en caractères cunéiformes, en 3000 avant Jésus Christ (J.C), comprenant douze recettes de préparation de médicaments faisant référence à plus de 250 plantes diverses. Le premier recueil connu, composé de 110 pages, s'intitule le Papyrus Ebers, un papyrus médical égyptien qui remonte à 1550 avant J.C, et contient environ 700 formules et remèdes **[(Petrovska, 2012) ; (Rahman et al., 2019)]**. De la médecine traditionnelle chinoise, l'Ayurveda, le Kampo, la médecine traditionnelle coréenne à l'Unani, la phytothérapie, est donc une médecine qui s'est enrichie au fil du temps à travers le monde, a été reléguée au second plan avec l'avènement de la chimie moderne (fin du XIXème siècle). Mais les effets indésirables néfastes des médicaments de synthèse se sont vite révélés et la médecine par les plantes revient aujourd'hui sur le devant de la scène en réunissant savoir traditionnel et acquis de la science **[(Attisso, 1979) ; (Yuan et al., 2016)]**.

Historiquement, les premiers bâtonnets à mâcher ont été utilisés par les Babyloniens entre 7000 et 3500 ans avant J.C, par les Egyptiens vers 3000 ans avant J.C et par les Chinois vers 1600 ans avant J.C **(Almas, 2002)**. Dans l'écriture ancienne, le mot «Sanskrit» (4000-3000 ans avant J.C) confirme qu'on utilisait en Inde des brindilles mâchées en bois de mangoustier pour l'hygiène bucco-dentaire. Avec l'avènement de l'Islam, le Prophète Mohammed ﷺ élève le nettoyage de la bouche et des dents au rang de rituel sacré en utilisant les bâtonnets d'Arak, et ce sont surtout les grands médecins musulmans, tels que Rhazès (865-935), Albucassis (936-1013) et Avicenne (980-1037) qui ont fait progresser les connaissances dans l'hygiène bucco-dentaire entre 500 et 1500 **(Lababidi, 2019)**. L'Organisation mondiale de la santé a également recommandé et encouragé l'utilisation de ces bâtons pour l'hygiène buccale **(WHO, 2000)**. De nos jours, ils sont utilisés dans de nombreuses parties du monde, principalement en Afrique et au Moyen-Orient **[(Almas, 2002); (Niazi et al., 2016)]**.

En Algérie les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, outre les croyances religieuses, certaines habitudes quotidiennes sont pratiquées et transmises depuis de nombreuses générations, comme l'utilisation de bâtonnets frotte-dents originaire des deux arbres, le noyer (*Juglans regia*) et l'Arak (*Salvadora persica*).

III.2.1. *Juglans regia*

Juglans regia, Noyer commun, Noyer royal et également nommé Calottier, Goguier, Noguier, Gland divin ou encore arbre au sommeil, est un arbre originaire des régions européennes et balkaniques depuis 2500 à 3000 ans, qui s'est répandu très loin au cours des derniers siècles, s'étendant jusqu'aux régions himalayennes, en Chine, en Afrique, en Amérique du Sud, en Asie de l'Est et en Amérique du Nord [(Darmani et al., 2006) ; (Faden, 2016)]. En Algérie, on le trouve principalement dans le massif de l'Aurès, les régions d'Annaba, de Sétif, la grande Kabylie, Tlemcen, Tebessa, Djelfa, Saïda, près de Sougueur au sud de Tiaret (Boney, 1973). Au cours du siècle dernier, l'utilisation du *derum* comme matériau de mastication a été signalée plus fréquemment dans certaines régions d'Afrique du Nord, d'Arabie saoudite, du Koweït et du sous-continent indien (Chakraborty et al., 2016). Le noyer blanc ou noyer commun (*J. regia*) est classé comme mentionné au **tableau 1**.

Tableau 1. Classification taxonomique de l'espèce *Juglans regia* (Manos et Stone, 2001)

Règne	Plante
Embranchement	Tracheobionta
Super Division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Hamamelididae
Ordre	Juglandales
Famille	Juglandaceae
Genre	<i>Juglans</i>
Espèce	<i>Juglans regia</i>

Le genre *Juglans* comprend 21 espèces. Elles sont classées en fonction des caractéristiques de leur bois en trois grands groupes : Noyers cendrés, Noyers noirs et Noyers blancs. Ce dernier correspond à la section *Dioscaryon* qui comprend la seule espèce *Juglans regia* (Figure 9) (Manchester, 1981). Les extraits organiques ainsi que les extraits aqueux des feuilles, d'écorces de *J. regia* de différents pays a montré un large spectre d'activité antibactérienne contre des bactéries à Gram positif et à Gram négatif [(Deshpande et al., 2011); (Moore Bakhtiari et al., 2016); (Dolatabadi et al., 2018) ; (Vieira et al., 2019) ; (Khattak et al., 2022) ; (Ibrahim et al., 2023)].



Figure 9. Ecorces des racines de *Juglans regia*
(Photo personnelle)

Les screenings préliminaire effectués sur l'écorces de *Juglans regia* ont révélé la présence des plusieurs constituants phytochimiques avec des concentrations élevés d'alcaloïdes, de coumarines, de quinones, de terpanoïdes, de saponosides, d'acides aminés, de protéines et des concentrations plus ou moins faible de tanins et d'anthraquinones avec l'absence total des flavonoïdes à l'inverse des feuilles [(Upadhyay et al., 2010) ; (Raja et al., 2012)]. Ces molécules renferment une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique ce qui explique l'utilisation des écorces, par rapport aux feuilles dans la médecine traditionnelle et spécialement dans l'hygiène orale [(Zakavi et al., 2013) ; (Croitoru et al., 2019) ; (Jahanban-Esfahlan et al., 2019)]. Chimiquement, l'écorce de derum contient de la « Juglone », un alcaloïde d'origine végétale, comme constituant principal et important, et est connue pour posséder des propriétés antivirales, antiparasitaires, antifongiques, antibactériennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses [(Darmani et al., 2006) ; (Salimi et al., 2012) ; (Faden, 2016) ; (Ibrahim et al., 2023)].

III.2.2. *Salvadora persica*

C'est surtout avec l'avènement de l'Islam au VI^{ème} siècle que l'utilisation de ce bâtonnet à mâcher va se répandre l'importance de ce moyen d'hygiène a été soulignée par le Prophète Mohammed rapportée dans de nombreux Hadiths « Si je ne craignais pas trop de charger ma communauté, je leur ordonnerais le siwak avant chaque prière » (rapporté par Al Bukhâri et Muslim). « Le siwak purifie la bouche et satisfait le Seigneur » (Hadith 1202 dans Riyadou Sâlihine) (Aumeeruddy et al., 2018).

Salvadora persica, est un arbuste de la famille des Salvadoracées (**Tableau 2**) originaire du Moyen-Orient. Son nom lui a été donné en 1749 en l'honneur d'un apothicaire de Barcelone, Juan Salvador y Bosca (1598-1681), par le Dr Laurent Garcin, voyageur et collectionneur de végétaux (**Ahmad et Rajagopal, 2013**).

L'arbre à Miswak pousse principalement dans les déserts où l'air est sec. Il peut supporter un taux de précipitations annuelles inférieur à 200mm. On peut l'observer dans les zones où les eaux souterraines sont facilement accessibles, au niveau des plaines inondables, dans le lit des rivières asséchées et près des cours d'eau. Ce végétal pousse jusqu'à une altitude de 1500m environ. Ainsi il a pu être observé à 1350m d'altitude dans les montagnes côtières de la Nubie et à 800 mètres d'altitude dans le Hoggar, massif montagneux dans le sud de l'Algérie (**Lababidi, 2019**).

Tableau 2. Classification taxonomique de l'espèce *Salvadora persica* (**Haque et Alsareii, 2015**)

Règne	Plante
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Brassicales
Famille	Salvadoraceae
Genre	<i>Salvadora</i>
Espèce	<i>Persicaoleoides</i>
Nom binomiale	<i>Salvadora persica</i>



Figure 10. Bâtons de *Salvadora persica* (Photo personnelle)

Le bâton à mâcher Miswak (**Figure 10**) est généralement obtenu à partir de n'importe quelle partie boisée mince de l'arbre. La plupart du temps, il est récolté sur des branches et des racines ligneuses également (**Nikawa et al., 1998**). Beaucoup d'études démontrent de manière significative l'effet antibactérien et anti-plaque du Miswak, et par conséquent son efficacité contre certaines pathologies buccales infectieuses et inflammatoires. Contrairement aux idées reçues, plusieurs études montrent que le Miswak est aussi efficace que la brosse à dents classique concernant l'élimination de la plaque (**Ahmad et Rajagopal, 2013**). Les propriétés de ce bâtonnet sont essentiellement dues à l'Isothiocyanate de benzyle qu'il contient.

On retrouve une quantité plus importante de ce composé dans la racine que dans les branches (**Sher et al., 2011**). En plus de ce composant, des éléments inorganiques tels que le Fluorure, le Calcium et le Phosphore, vont participer à l'effet bénéfique du Miswak. D'autres métabolites bioactifs sont identifiés comme contribuant à l'efficacité de cet outil bucco-dentaire tels que les alcaloïdes, les acides, les tannins, les saponins, la vitamine C et bien d'autres composés [(**Aumeeruddy et al., 2018**) ; (**Sağır et al., 2024**)].

Matériel et méthodes

Ce travail de thèse a été réalisé au laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au Biomédical et à l'Environnement "LAMAABE", de la faculté de biologie SNV/STU Université Abou Berk Belkaid, Tlemcen.

I. Population étudiée : collecte de données

De Novembre 2012 à Février 2014, les patients venus à la clinique dentaire, (faculté de médecine- Université de Tlemcen) pour des soins ou pour confection de nouvelles prothèses ont été retenus pour cette étude.

Les participants ont été informés des objectifs de l'étude et ont donné leur consentement avant de procéder aux prélèvements. La population étudiée devait satisfaire aux critères suivantes pour l'inclusion dans cet étude: (a) l'absence de maladie buccale active, (b) aucun antécédent de traitement antimicrobien au cours des huit semaines précédentes, (c) bon état de santé général, sans maladie systémique. Le sujet volontaire s'engage à répondre à un questionnaire sur l'hygiène buccale et sur ses habitudes de port et d'entretien apporté à la prothèse dentaire (**Annexe I**).

II. Prélèvement sur prothèses dentaires et culture bactérienne

Une cyto-brosse stérile imbibée d'une solution saline (NaCl 0.9 % m/v) a été utilisée pour frotter l'intrados des prothèses amovibles (maxillaires et mandibulaires) des patients déjà recensés. Les brosses ont été ensuite placées individuellement dans des tubes en verre stériles puis acheminés vers le laboratoire pour une culture bactérienne immédiate. Un enrichissement a été réalisé sur bouillon cœur cerveau (BHIB, Conda, Espagne) suivi d'un ensemencement et d'une purification sur milieu gélosé Columbia ANC (Liofilchem, Italie) supplémenté avec 5% (v/v) de sang. La culture est réalisée en aérobiose pendant 48h à 37°C.

III. Identification des genres bactériens *Streptococcus* et *Enterococcus*

Un examen macroscopique a été réalisé en premier, suivi d'un examen microscopique après une coloration différentielle de Gram sur des cultures à catalase négative. Des détails de la forme et mode de regroupement des bactéries ont été mis en évidence.

L'identification par des caractères biochimiques a été réalisée à l'aide des galeries API®20 Strep (Biomérieux, France). Cette méthode repose sur l'utilisation d'une galerie biochimique qui comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation des sucres. La lecture des plaques est basée sur les virages des indicateurs colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (VP1, VP2,

NIN, ZYM A et ZYM B). L'identification est obtenue à partir du profil numérique grâce au logiciel API® (Leyral et Joffin, 1998).

L'identification est confirmée par une spectrométrie de masse MALDITOF (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization - Time Of Flight). Celle-ci était réalisée au niveau du Centre National de Référence des Streptocoques CNR-Strep, laboratoire de bactériologie, pôle de biologie, hôpitaux universitaires Paris centre.

Notons que la spectrométrie de masse MALDI-TOF est adaptée comme technique rapide, précise et peu coûteuse pour la routine des laboratoires de microbiologie. Elle repose sur une technique d'ionisation, mise au point dans les années 80, et conduisant à l'identification de biomarqueurs de poids moléculaires élevés (Descy et al., 2010).

En pratique, la bactérie à identifier, recouverte d'une matrice organique, est déposée sur une cible frappée par un faisceau de laser (Figure 11). Les molécules de la matrice absorbent l'énergie transmise par le laser, s'excitent et s'ionisent. Les ions ainsi générés sont propulsés dans le tube de vol afin d'être séparés selon leur temps de vol (TOF Time-Of-Flight) et de produire un spectre de masse. Le spectre de masse obtenu est une sorte d'empreinte digitale spécifique et unique de la composition en protéines de la bactérie analysée. L'appareil fournit un profil spectral qui est comparé aux spectres de référence d'une base de données. Les librairies de spectres sont fournies, validées et mises à jour par les firmes commercialisant les systèmes MALDI-TOF [(Clark et al., 2013) ; (Suarez et al., 2015)].

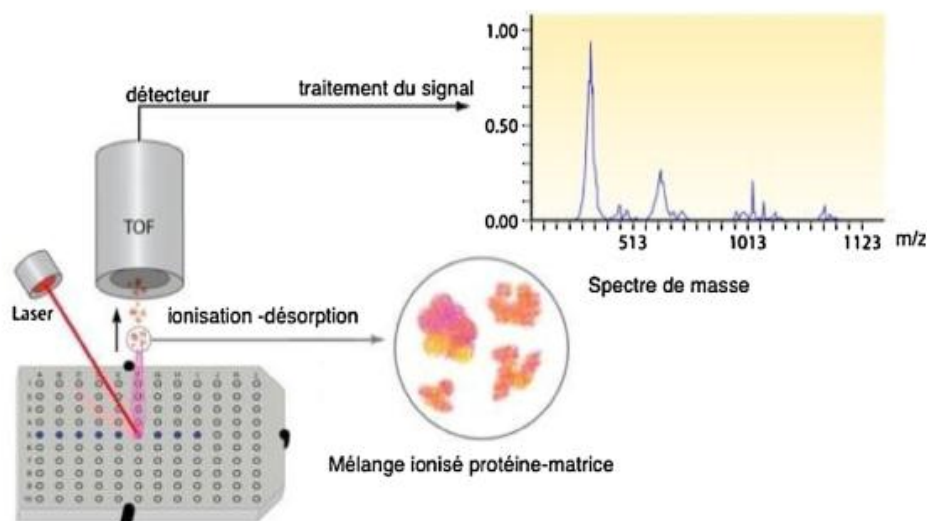


Figure 11. Principe de la spectrométrie de masse MALDI TOF (Suarez et al., 2015)

IV. Evaluation de la capacité des souches à former des biofilms

Deux méthodes phénotypiques ont été utilisées pour détecter la production de biofilm de tous les isolats; une qualitative, par la méthode de la gélose au rouge Congo RCA, et une quantitative, par la méthode de culture sur microplaque TCP.

IV.1. Evaluation qualitative

Les souches ont été criblées pour leur capacité à produire du Slime sur gélose au rouge Congo selon la méthode de **Freeman et al., (1989)**. Le milieu RCA a été préparé avec 37g/L de BHIB, 50 g/L de saccharose, 10 g/L d'agar et 0,8 g/L de rouge Congo. Le colorant rouge Congo a été préparé sous forme de solution aqueuse et autoclavé à 121°C pendant 15min séparément des autres constituants du milieu. Celui-ci a été ajouté à la préparation refroidie à 55°C. Les géloses ont été inoculées et incubées à 37°C pendant 24h à 48h. Pour l'évaluation de la couleur des colonies, une échelle de référence à quatre couleurs a été utilisée selon **Satorres et Alcaráz (2007)**: le noir et le bordeaux presque noir ont été classés comme producteurs de biofilm, tandis que le bordeaux et le rouge comme souches non productrices de biofilm.

IV.2. Evaluation quantitative

L'étude de la formation de biofilm a été réalisée par coloration au cristal violet. Cette technique permet une évaluation quantitative de la formation de biofilm puisque la coloration adsorbée est directement corrélée à la densité du biofilm formé (**Musk et al., 2005**). La formation du biofilm a été réalisée dans des microplaques de 96 puits à fond rond, selon le protocole de **Stepanovic et al., (2007)**. Les cultures ont été utilisées pour préparer une suspension bactérienne standardisée, dans un bouillon BHIB (Conda, Espagne), ajustée à 0,5 McFarland. Un volume de 200µL de suspension bactérienne a été mis dans les puits de microplaque, les puits contenant du BHIB seul et non inoculé ont été utilisés comme témoins négatifs (t). Après une incubation de 48h à 37°C, le contenu de chaque puits a été aspiré, puis lavé quatre fois avec de l'eau distillée stérile. Les bactéries adhérentes dans chaque puits ont été fixées avec 200 µL de méthanol. Après 20 min, la microplaque a été vidée et laissée à l'air ambiant. La couche de biofilm adhérente ainsi formée dans chaque puits a été colorée avec 150mL de cristal violet (1%) pendant 15 min à température ambiante. Après coloration, les microplaques ont été rincées, séchées et le colorant de chaque puits a été re-solubilisé avec 150 mL d'éthanol à 95%. La densité optique (DO) a été mesurée à 490 nm avec un lecteur de microplaque (ELx800 Biotek, USA). L'expérience a été réalisée trois fois pour chaque souche et les isolats ont été classés selon la classification établie par **Stepanovic et al., (2007)** :

$DO \leq DO_t$: non productrice de biofilm,
 $DO_t < DO \leq 2 \times DO_t$ faiblement productrice,
 $2 \times DO_t < DO \leq 4 \times DO_t$ modérément productrice,
 $4 \times DO_t < OD$ fortement productrice.

V. Détermination de l'hydrophobicité des surfaces cellulaires

La mesure de l'adhésion des cellules bactériennes à des solvants, permet de déterminer les propriétés des surfaces bactériennes intervenant dans les phénomènes d'adhérence. L'hydrophobicité des surfaces bactériennes a été déterminée selon une adaptation de la méthode MATS (Microbial Adhesion to Solvents) décrite par **Bellon-Fontaine et al., (1996)** en utilisant l'hexadécane comme solvant.

Les souches bactériennes ont été mises en culture à 37°C durant 24 h dans le bouillon BHIB à partir d'une culture jeune. Les cellules bactériennes ont été récupérées par centrifugation 10min à 5000 tours/min, à froid, avec 2 lavages en solution tampon, est remise en suspension dans le même tampon pour obtenir une DO comprise entre 0.8 et 1 (A_0). La suspension est répartie dans des tubes en verre à raison de 3mL par tube auxquels sont rajoutés 400µL de solvant. Les tubes ont été vortexés durant une minute, après un repos permettant la séparation des phases, la DO de la phase aqueuse (A_1) est lue, permettant ainsi d'extraire le pourcentage de bactéries adhérees au solvant par la formule suivante :

$$A = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

L'expérience est réalisée trois fois pour chaque souche. Les isolats avec un pourcentage A supérieur à 50% ont été arbitrairement classés comme hydrophobes. Isolats avec pourcentage entre 20 et 50% classés comme modérés et ceux avec un pourcentage inférieur à 20% classés comme faiblement hydrophobes ou hydrophiles [(**Gibbons et Etherden, 1983**) ; (**Lee et Yii, 1996**)].

VI. Approche prédictive de l'adhésion bactérienne

L'énergie libre de surface d'un liquide, qui correspond à sa tension de vapeur superficielle est facilement mesurable. La goutte en état d'équilibre avec sa vapeur saturante sur une surface lisse, va prendre spontanément la forme d'une calotte sphérique et formera un angle θ avec ce substrat. Des méthodes de mesure d'angle de contact (θ) formé par une goutte de liquide (L) de tension superficielle connue, déposée sur une surface solide (S) ou un tapis de microorganismes, permettent d'approcher l'adhésion théoriquement (**Bellon-Fontaine et Vernhet, 1999**) (Figure 12).

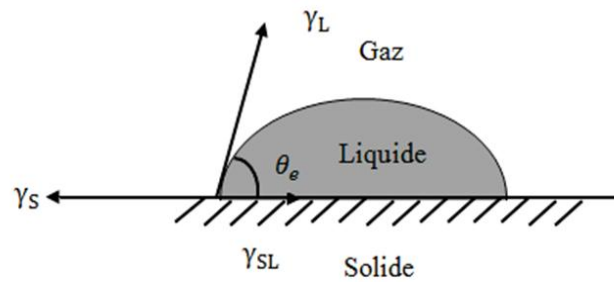


Figure 12. Profil d'une goutte déposée sur un substrat selon **Young (1805)**

γ_{SV} . La tension superficielle du solide en présence de la vapeur du liquide, peut être réduite à l'énergie de surface du solide γ_s dans le vide (ou l'air) suite à l'adsorption de vapeur du liquide selon van Oss.

γ_{SL} . Energie libre interfaciale entre le solide et le liquide

γ_{LV} . Tension superficielle du liquide en présence de sa vapeur, elle peut être réduite à γ_L

θ . L'angle de contact

Les propriétés physico-chimiques de la surface bactérienne et de la surface solide (résine acrylique) (hydrophobicité, le caractère donneur /accepteur d'électrons) ont été déterminées par des mesures de l'angle de contact par la méthode de la goutte posée, à l'aide d'un goniomètre DIGIDROP (GBX, France) (**Figure 13**). Cette technique a été réalisée, en décembre 2015, au laboratoire de Bioprocédés et Biointerfaces, Faculté de Sciences et Techniques, Université Sultane Moulay Slimane, Béni Mellal, Maroc.

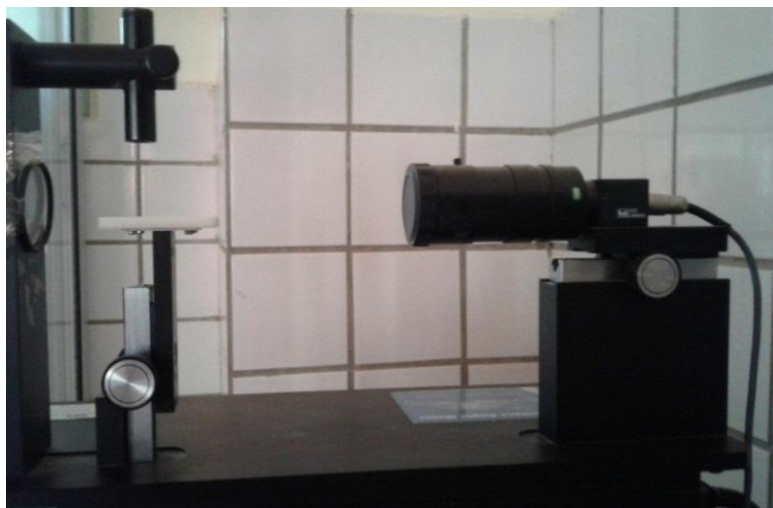


Figure 13. Goniomètre DIGIDROP(GBX, France) (**Photo personnelle**)

VI.1. Préparations des suspensions bactériennes

Les souches bactériennes ont été cultivées sur gélose au sang à 37 °C pendant 48h. Après incubation, les cellules sont récoltées par centrifugation à 8400g pendant 15 min, lavées avec une solution de KNO₃ à 0.1M par une succession de deux centrifugations puis remises en suspension dans du KNO₃ à 0.1M, ajustée à 0,5 McFarland (**Busscher et al., 1984**).

VI.2. Surface solide

Pour cette étude la résine acrylique est utilisée comme support solide de l'adhésion. Des pastilles mesurant (10×10×1) mm³ ont été fabriqués par un seul prothésiste à l'aide d'une résine de base polymérisable à chaud en polyméthacrylate de méthyle (PMMA) conformément aux instructions du fabricant. Les surfaces ont été finies à l'aide d'une polisseuse afin d'obtenir des spécimens avec surfaces planes et lisses. Une fois prêts, les échantillons sont mis dans des flacons et stérilisés avant chaque expérience par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

VI.3. Propriétés physico chimiques des surfaces

Une suspension bactérienne de 10mL a été déposée sur un filtre d'acétate de cellulose de 0.45µm puis filtré au moyen de la pression négative jusqu'à l'obtention de couche mince de cellules bactériennes. Les filtres humides ont été placés soigneusement sur un support de verre et laissés sécher à température ambiante pendant 30 min. L'eau, le formamide (Sigma) et le diiodométhane (Sigma) ont été utilisés comme solvants de référence (**Tableau 3**).

Tableau 3. Composants Van der waals (γ^{LW}), accepteur d'électron (γ^+) et donneur d'électron (γ^-) de l'énergie libre de surface des trois liquides utilisés dans la mesure des angles de contact.

Liquides	γ^{LW} (mJ/m ²)	γ^+ (mJ/m ²)	γ^- (mJ/m ²)
Eau distillée	21,8	25,5	25,5
Diiodométhane	48,5	0	0
Formamide	39	2,3	39,6

Une goutte se forme au bout d'une seringue pour être déposée sur la surface de l'échantillon. Une séquence d'images numériques a été immédiatement acquise à l'aide d'une caméra placée sur le goniomètre (GBX Instruments, France). Trois à dix mesures ont été effectuées pour chaque échantillon et pour chaque solvant (**Busscher et al., 1984**).

Les composantes de Lifshitz–Van der Waals (γ^{LW}), donneur d'électrons (γ^-) et accepteur d'électrons (γ^+) de la surface bactérienne et de la surface des supports ont été déterminées à partir de l'équation de **Van Oss et al., (1988)**. Dans cette approche, les angles de contact (θ) peuvent être exprimés comme dans l'équation :

$$\cos\theta = -1 + 2(\gamma_S^{LW} \gamma_L^{LW})^{1/2} / \gamma_L + 2(\gamma_S^+ \gamma_L^-)^{1/2} / \gamma_L + 2(\gamma_S^- \gamma_L^+)^{1/2} / \gamma_L$$

Les indices S et L désignent respectivement la surface et le liquide.

Et l'hydrophobicité quantitative peut être estimée en utilisant l'équation :

$$\Delta G_{iwi} = -2 \left[\left((\gamma_S^{LW})^{1/2} - (\gamma_L^{LW})^{1/2} \right)^2 + 2 \left((\gamma_S^+ \gamma_S^-)^{1/2} + (\gamma_L^+ \gamma_L^-)^{1/2} - (\gamma_S^+ \gamma_L^-)^{1/2} - (\gamma_L^+ \gamma_S^-)^{1/2} \right) \right]$$

Si $\Delta G_{iwi} < 0$, la surface est considérée comme ayant des propriétés hydrophobes. En revanche, si $\Delta G_{iwi} > 0$ la surface présente des propriétés hydrophiles.

VI.4. Adhésion des souches bactériennes sur les supports de résine acrylique

Les essais d'adhésion ont été réalisés en conditions statiques sur pastilles de résine préparées comme cité auparavant. Les cellules bactériennes ont été mises en suspension dans une solution de KNO_3 à 0.1M. Un volume de 10 mL de la suspension bactérienne, ajusté à 0,5 McFarland, a été mis en contact avec les pastilles de résines pendant 4h à température ambiante. Les cellules non adhérentes ont été éliminées en rinçant manuellement et délicatement trois fois avec de l'eau distillée stérile.

Pour étudier l'influence du pH sur l'hydrophobicité et l'adhésion bactérienne, la même technique a été réalisée; le pH de la suspension bactérienne a été ajustée dans la gamme 4-9 avant d'être mis en contact avec les pastilles de résine [(**Braindet et al., 1999**) ; (**Hamadi et al., 2009**)].

L'énergie libre d'interaction (ΔG_{BLS}^{Total}) entre une bactérie (B) et un support (S) dans un liquide (L) est considérée comme la somme de la composante de Van der Waals (ΔG_{BLS}^{LW}), de la composante acide-base (ΔG_{BLS}^{AB}) et de la composante électrostatique (ΔG_{BLS}^{EL})
 $\Delta G_{BLS}^{Total} = \Delta G_{BLS}^{LW} + \Delta G_{BLS}^{AB} + \Delta G_{BLS}^{EL}$ avec :

$$\Delta G_{BLS}^{LW} = \left[(\gamma_B^{LW})^{1/2} - (\gamma_S^{LW})^{1/2} \right]^2 - \left[(\gamma_B^{LW})^{1/2} - (\gamma_L^{LW})^{1/2} \right]^2 - \left[(\gamma_S^{LW})^{1/2} - (\gamma_L^{LW})^{1/2} \right]^2$$

$$\Delta G_{BLS}^{AB} = 2 \left[(\gamma_L^+)^{1/2} \left[(\gamma_B^-)^{1/2} + (\gamma_S^-)^{1/2} - (\gamma_L^-)^{1/2} \right] + (\gamma_L^-)^{1/2} \left[(\gamma_B^+)^{1/2} + (\gamma_S^+)^{1/2} - (\gamma_L^+)^{1/2} \right] - (\gamma_L^- \gamma_S^+)^{1/2} - (\gamma_L^+ \gamma_S^-)^{1/2} \right]$$

ΔG_{BLS}^{EL} est négligeable car les tests d'adhésion sont réalisés une force ionique élevée. Selon la composante de l'énergie totale considérée, le principe de la thermodynamique prévoit que l'adhésion sera favorisée dans le cas où elle est négative ($\Delta G_{Total} < 0$) et défavorisée dans le cas contraire (**Figure 14**) (**Gallardo-Moreno et al., 2004**).

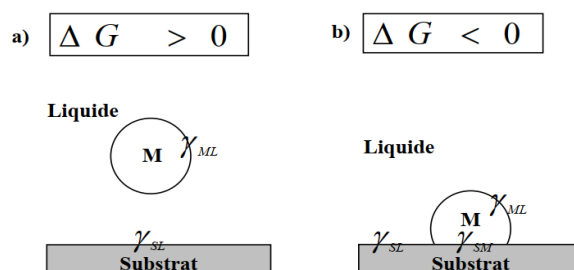


Figure 14. Approche thermodynamique de l'adhésion (**Guillemot, 2006**)

a) Adhésion défavorable b) Adhésion favorable

VII. Activité antibactérienne des extraits de *Juglans regia* et de *Salvadora persica*

VII.1. Préparation des extraits

Les bâtons à mâcher issus des deux plantes *Juglans regia* et *Salvadora persica* ont été récoltées au printemps de l'année 2015 dans différentes zones du sud Algérien (**Tableau 4**), et conservées au sec pendant deux semaines à 30°C avant la préparation de l'extrait.

Tableau 4. Parties et périodes de récolte des plantes étudiées

Nom local	Latin binomial	Partie utilisée	Lieu/Période de récolte
Miswek, Siwek, Arak	<i>Salvadora persica</i>	Branches	Tamanrasset Mars 2015
Swek	<i>Juglans regia</i>	Racines	Bayadh Avril 2015

Parmi les différentes étapes que constituent l'analyse et l'identification des molécules bioactives, l'étape d'extraction, qui a pour but la désorption des molécules d'intérêt des sites actifs de la matrice végétale, est primordiale puisqu'elle détermine la nature et la quantité des molécules extraites et par conséquent le succès des étapes suivantes (**Sasidharan et al., 2011**). Selon la méthode de **Zirihi et al., (2005)** pour la préparation de l'extrait méthanolique 80%, une quantité de 10g de bâtons à mâcher, broyés en poudre fine, est mis en suspension dans 100mL d'un mélange méthanol/eau (80/20: v/v). L'extraction a été réalisée par une macération où le mélange préparé a été laissé pendant trois jours sous agitation à température ambiante puis filtré en utilisant du papier filtre Whatman N°4 (Whatman Ltd., Angleterre).

Le filtrat obtenu a été concentré, pesé et conservé à 4°C jusqu'à son utilisation. Le rendement (R %) de chaque extrait a été calculé par la formule : $R \% = (m_0 / m) \times 100$

R : rendement d'extrait sec exprimé en pourcentage

m_0 : masse de l'extrait après évaporation en grammes

m : masse de la matière végétale du départ en gramme

VII.2. Activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée avec des souches bactériennes d'*Enterococcus* et de *Streptococcus* cultivées sur BHIB dans des conditions d'aérobie. Quant aux extraits végétaux, les différentes concentrations ont été préparées avec du diméthylsulfoxyde (DMSO) (Sigma-Aldrich, France) où il représentait moins de 2% de la solution d'essai finale.

VII.2.1. Méthode de diffusion en milieu solide

L'activité des extraits a été évaluée par la technique de diffusion en gélose (Gulluce et al., 2007). Une suspension bactérienne de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland a été préparée puis ensemencée par écouvillonnage sur gélose Müller-Hinton (Sigma Aldrich, France). A la surface de chaque boîte ensemencée, des disques de papier filtre (Whatman n°4) stérile de 6mm de diamètre ont été déposés et imprégnés avec 10 µL de l'extrait naturel étudié (concentration de 10mgmL⁻¹ pour la solution mère). Un disque contenant 10 µL de DMSO (2%) a été utilisé comme témoin négatif sur la même boîte. Les boîtes ont été laissées une heure à température ambiante avant d'être incubées à 37°C pendant 24 h. Après incubation, le diamètre de la zone d'inhibition, représentée par une auréole claire formée autour de chaque disque, a été mesuré en millimètres, disque inclus, en prenant la moyenne des trois essais. Les résultats sont exprimés selon Ponce et al., (2003):

Diamètre < 8 mm : Non sensible ou résistant.

Diamètre compris entre 9 à 14 mm : Sensible.

Diamètre compris entre 15 et 19 mm : Très sensible.

Diamètre > 20 mm : Extrêmement sensible.

VII.2.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les CMI des extraits des plantes étudiées ont été déterminées par la méthode de dilution en milieu liquide dans des microplaques à 96 puits à fond rond. une microdilution des extraits à tester est produite dans des plaques 96 puits, de manière à générer une gamme de dilution de

base de 2 à partir d'une concentration de 51.2mgmL⁻¹. L'inoculum bactérien de densité 0.5 McFarland a été ajouté dans chaque puits d'une même ligne contenant des dilutions décroissantes de l'extrait. Tous les tests ont été effectués en triple. Après 24h d'incubation à 37°C, les valeurs de DO₄₉₀ ont été mesurées à l'aide d'un lecteur de microplaques (ELx800 Biotek, USA) et utilisées pour calculer le pourcentage d'inhibition. Pour tenir compte de l'effet de la couleur d'extrait sur la lecture DO, une formule pour calculer le pourcentage d'inhibition a été utilisée. Le pourcentage moyen d'inhibition des tests répétés a été utilisé pour déterminer les valeurs finales des CMI (Quave et al., 2008).

$$\% \text{ d'inhibition} = [1 - ((\text{DO}_{\text{E24}} - \text{DO}_{\text{E0}}) / (\text{DO}_{\text{t24}} - \text{DO}_{\text{t0}}))] \times 100$$

DO_{E24} Densité optique du puits d'essai 24h après l'incubation.

DO_{E0} Densité optique du puits d'essai avant incubation.

DO_{t24} Densité optique du puits témoin de croissance 24h après l'incubation.

DO_{t0} Densité optique du puits témoin de croissance avant incubation.

VII.2.3. Activité Anti-Biofilm

Une technique de microdilution a été réalisée pour tester l'effet d'extraits de *S.persica* et de *J.regia* sur la formation du biofilm. Pour chaque souche testée, des biofilms ont été établis dans une plaque à 96 puits, les témoins négatifs (BHIB inoculé) et les témoins contrôle (BHIB stérile + Extrait) ont été inclus. À partir d'un inoculum de 18h, un volume de 200 µL, de chaque culture, a été transféré dans chaque puits de la microplaque et incubés 48 h à 37°C. Après incubation, les suspensions bactériennes ont été aspirées et du BHIB stérile a été ajouté avec la concentration appropriée de l'extrait testé. Après une incubation de 24h à 37°C, le contenu de chaque puits a été aspiré, puis lavé avec de l'eau distillée stérile. Les bactéries adhérentes dans chaque puits ont été fixées avec 200 µL de méthanol. Après 20 min, la microplaque a été vidée et laissée à l'air ambiant. Le biofilm ainsi formé dans chaque puits a été coloré avec 150mL de cristal violet (1%) pendant 15 min à température ambiante. Après coloration, les microplaques ont été rincées, séchées et le colorant de chaque puits a été re-solubilisé avec 150 mL d'éthanol à 95%. Les valeurs de densité optique DO₄₉₀ ont été utilisées pour déterminer le pourcentage d'inhibition :

$$\% \text{ Inhibition} = [(\text{DO}_{\text{BT}} - \text{DO}_{\text{TC}}) / \text{DO}_{\text{B}}] \times 100$$

DO_{BT} Densité optique du puits d'essai du biofilm traité (Biofilm+Extrait)

DO_{TC} Densité optique du puits témoin contrôle (BHIB+Extrait)

DO_B Densité optique du puits témoin négatif (Biofilm)

La concentration à laquelle l'extrait a appauvri la biomasse du biofilm d'au moins 50% a été mentionnée comme IC₅₀ (Quave et al., 2008).

VIII. Effet des extraits sur l'adhérence des souches sur la résine acrylique

Pour évaluer les effets des extraits de *J.regia* et de *S.persica* sur le biofilm bactérien, des pastilles de résine acrylique de taille uniforme (10mm×10mm×1mm) ont été préparées, stérilisées et immergées dans 5mL d'une suspension bactérienne d'une densité équivalente à 0.5Mc Farland. Après incubation de 48h à 37°C, chaque pastille a été rincée deux fois dans une solution saline stérile, puis mise en contact avec chacun des deux extraits à une concentration égale à la CMI déjà déterminée auparavant. Après huit heures de contact (durée minimale du trempage nocturne estimée) chaque pastille a subi une sonication dans 10mL de solution saline stérile 9%, dont un volume de 100µL a été étalé sur gélose Müller-Hinton. Après 48h d'incubation à 37°C, le dénombrement des cellules bactérienne été effectué. Tous les résultats ont été exprimés en pourcentage de survivant bactérien, et comparés au témoin incubé seul avec une solution saline (Mishra et al., 2014).

IX. Analyse microscopique des biofilms

IX.1. Microscopie à force atomique (AFM)

Depuis son invention à la fin des années 1980, le microscope à force atomique (AFM) est devenu un incontournable de la nanotechnologie. Là où l'étude des matériaux à l'échelle nanométrique était généralement fastidieuse, l'AFM a fourni un moyen pour que ces mesures soient effectuées de manière reproductible. Il présente l'avantage de pouvoir travailler en milieu liquide, dans des conditions très proches de l'état physiologique des bactéries et permet de connaître non seulement la structure de la surface de l'échantillon étudié (topographie), mais aussi d'en savoir plus sur ses propriétés physiques locales (élasticité, charges de surface) [(Dhahri, 2013) ; (Bishop, 2020)]. Le principe de fonctionnement de l'AFM repose sur la capacité d'une sonde à pointe très fine à enregistrer de petites forces interatomiques. Cette sonde doit être insensible aux perturbations extérieures de l'environnement, comme les vibrations du bâtiment. Dans un système AFM typique, un faisceau laser est réfléchi depuis son point d'origine sur le cantilever et vers un photodétecteur à quatre quadrants qui permet de détecter les forces interatomiques dans les directions latérales et verticales. La position et l'intensité du faisceau réfléchi sont enregistrées sur le détecteur peuvent être utilisées différemment selon le mode de fonctionnement de l'AFM (Maver et al., 2016) (Figure 15).

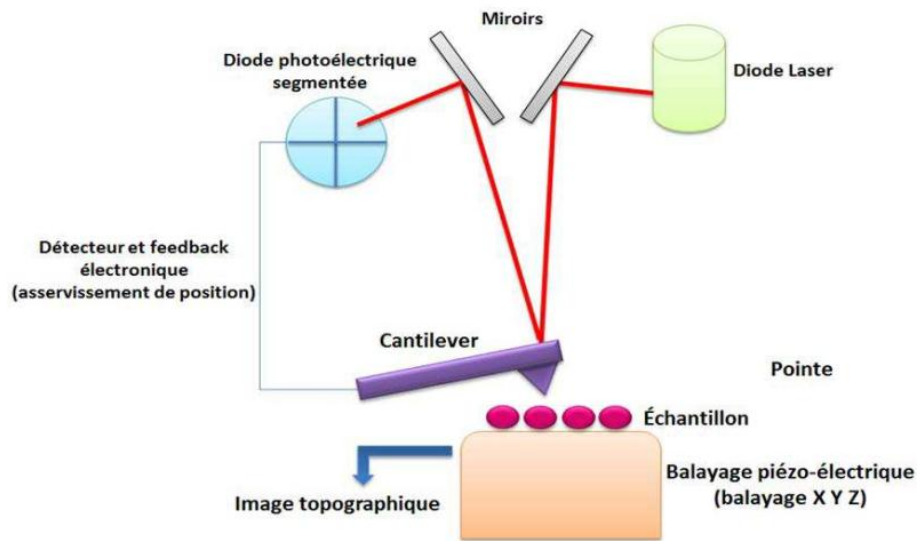


Figure 15. Principe de fonctionnement du microscope à force atomique (Dhahri, 2013)

Des pastilles de résine acrylique stériles ont été immergées dans une suspension bactérienne puis incubées pendant 24h à 37°C. Les imageries AFM ont été effectuées, sans aucun traitement préalable des pastilles, à l'aide d'un microscope (Nanosurf®, Suisse) au laboratoire des matériaux de la faculté des sciences et techniques, Béni Mellal- Maroc, pour but de visualiser et d'acquérir des données topographiques des biofilms de *Streptococcus* adhérents sur résine acrylique (Figure 16).



Figure 16. Photographie du microscope à force atomique (Photo personnelle)

IX.2. Microscopie électronique à balayage environnementale (MEBE)

La microscopie électronique à balayage environnementale (MEBE) est fondée sur les interactions électrons-matière et permet l'obtention d'images de hautes résolutions de la surface de l'échantillon. Un faisceau d'électrons balaie la surface de l'échantillon et un détecteur récupère de manière synchrone un signal pour en former une image, une cartographie de l'intensité de ce signal (**Zimmermann et al., 2007**). Contrairement au microscope électronique à balayage MEB, qui nécessite d'appliquer plusieurs étapes de traitement rigoureuses pour déshydrater l'échantillon et l'empêcher de se charger, une des principales caractéristiques du MEBE offre la possibilité de travailler sur des échantillons biologiques sans manipulations complexes et génératrices d'artefacts, ainsi leurs caractéristiques d'origine peuvent être conservées pour d'autres tests ou manipulations (**Muscariello et al., 2005**). La recherche sur les biomatériaux et l'ingénierie tissulaire est probablement le domaine dans lequel le MEBE a trouvé son application la plus complète, car elle permet d'étudier à la fois la morphologie de surface des cellules et des matériaux dans des conditions hydratées (**Motta et al., 2004**).



Figure 17. Photographie du microscope électronique à balayage (Phillips XL30)
(Photo: Laboratoire physique et chimie. Université de Tizi Ouzou)

Des pastilles de résine acrylique stériles ont été immergées dans une suspension bactérienne puis incubées pendant 24h à 37°C. Après incubation, la plaque a été rincée, puis traitée avec les deux extraits naturels. Après 4h de contact avec les deux extraits, les imageries ont été effectuées à l'aide d'un microscope électronique à balayage (ESEM, Phillips XL30) (**Figure 17**), sans aucun traitement préalable, au niveau du laboratoire de physique et chimie des matériaux de l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

Résultats et discussion

I. Résultats du questionnaire adressé aux patients porteurs de prothèses dentaires

Sur une période allant de Novembre 2012 à Février 2014, un total de 100 personnes porteuses de prothèses amovibles complètes, soit 70 femmes et 30 hommes avec des tranches d'âge allant de 40 à 84 ans étaient admises à la clinique dentaire de la faculté de médecine pour divers soins. Un questionnaire, se rapportant aux facteurs prothétiques ayant trait à l'hygiène buccale, dont le nombre d'année du port de la prothèse, la fréquence et la méthode d'entretien de celle-ci ainsi que son port nocturne, a été adressé à tous ces patients (**Annexe 1**).

Selon les réponses des patients, nous avons constaté que leurs prothèses dentaires étaient portées sur des périodes allant à un mois pour certains jusqu'à un maximum de 32 ans (**Figure 18**).

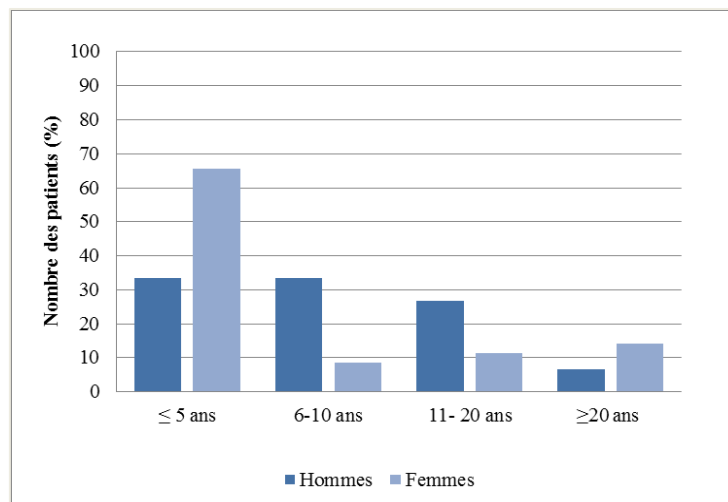


Figure 18. Durée moyenne du port des prothèses dentaires chez les patients participants

La durée de vie d'une prothèse amovible complète n'est pas clairement déterminée. Selon **Hue et Berteretche (2004)**, 50% des prothèses amovibles complètes devraient être remplacées après 5 ans. L'étude comparative de **Taylor et al., (2020)**, selon les résultats regroupés de 27 études représentant un total de 3023 prothèses, a révélé une durée de survie moyenne des prothèses complètes de 10,06 ans. En dépit de ces constatations, les patients continuent de porter des prothèses qui deviennent inadaptées, contaminées, entraînant à long terme des complications techniques et biologiques. En plus du traumatisme et des irritations chroniques des tissus buccaux, des prothèses trop anciennes peuvent prédisposer les patients à la stomatite prothétique, car leurs surfaces contiennent des porosités qui rendent difficile un nettoyage correct (**Marchini et al., 2006**). 56% des sujets interrogés, dont la majorité est représentée par des femmes (65.71%) portaient leurs prothèses sur une durée de moins de 5 ans. Les autres patients (44%) dont 34.29% des femmes et 66.67% des hommes ont déclaré

porter leurs appareils de 6 jusqu'à 32ans (**Figure 18**). Nos résultats se rapprochent de ceux rapportés en Turquie par **Tosun et Uysal (2025)**, où 37.28% des participants portaient des prothèses dentaires pendant plus de 5 ans. En Inde **Shankar et al., (2017)** ont rapporté que sur un total de 195 patients 39.5% d'hommes et 38.5% de femmes portaient les mêmes prothèses plus de 5ans. A la même année et dans ce même pays, l'étude de **Kosuru et al., (2017)** rapporte que 78% de la population indienne étudiée portaient des prothèses sur des durées moins de 5ans. En Pologne, **Szalewski et al., (2017)** rapporte que la durée du port de prothèse ne dépasse pas les 6 ans chez 50% des sujets polonais. Néanmoins, on constate que, des années auparavant, les taux étaient moindre telles les études de **De Castelluci Barbosa et al., (2008)** en Brésil, et en Turquie par **Baran et Nalçaci (2009)** et **Cakan et al., (2015)**, où seulement 22%, 25.2% et 35.2% des sujets respectivement, portaient leurs prothèses depuis 5ans au maximum. 12 des 100 patients interrogés, 10 femmes et deux hommes, déclarent porter leurs prothèses dentaires depuis plus de 20 ans, cela est due probablement au niveau de connaissance des patients, à leur niveau socio-économique et à l'accès aux soins dentaires. Notre résultat est moins alarmant que celui de **Coelho et al., (2004)** qui déclare dans son étude que plus de 50% de la population brésilienne étudiée utilisait les prothèses dentaire depuis plus de 20ans.

Selon **Grant et al., (1994)** les prothèses ne devraient pas être portées pendant la nuit, ou devraient être retirées pendant un certain nombre d'heures par jour pour permettre aux tissus de soutien de se remettre du traumatisme du contact physique. En ce qui concerne les habitudes des participants à notre étude, 84% d'entre eux déclaraient porter leurs prothèses pendant la nuit (**Tableau 5**), pourcentage très élevé si on le compare aux études de **De Castelluci Barbosa et al., (2008)** (64%), **Gueye et al., (2015)** (25%), **Iinuma et al., (2015)** (55.2%), **Shankar et al., (2017)** (13.2%), **Cinquanta et al., (2021)** (49,7) et **Philbert et al., (2024)** (36%).

Tableau 5. Les mesures d'hygiène nocturne adaptées par les patients participants

Port nocturne des appareils	N (%)
Conservation de l'appareil la nuit	84 (84%)
Retrait de l'appareil la nuit	16 (16%)
Retrait de l'appareil la nuit	N (%)
Laissé à l'air libre	02 (12.5%)
Trempé dans de l'eau seulement	04 (25%)
Trempé dans de l'eau avec Eau de Javel	10 (62.5%)

L'enquête (TOOTH) sur la santé totale des personnes âgées de Tokyo réalisée par **Iinuma et al., (2015)** avait fourni des preuves empiriques, que le port de prothèses dentaires pendant le sommeil était associé non seulement à une charge microbienne buccale inflammatoire, mais également à une pneumonie incidente, une maladie potentiellement mortelle chez les personnes très âgées. Ces résultats suggèrent que de simples habitudes d'entretien des prothèses dentaires pourraient réduire le risque d'infection dans la communauté.

Dans notre étude, parmi les 16% des patients qui retiraient leurs prothèses pendant la nuit, 10 d'entre eux (62.5%), conservaient et trempaient leurs appareils dentaires dans une solution additionnée d'eau de Javel (A raison de deux à trois gouttes dans un verre d'eau d'une capacité de 200mL, selon les réponses des sujets concernés), 25% soit 4 patients optaient pour un trempage de leurs appareils dans de l'eau du robinet seulement. Alors que 12.5% des sujets gardaient leurs prothèses la nuit dans un endroit sec (Une boîte spéciale ou dans un mouchoir) (**Tableau 6**). En Italie, les participants à l'étude de **Cinquanta et al., (2021)** ont déclaré utiliser les méthodes suivantes pour préserver la prothèse: immersion dans un nettoyant pour prothèse dentaire amovible avec comprimé effervescent (12.4 %), ou dans l'eau seulement (19.9 %) ; maintenir la prothèse au sec (28 %). Pour l'étude menée en Tanzanie par **Philbert et al., (2024)**, plus que les deux tiers des patients (69 %) conservent leurs prothèses dentaires dans de l'eau seulement pendant la nuit. L'analyse des données relatives aux habitudes d'hygiène, réalisée par **Tosun et Uysal (2025)** auprès des patients turques, a révélé que 56.8% des participants retiraient leurs prothèses dentaires la nuit, une part importante (73.72 %) conservaient leurs prothèses dentaires dans l'eau tandis que 26.26% préféraient les garder au sec. A ce propos, l'étude de **Turgut Cankaya et al., (2020)** a montré que les sujets portant leurs prothèses amovibles pendant la nuit avaient un mauvais niveau de nettoyage des prothèses dentaires. Plusieurs études démontrent que les patients qui retirent leurs appareils la nuit ne développent pas des infections sévères [(**Gendreau et Loewy, 2011**) ; (**Iinuma et al., 2015**)]. La stomatite prothétique est plus fréquente chez les patients qui gardent leur appareil pendant le sommeil du fait de l'acidose prothétique associée à une diminution du flux salivaire. Le port nocturne favorise la stagnation de la salive, et peut contribuer à l'inflammation de la membrane muqueuse due à l'accumulation de la plaque bactérienne (**Kossioni, 2011**). Le retrait de prothèse permet une circulation sanguine optimale au niveau de la muqueuse buccale, ainsi il aide à aménager une période de repos aux surfaces d'appui et favoriser leur détersion par la salive [(**Le bars et al., 2002**) ; (**Pompignoli et al., 2011**)].

Pour ce qui est de la conservation nocturne des prothèses, et contrairement aux anciennes recommandations liées à la représentation mythique de la prothèse dentaire plongée dans un

verre d'eau la nuit, **Verhaeghe et al., (2020)** estiment ne pas conserver la prothèse dans un environnement sec mais dans un récipient contenant du liquide favoriserait la croissance de micro-organismes sur la surface prothétique. Bien que les prothèses complètes puissent se déshydrater lorsqu'elles sont placées sur une surface sèche, entraînant éventuellement des altérations dimensionnelles, cela ne serait pas suffisant pour provoquer un effet cliniquement significatif sur l'adaptation de la prothèse (**Shukor et al., 2006**).

Concernant la fréquence du nettoyage adoptée chez les patients étudiés indépendamment de la technique utilisée, 80/100 participants déclaraient nettoyer quotidiennement leurs prothèses dentaires (**Figure 19**). Ce résultat, supérieur à ceux rapportés par **Dikbas et al., (2006)** 79.1%, **Cinquanta et al., (2021)** 40.4% et **Tosun et Uysal (2025)** 70.3%, diffère des rapports de **Peracini et al., (2010)** 99.06%, **Aoun et Gerges (2017)** 93% et **Aljubran et al., (2024)** (82.7%). La majorité des participants (38%) nettoyaient leurs appareils une seule fois par jour (**Figure 19**). Selon une enquête réalisée au Liban en 2017 par **Aoun et Gerges**, la majorité soit 29.5% des patients déclaraient nettoyer leurs prothèses une seule fois par jour. Pour les études de **Gueye et al., (2015)**, **Kosuru et al., (2017)** et **Kumar, (2024)**, la fréquence de nettoyage quotidien unique était de 57.1%, 80% et 60% respectivement.

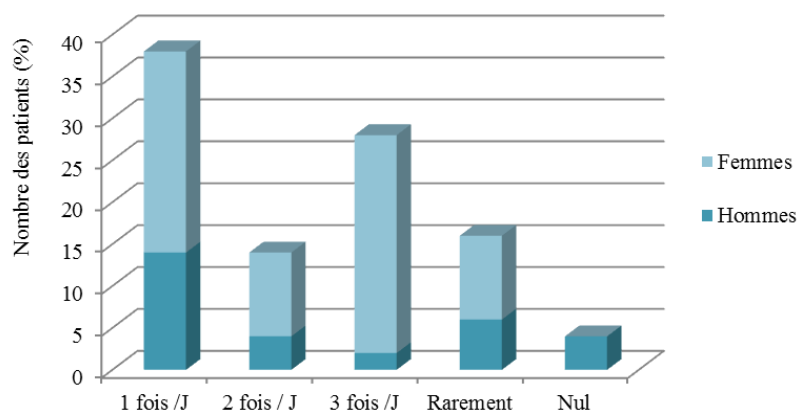


Figure 19. Fréquence d'entretien des prothèses amovibles chez les patients participants

Idéalement, comme signalé par **Casamajor et Decroix (2009)**, les individus devraient nettoyer leurs appareils après chaque repas, alors que seuls 28% des patients interrogés de cette étude le faisait (**Figure 19**). Ce résultat semble cohérent avec celui de **Dikbas et al., (2006)** (25%) mais s'avère inférieur à celui rapporté par **Almeida Júnior et al.,(2006)** (77%), **De Castelluci Barbosa et al.,(2008)** (62.6%), **Peracini et al.,(2010)** (73.58%), **Aoun et Gerges (2017)** (36.3%) et **Philbert et al.,(2024)** (27%). A ce propos, une analyse quantitative de différents schémas de traitements des biofilms prothétiques multi-espèces *in vitro*, a

indiqué qu'un nettoyage quotidien régulier fourni un avantage significativement plus grand que le nettoyage intermittent (**Ramage et al., 2019**).

20 sur 100 patients négligeaient le nettoyage quotidien (une à trois fois par semaine ou pas), confirmant sûrement leur faible niveau de connaissance sur l'entretien des prothèses. Tout de même, ce résultat reste important comparé à celui rapporté au Sénégal (3.6%) (**Gueye et al., 2015**), au Liban (6.8%) (**Aoun et Gerges, 2017**) et en Inde (13%) (**Kumar, 2024**).

La fréquence de nettoyage des prothèses s'est avérée presque similaire pour les différentes tranches d'âge des patients porteurs (**Tableau 6**). La plupart des patients âgés de 40 à 60 ans maintiennent l'hygiène de leur prothèse une fois par jour. 9% des sujets de la tranche d'âge de 61 à 70 ans déclaraient ne jamais nettoyer leurs appareils.

Tableau 6. Fréquence d'entretien des prothèses dentaires selon le sexe, l'âge des patients et la durée du port des prothèses complètes amovibles

Paramètres	Fréquences					
	n	1 fois/J %	2 fois /J %	3 fois /J %	Rarement %	Nul %
Age de prothèse						
≤ 5 ans	56	42.86	17.86	28.57	10.71	0.00
6-10 ans	16	12.50	25.00	25.00	25.00	12.50
11- 20 ans	16	50.00	0.00	25.00	12.50	12.50
≥20 ans	12	33.33	0.00	33.33	33.33	0.00
Age des porteurs						
40-50 ans	18	55.56	11.11	11.11	22.22	0.00
51-60 ans	28	35.71	14.29	28.57	21.43	0.00
61- 70 ans	44	27.27	13.64	36.36	13.64	9.09
≥70 ans	10	60.00	20.00	20.00	0.00	0.00
Sexe des porteurs						
Hommes	30	46.67	13.33	6.67	20.00	13.33
Femmes	70	34.29	14.29	37.14	14.29	0.00

Les patients âgés plus de 70 ans, soit 10/100 nettoyaient leurs prothèses quotidiennement, 6 d'entre eux ont signalé un seul nettoyage par jour. Ce résultat semble cohérent avec celui de **Kosuru et al., (2017)**, où la fréquence du nettoyage quotidien était de plus de 73% pour les sujets âgés de plus de 75 ans. Ces résultats diffèrent de ceux d'**Apratim et al., (2013)**, où plus de la moitié des participants, soit 55.6% du groupe le plus âgé (≥ 65 ans) nettoyaient occasionnellement leurs prothèses. De même pour **Saha et al., (2014)**, les patients qui nettoyaient le plus leurs prothèses étaient ceux du groupe d'âge entre 55 et 64 ans, suivi de 45 à 54 ans et > 65 ans, respectivement. Selon le même tableau, plus de 33% des prothèses

utilisées depuis plus de 20 ans n'étaient nettoyées que rarement (une à trois fois par semaine) par rapport à celles portées depuis moins de 5 ans (10%). 42/100 patients ayant porté des prothèses depuis 5 ans confirment le nettoyage au moins une fois par jour. Ces résultats étaient similaires à ceux de **Saha et al., (2014)** où plus de 52% des porteurs de prothèses neuves (≤ 5 ans) assuraient le nettoyage au moins une fois par jour. Selon **Apratim et al., (2013)**, 75.21% des porteurs de prothèses neuves la nettoyaient une fois par jour, et la plupart, soit 67.6% de ceux qui les portaient depuis plus de 5 ans maintenaient rarement l'hygiène quotidienne. Dans l'enquête de **Dikbas et al., (2006)**, des prothèses plus anciennes étaient moins propre que les nouvelles et associées à une incidence plus élevée de stomatite prothétique. La relation entre l'âge de la prothèse et l'incidence de la stomatite peut être liée à l'augmentation de la plaque microbienne et à l'accumulation de tartre causée par la dégénérescence du matériau de la prothèse.

Contrairement aux femmes, les hommes apparaissent plus négligeant concernant le nettoyage quotidien de leurs prothèses avec un pourcentage de 33.33% (prothèses rarement ou jamais nettoyées) contre 14.29 % pour les femmes (**Tableau 6**). Sur les 67% des patients qui disent s'intéresser à l'entretien quotidien de leurs prothèses, plus de la moitié déclaraient nettoyer leurs appareils une seule fois par jour. Toutefois, sur les 70 patientes interrogées, 85.71 % assuraient un nettoyage quotidien, 37% d'entre elles le faisait avec une fréquence de 3 fois par jour. Contrairement à l'étude de **Kosuru et al., (2017)** 87.6% des hommes semblent nettoyer au quotidien leurs prothèses par rapport aux femmes (82.5%). **Aoun et Gerges (2017)** confirmaient cela où des fréquences plus élevées ont été rapportées, soit 91.56% des femmes entretenaient quotidiennement leurs prothèses, dont la majorité (30.99%) l'assurait une seule fois par jour, par rapport aux 95.08% des hommes dont 31.15% qui réalisaient un nettoyage 3 fois par jour.

Quant aux méthodes de nettoyage des prothèses adoptées par les patients (**Tableau 7**), on constate que seuls deux patients appliquaient un simple rinçage à l'eau. A ce propos, au Brésil, **Peracini et al., (2010)** rapporte que 38.71% des patients effectuaient un nettoyage par immersion dans l'eau seule. Selon le même tableau, 96% des personnes auditées optaient pour un brossage (méthode mécanique) pour nettoyer leurs prothèses dentaires. Cette méthode mécanique est trouvée dans la plupart des études telle l'étude de **Marchini et al., (2004)** (79.7%), **Coelho et al., (2004)** (80.1%), **Ogunrinde et Opeodu et al., (2015)** (90.9%), **Cakan et al., (2015)** (93.6%), et **Kumar (2024)** (67%), cela est due sûrement au fait que les gens continuent généralement à utiliser la même technique d'hygiène buccale qu'ils utilisaient avant de perdre leurs dents. A ce propos, **Nishi et al., (2012)** estiment qu'un nettoyage

mécanique de prothèse avec une brosse était associée à de plus faibles quantités de plaque prothétique et que l'utilisation quotidienne était meilleure qu'une utilisation mensuelle.

Tableau 7. Méthodes et produits d'entretien des prothèses dentaires chez les patients participants

Méthodes et produits d'entretien	N %
Rinçage à l'eau sans brossage	02 (2%)
Brossage avec l'eau courante	24 (24%)
Brossage avec eau et pâte dentifrice	62 (62%)
Brossage avec eau additionnée d'eau de Javel	08 (8%)
Brossage avec eau et Savon Marseille	02 (2%)
Trempage avec comprimé effervescent	02 (2%)
Usage de bain de bouche	03 (3%)

Les méthodes mécaniques, telles que les brosses à dents sont recommandées pour le nettoyage de routine. Néanmoins elles peuvent conduire à une abrasion de surface, ce qui n'est pas souhaitable pour des raisons esthétiques et biologiques. Les prothèses à base d'acrylique sont les plus prescrites et peuvent être facilement rayées si les poils sont trop rigides ou fabriqués à partir d'un matériau plus dur que l'acrylique. Une profondeur supérieure ou égale à 0.20 μm est suffisante pour l'adhérence microbienne et la formation de biofilm (**Felipucci et al., 2011**). C'est pourquoi **Katsikogianni et Missirlis** déjà en **2004** recommandaient l'utilisation de brosses spéciales conçues pour le nettoyage des prothèses amovibles, fabriquées à partir de nylon dont la rigidité varie de douce à moyenne; ceux-ci ne rayeront généralement pas l'acrylique.

Les données recueillies suite à notre questionnaire montrent que la majorité des patients, soit 62%, utilisaient une pâte dentifrice pour nettoyer leurs prothèses (**Tableau 7**), ce qui s'est avéré être un phénomène courant pour nettoyer mécaniquement les prothèses vu sa familiarité, son coût relativement abordable, sa facilité d'utilisation ainsi que le manque de protocoles valables sur les agents de nettoyage appropriés [(**Kulak-Ozkan et al., 2002**) ; (**Marchini et al., 2004**) ; (**Cakan et al., 2015**) ; (**Shankar et al., 2017**) ; (**Cinquanta et al., 2021**)]. **Peracini et al., (2017)** annonçaient que l'utilisation de dentifrice et de brosse à dents induisait des pigmentations et des abrasions, entraînant des défauts physiques sur l'acrylique

de la prothèse avec une modification de la topographie de la surface pouvant conduire à une adhérence microbienne plus importante.

Environ le quart des participants à cette étude (24%) utilisaient un nettoyage mécanique sous l'eau courante (**Tableau 7**). Selon plusieurs auteurs tels **Ozcan et al., (2004)**, **De Castellucci Barbosa et al., (2008)**, **Kosuru et al., (2017)** et **Aljubran et al., (2024)**, 17.1%, 8%, 61% et 60.7% des personnes interrogées respectivement adoptaient cette même technique. **Cruz et al., (2011)** ont démontré que le brossage des prothèses amovibles avec l'eau seule présentait un véritable inconvénient car favoriserait l'accumulation du biofilm et adhérence de bactéries, donc inutile pour le nettoyage.

Tout comme le dentifrice, les travaux de **De Sousa Porta et al., (2015)** et **Qiu et al., (2023)** ont montré que le brossage avec de l'eau de Javel entraînait une augmentation de la rugosité de la surface acrylique favorisant l'adhésion de la plaque bactérienne. L'utilisation de l'eau de Javel ceci a été observé chez 8 patients interrogés dans cette étude (**Tableau 7**). Les nettoyeurs à base d'eau de Javel constituée principalement d'hypochlorite de sodium (ClONa) peuvent altérer de façon permanente la couleur et les propriétés physiques de l'acrylique en accentuant ainsi les porosités de la résine, et par conséquent une colonisation et une adhésion bactérienne importante, s'ils sont utilisés à une température trop élevée ($> 37^{\circ}\text{C}$), une concentration trop élevée ($> 2\% \text{ p/v}$) et pour des périodes d'immersion prolongées (jours et mois) [(**Porwal et al., 2017**) ; (**Papadiochou et al., 2018**)].

Seuls deux patients sur les cents (2%) interrogés utilisaient du savon de Marseille pour le brossage de leur appareil dentaire (**Tableau 7**). **Gueye et al., (2015)** rapportent que chez 58.9% des patients sénégalais, le savon était l'adjuvant du brossage le plus utilisé. En Roumanie, 17.3% des participants à l'étude de **Bacali et al., (2021)** préféraient l'utilisation du savon pour brosser leur prothèses dentaires. Par contre pour les italiens, le brossage mécanique avec un dentifrice était le plus courant (29%), suivi du brossage du savon à pH neutre ou du liquide vaisselle (20.5 %) (**Cinquanta et al., 2021**). Les études d'**Esclassan et al., (2000)** et **Dupuis (2005)** confirment que le savon de Marseille est moins abrasif par rapport au dentifrice prothétique et au dentifrice dentaire.

Nos résultats sont en désaccord avec ce qui a été rapporté par **Patel et al., (2012)** où la majorité (58.29%) se brossait à l'eau uniquement, 25.13% au savon et 16.58% au dentifrice. Cependant, pour les patients libanais interrogés par **Aoun et Gerges (2017)**, le rinçage à l'eau du robinet uniquement était la technique de nettoyage de jour la plus courante (34.1%), suivi du brossage au dentifrice (31.8%), puis du brossage à l'eau (10.6%). Seulement 3% des patients ont déclaré avoir brossé leur prothèse avec du savon. Selon **Tosun et Uysal (2025)**,

les agents nettoyants pour prothèses dentaires utilisés par les patients turques variaient entre (28.65%) des participants qui utilisaient du dentifrice, (21.35%) du savon, (11.9%) de l'eau de Javel, (10%) de l'eau courante seulement, (9.89%) du bain de bouche et (3.12%) du bicarbonate de soude.

Le faible taux d'utilisation des bains de bouche et des comprimés nettoyants commerciaux dans cette étude (**Tableau 7**) peut être attribué à un coût relativement plus élevé, au manque de sensibilisation des consommateurs et d'informations concernant ces produits. Ce constat a été également rapporté au Sénégal par **Gueye et al., (2015)** où 3.6% des patients édentés déclaraient utiliser des bains de bouches. Contrairement aux travaux de **Szalewski et al., (2017)** où 41% des participants interrogés de la province de Lublin (Pologne) ont déclaré utiliser des soins dentaires commerciaux. Les comprimés effervescents sont efficaces dans la réduction de la croissance des micro-organismes; puisque ces comprimés en plus de leur effet antibactérien, ils fonctionnent aussi par mécanisme de libération d'oxygène ce qui détache les débris alimentaires (**Yadav et al., 2013**). 2% des patients inclus dans cette étude utilisaient des comprimés nettoyants contrairement aux valeurs rapportées dans les études de **De Castellucci Barbosa et al., (2008)** (8%), de **Bacali et al., (2021)** (22.2%), de **Aljubran et al., (2024)** (19.3%) et de **Tosun et Uysal (2025)** (11.45%). La méconnaissance de cette procédure de nettoyage ne peut être attribuée à une information manquante mais aussi à un statut socioéconomique faible. Les résultats des études de **Kiesow et al., (2016)** et **Ramage et al., (2019)** ont démontré que l'utilisation d'un nettoyant chimique entraînait une réduction significative de la charge microbienne par rapport au brossage à l'eau, et même par rapport à un bain de bouche (**Srinivasan et Gulabani, 2010**). Cependant, en parallèle, plusieurs travaux ont affirmé une augmentation significative de la rugosité de surface des résines de base des prothèses après désinfection répétée par immersion dans différentes solutions chimiques contenant du perborate de sodium, du bicarbonate de sodium et des peroxydes alcalins [(**Peracini et al., 2010**) ; (**Durkan et al., 2013**) ; (**Ozyilmaz et Akin, 2019**)]. Récemment, **Axe et al., (2019)** ont proposé une nouvelle méthode de nettoyage des prothèses dentaires consistant en une lingette imprégnée d'une solution de nettoyage antibactérienne. Ils sont conçus pour un nettoyage discret des prothèses dentaires dans des situations où les méthodes de nettoyage mécaniques et chimiques habituelles sont peu pratiques ou impossibles et leur utilisation est donc complémentaire aux autres méthodes de nettoyage conventionnelles. Il n'y a pas encore d'études qui ont évalué l'efficacité antimicrobienne de ces lingettes par rapport aux méthodes chimiques standards, telles que les solutions à base d'eau de Javel ou de type effervescent.

Suite à notre audit, la plupart des participants ne sont pas très conscients de l'hygiène prothétique et de ses diverses complications concluant un manque de connaissances et de sensibilisation des porteurs de prothèses qui les motivent à appliquer de bons régimes de soins de leurs appareils dentaires. Les prothèses dentaires doivent être maintenues en bon état en les nettoyant très souvent afin d'enlever la plaque adhérente pouvant être une source de désagréments, comme des colorations et la mauvaise haleine, et de pathologies buccales et systémiques telles que la pneumonie par aspiration, l'endocardite, l'infection gastro-intestinale et la maladie pulmonaire obstructive chronique [(Le bars et al., 2002) ; (Iinuma et al., 2015)]. Les patients doivent être formés aux bonnes pratiques d'hygiène et de nettoyage des prothèses dentaires car il existe une relation statistiquement significative entre le niveau de connaissance des patients en matière d'entretien des prothèses dentaires et la qualité de l'hygiène [(Cankaya et al., 2020) ; (Mylonas et al., 2022)].

II. Isolement et identification des souches de *Streptococcus* et *Enterococcus*

91% des prélèvements effectués sur l'intrados des prothèses dentaires étudiées, ont donné une culture positive sur milieu BHIB (**Tableau 8**). En se basant sur la culture et l'aspect macroscopique des colonies sur gélose Columbia ANC au sang (milieu sélectif des bactéries à Gram positifs), la moitié des cultures (51%) étaient positives, donnant sur gélose au sang de petites colonies grises, rondes, développant une hémolyse de type α et β (**Figure 20**).

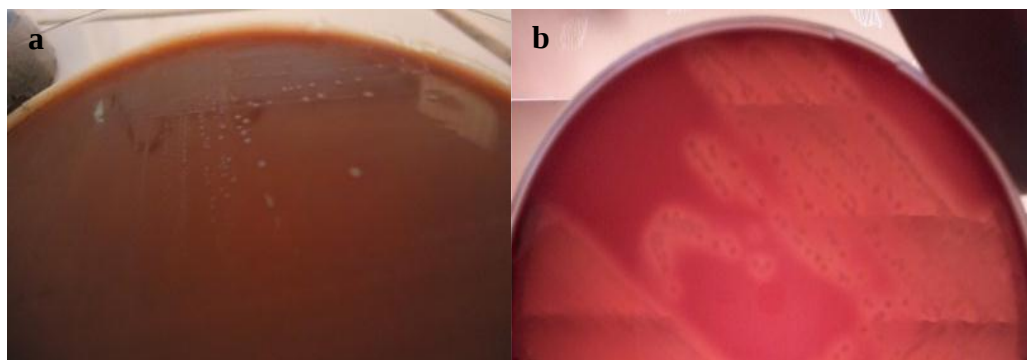


Figure 20. Aspect de culture sur gélose au sang **a)** α -hémolytique **b)** β -hémolytique
(Photos personnelles)

47.5% des cultures positives ont donné des colonies avec un seul aspect morphologique sur gélose au sang montrant une colonisation avec une seule bactérie et seul 4% ont donné plusieurs aspects (**Tableau 8**).

Tableau 8. Taux de contamination des prothèses dentaires chez les patients participants

Prothèses étudiées	Culture positive sur BHIB	Contamination avec des bactéries à Gram+
Maxillaire	93/93 (100 %)	57/93 (61%)
Mandibulaire	71/87 (81%)	27/71 (38%)
Total	164/180 (91%)	84/164 (51%)

Les prélèvements faits à partir de l'intrados de prothèses maxillaires étaient tous positifs sur milieu BHIB, comparés aux ceux réalisés sur des prothèses mandibulaires (81%). Le taux de colonisation avec des bactéries à Gram positif sur gélose au sang était plus important sur prothèses maxillaires (61%) que sur les mandibulaires (38%) (**Tableau 8**). Contrairement à l'étude de **Mushtaha (2019)** réalisée à Gaza, où les cultures positives à partir des prothèses mandibulaires et maxillaires présentaient 92% et 85% respectivement. La plaque prothétique la plus problématique se produit sur la surface d'ajustement maxillaire (le palais). La stomatite prothétique est couramment observée sur la muqueuse palatine de la mâchoire supérieure. Cependant, en plus de la dimension réduite de la surface d'appui à la mandibule comparée à la surface palatine, la muqueuse sous les prothèses mandibulaires est protégée par le flux salivaire, elle est donc moins affectée [(**Dar Odeh et al., 2012**) ; (**Sartawi et al., 2021**)]. La microflore de la plaque dentaire et prothétique diffère en termes de composition et d'emplacement, elle varie d'une personne à l'autre et d'un site à l'autre dans la bouche et sur la prothèse. Contrairement aux surfaces polies externes, l'intrados est une zone relativement stagnante de la surface prothétique qui s'adapte aux muqueuses où l'acidité, les faibles débits salivaires, l'accumulation de débris alimentaires et des cellules desquamées avec une topographie rugueuse favorisent la prolifération microbienne et la formation de la plaque sous prothétique (**Verran ,1999**).

La coloration de Gram des colonies bactériennes a permis l'observation de petites cocci à Gram positif regroupés par deux ou bien en courtes chainettes. Le test enzymatique effectué a révélé une réaction négative de l'enzyme catalase chez 64 espèces isolées (catalase -) (**Figure 21**). Ce test est important pour une première orientation dans l'identification des souches étudiées.

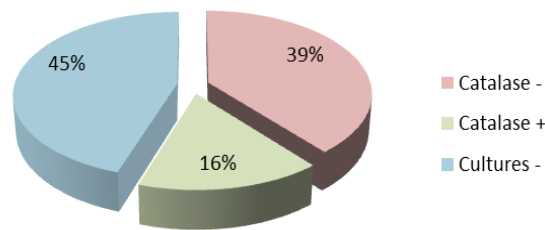


Figure 21. Résultat des cultures bactériennes et des réactions à la catalase

L'identification a été confirmée par l'indice de profil analytique du système API® 20Strep et les résultats MALDITOF. L'identification biochimique par galerie API® 20Strep nous a permis de mettre en évidence la présence de plusieurs genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus* et *Gemella* (Figure 22).

Dans le genre *Streptococcus*, l'espèce *Streptococcus mitis* avec 47% était la plus fréquemment isolée des prothèses, suivies par *S.sanguinis* (19%) et *S.oralis* (13%). Quant au genre *Enterococcus* l'espèce *E.durans* était dominante avec 50% par rapport à *E.faecalis*, *E.avium* et *E.faecium* (Figure 22).

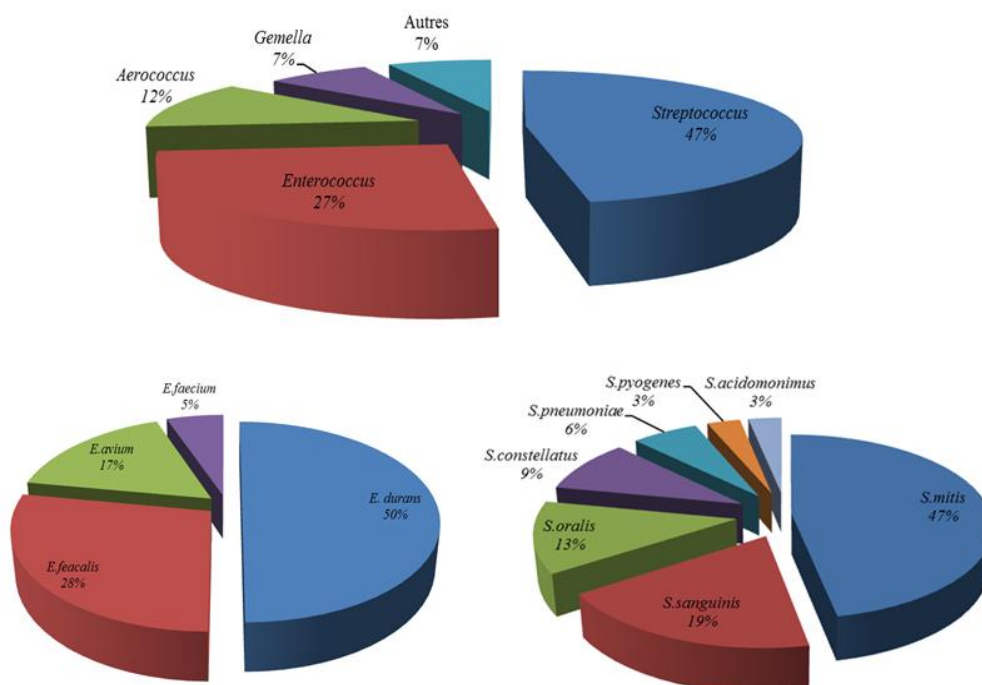


Figure 22. Répartition des espèces identifiées par API® 20Strep

La taxonomie complexe des streptocoques a conduit à des difficultés dans la définition d'une technique « de référence » qui fournirait une identification précise au niveau de l'espèce. Les limitations du système API[®] sont liées à la subjectivité inhérente à l'interprétation des réactions colorimétriques, qui peut interférer avec l'identification obtenue (**Teles et al., 2011**). Selon **López Roa et al., (2013)** la technique MALDITOF reste très efficace vu que celle-ci a pu identifier 94 % des isolats au niveau du groupe, tandis que le système API[®] 20Strep n'a pu en identifier que 70 % des souches. **Rosa et al., (2019)** rapportent qu'en comparaison avec la PCR-RFLP et l'analyse de séquence, API[®] 20Strep a montré une concordance de 82.6 % contre 85.1 % avec MALDITOF, favorisant cette dernière en termes de rapidité, de fiabilité et de faible coût. Suite à cela, nous avons considéré les résultats des analyses par MALDITOF comme identification définitive vu que les souches du genre *Streptococcus* identifiées par API[®] 20Strep ont été identifiées comme étant d'autres espèces par MALDITOF (**Figure 23**). L'espèce la plus fréquente du genre *Enterococcus* identifiée est *E.durans* (57%). Cette dernière était la plus fréquemment retrouvée par **Komiyama et al., (2016)** chez les patients âgés, suivis des adultes et les enfants et n'a été isolée ni chez les adolescents ni chez les jeunes adultes. *E.faecalis* était la deuxième espèce isolée, représentant 7% des isolats.

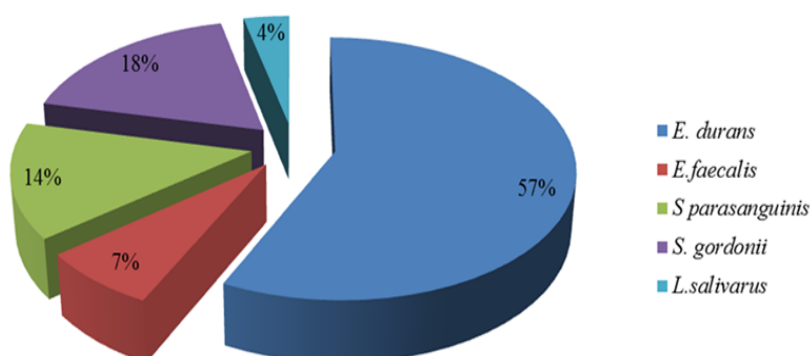


Figure 23. Répartition des espèces identifiées par spectrométrie de masse MALDITOF

L'origine du genre *Enterococcus* dans la cavité buccale n'est pas encore claire. Certains soutiennent que la plupart pénètrent dans la cavité buccale en tant que contaminants dérivés de la flore intestinale normale, tandis que la translocation ou le transfert de personne à personne par l'eau ou des aliments contaminés ont été suggérés par d'autres [(**Araya et al., 2005**) ; (**André et al., 2005**)]. Cependant, **Vidana et al., (2016)** n'ont trouvé aucune preuve de transmission alimentaire des *Enterococcus*. Il existe peu de rapport antérieur sur le portage oral chez des individus de différents groupes d'âge, en bonne santé ou malades, et des travaux supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ou réfuter les données actuelles. Les données

présentées sur le portage des espèces d'*Enterococcus* orales, au Brésil, par **Komiyama et al., (2016)** soulignent et confirment d'avantage que les populations orales commensales ont les attributs de virulence requis, y compris la résistance à la tétracycline des isolats cliniques, pour en faire des organismes candidats idéaux pouvant provoquer une maladie orale ou systémique et constituer une menace de propagation de l'infection nosocomiale, en particulier chez les patients des unités de soins intensifs, et ceux sur les ventilateurs mécaniques.

Les espèces du genre *Streptococcus* identifiées sont représentées par *S.gordonii* (18%) et *S.parasanguinis* (14%) (**Figure 23**). Ces deux espèces font partie du groupe α -hémolytique (viridans) et appartiennent au groupe Mitis, espèces pionnières dans la bouche des nouveau-nés (Colonisateur primaire) qui permettent l'assemblage d'un microbiote complexe et qui prédominent la formation précoce des plaques dentaires (**Abranches et al., 2018**). *S.gordonii*, colonisateur initial de la surface de la dent, est le principal agent étiologique des caries dentaires, provoquant la dissolution de l'émail dentaire (**Cvitkovitch et al., 2003**). Il est également connu comme un agent pathogène opportuniste qui se fixe facilement aux tissus de l'hôte, y compris les surfaces dentaires et les valves cardiaques, formant des biofilms qui peuvent provoquer des maladies locales ou systémiques, telles que la parodontite apicale et l'endocardite infectieuse (**Park et al., 2020**).

Streptococcus parasanguinis à son tour est un colonisateur précoce de la plaque dentaire (**Garnett et al., 2012**) et inhibe de manière significative la croissance des parodontopathogènes en produisant du peroxyde d'hydrogène (**Herrero et al., 2016**). C'est une bactérie répandue dans la cavité buccale des adultes et des nourrissons (**Dzidic et al., 2018**). L'abondance de *S. parasanguinis* par voie orale est associée aux allergies infantiles (**Dzidic et al., 2018**) et aux caries (**Becker et al., 2002**). *S.parasanguinis* peut passer dans la circulation sanguine et entraîner une endocardite infectieuse (**Chen et al., 2020**).

III. Détection de la capacité de la formation de biofilm

La surface d'adhésion des organismes sessiles peut être abiotique (les matériaux inertes) ou biotique (les tissus ou les cellules vivantes) (**Dunne, 2002**). Toute surface, naturelle ou artificielle, peut être le siège d'une colonisation bactérienne avec formation d'un biofilm. Suite à tous ces colonisations et aux conditions non conformes sur l'hygiène des prothèses, il est fort possible que toutes ces bactéries ont des capacités à former des biofilms. De plus de nos prélèvements réalisés par grattage, des méthodes classiques de la détection de la production de biofilm *in vitro* ont été établies, telles que la méthode de rouge Congo et la méthode de la microplaque 96puits (Tissu Culture Plate TCP) [(**Freeman et al., 1989**) ;

(Mathur et al., 2006)]. La méthode du Rouge Congo Agar (RCA) considérée comme qualitative, révèle que 15/27 isolats sont producteurs d'un slime en formant des colonies noires (**Figure 24**) (**Tableau 9**).

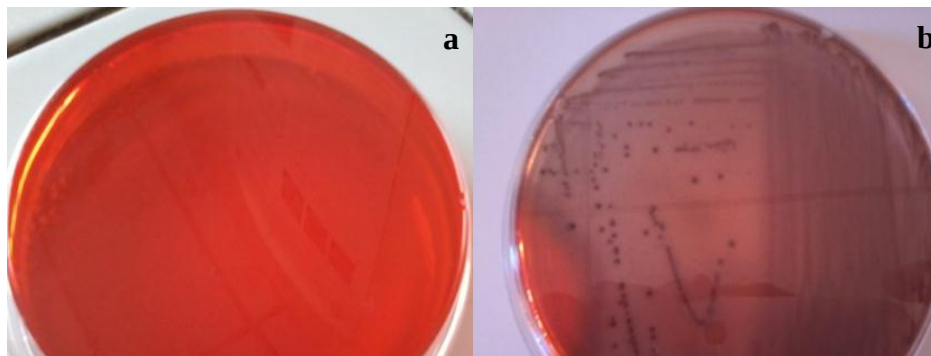


Figure 24. La production du slime chez les souches isolées des prothèses dentaires
a. Non formatrice de slime **b.** Formatrice de slime (**Photos personnelles**)

Le slime est définie comme une substance polymérique extracellulaire produite par les bactéries, également connu sous le nom d'exo-polysaccharides (EPS). Le colorant rouge Congo interagit avec ces EPS et forment des complexes donnant des colonies de couleur foncée ce qui indique la formation de biofilm (**Jain et Agarwal, 2009**). Cette technique peut être utilisée comme alternative de dépistage initial mais ne peut pas être utilisée comme examen microbiologique standardisé en tant que déterminant de la formation de biofilm (**Normanita et al., 2020**).

La technique TCP reste très largement utilisée et considérée comme un test standard pour la détection de la formation de biofilm. Cette technique pourra faire une distinction précise entre les fortes productrices, moyennement et les faible productrices, avec une capacité d'examiner un grand nombre d'isolats simultanément (**Mathur et al., 2006**).

La technique de microplaque 96 puits a révélé que sur les 27 souches isolées des prothèses dentaires 6/27 étaient de bonnes formatrices de biofilm, 7/27 étaient modérées, 14/27 souches étaient de faibles formatrices (**Tableau 9**) (**Figure 25**).

Tableau 9. Tableau récapitulatif des caractéristiques des souches bactériennes isolées et des prothèses dentaires étudiées

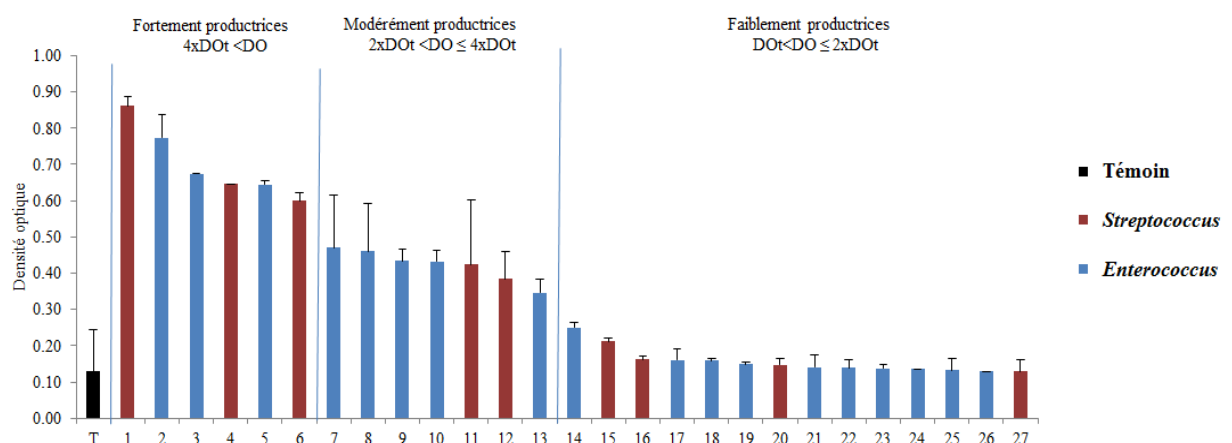
Souches identifiées	Slime	Biofilm	Prélèvement		
			Patient	Prothèse	Nettoyage
1. <i>S.gordonii</i>	Positif	Fort	Femme 45ans	Maxillaire 24 ans	Brossage avec eau seule 1 fois par jour
2. <i>E.durans</i>	Positif	Fort	Femme 64 ans	Maxillaire 20 ans	Brossage avec dentifrice 2 fois par jour Port nocturne
3. <i>E.durans</i>	Négatif	Fort	Femme 70 ans	Maxillaire 4 ans	Brossage avec dentifrice 1 fois par jour Port nocturne
4. <i>S.parasanguinis</i>	Négatif	Fort	Homme 61 ans	Maxillaire 10 ans	Rarement nettoyée avec de l'eau + eau de Javel Port nocturne
5. <i>E.durans</i>	Positif	Fort	Femme 48 ans	Maxillaire 2ans	Brossage avec dentifrice 2 fois par jour Port nocturne
6. <i>S.gordonii</i>	Positif	Fort	Homme 51 ans	Maxillaire 7ans	Brossage avec l'eau seule Une fois par semaine Port nocturne
7. <i>E.durans</i>	Négatif	Moyen	Homme 50 ans	Maxillaire 10 ans	Brossage avec eau seule ou avec eau de javel 1 fois par jour
8. <i>E.durans</i>	Négatif	Moyen	Femme 49 ans	Maxillaire 3 ans	Brossage avec dentifrice 1 fois par jour.
9. <i>E.durans</i>	Positif	Moyen	Femme 65 ans	Maxillaire 1an	Brossage avec dentifrice 2 fois par jour Port nocturne
10. <i>E.faecalis</i>	Négatif	Moyen	Femme 56 ans	Maxillaire 13 ans	Brossage à l'eau + eau de Javel/ une fois par jour Port nocturne
11. <i>S.gordonii</i>	Négatif	Moyen	Homme 64 ans	Maxillaire +20 ans	Brossage avec dentifrice 1 fois par jour

Tableau 9. Tableau récapitulatif des caractéristiques des souches bactériennes isolées et des prothèses dentaires étudiées (Suite)

Souches identifiées	Slime	Biofilm	Prélèvement		
			Patient	Prothèse	Nettoyage
12. <i>S.gordonii</i>	Négatif	Moyen	Homme 61 ans	Maxillaire 10ans	Rarement nettoyée Port nocturne
13. <i>E. faecalis</i>	Négatif	Moyen	Femme 65ans	Maxillaire 30 ans	Brossage avec dentifrice 3 fois par jour
14. <i>E.durans</i>	Positif	Faible	Homme 65 ans	Maxillaire 20ans	Jamais Port nocturne
15. <i>S.parasanguinis</i>	Négatif	Faible	Homme 61 ans	Maxillaire 10ans	Jamais
16. <i>S.parasanguinis</i>	Négatif	Faible	Femme 48 ans	Mandibule 2 ans	Brossage à l'eau Une fois par jour Port nocturne
17. <i>E.durans</i>	Positif	Faible	Femme 64ans	Maxillaire 1an	Brossage à l'eau avec sel Une fois par jour Port nocturne
18. <i>E.durans</i>	Négatif	Faible	Femme 48ans	Maxillaire 2 ans	Brossage à l'eau Une fois par jour Port nocturne
19. <i>E.durans</i>	Positif	Faible	Femme 61ans	Maxillaire 10ans	Brossage à l'eau Une fois par jour Port nocturne
20. <i>S.gordonii</i>	Négatif	Faible	Femme 45 ans	Maxillaire 24ans	Rarement nettoyée avec de l'eau seule Rinçage au thym Port nocturne
21. <i>E.durans</i>	Positif	Faible	Femme 54 ans	Maxillaire + 3ans	Brossage avec dentifrice 3 fois par jour Port nocturne

Tableau 9. Tableau récapitulatif des caractéristiques des souches bactériennes isolées et des prothèses dentaires étudiées (Suite)

Souches identifiées	Slime	Biofilm	Prélèvement		
			Patient	Prothèse	Nettoyage
22. <i>E.durans</i>	Positif	Faible	Homme 66ans	Maxillaire 28ans	Brossage à l'eau Une fois par jour
23. <i>E.durans</i>	Positif	Faible	Femme 64 ans	Mandibule +20ans	Brossage avec dentifrice 3fois par jour Port nocturne
24. <i>E.durans</i>	Positif	Faible	Femme 40 ans	Mandibule 6mois	Brossage avec dentifrice 3fois par jour
25. <i>E. durans</i>	Positif	Faible	Homme 54 ans	Maxillaire 10 ans	Brossage à l'eau Une fois par jour
26. <i>E.durans</i>	Positif	Faible	Femme 52 ans	Maxillaire 2 ans	Brossage à l'eau Une fois par jour
27. <i>S.parasanguinis</i>	Positif	Faible	Homme 66 ans	Maxillaire 28 ans	Brossage à l'eau Une fois par jour

**Figure 25.** Quantification de la formation de biofilm par la technique TCP chez les souches isolées des prothèses dentaires

Selon la **figure 25**, nous constatons que les espèces *Enterococcus* dont *E.durans* sont plus formatrices de biofilm que les streptocoques, elles semblent adhérer plus aux prothèses en résine. Parmi les souches fortement formatrices, *S.gordonii*, *S.parasanguinis* et *E.durans* se distinguent avec des DO 6 à 9 fois supérieures à la DO témoin.

Selon le **tableau 9** les souches bonnes formatrices proviennent de prothèses de patients âgés entre 45 et 70 ans qui ne les nettoyaient pas après chaque repas et/ou la méthode de nettoyage différait entre un brossage avec dentifrice, avec de l'eau seule ou additionnée d'eau de Javel. Cette bonne capacité d'adhésion est due probablement à l'âge de la prothèse, qui a dans la majorité des cas dépassé les 10 ans, où la surface prothétique devient assez rugueuse avec des irrégularités favorisant la formation de biofilm. Le port nocturne de celles-ci par les patients, le mauvais nettoyage et le manque de brossage ne peut qu'accélérer l'adhésion bactérienne.

Selon la **figure 25** et **tableau 9** les souches modérément formatrices étaient également des streptocoques avec des DO largement élevées par rapport à la DO témoin. Cela est dû probablement à la durée du port des prothèses, des nettoyages très limités et un port nocturne. La majorité des souches faiblement formatrices de biofilm était également isolées de prothèses très souvent non retirées la nuit.

Pour la suite de l'étude seules les souches *S.parasanguinis*, *S.gordonii*, *E.faecalis* et *E.durans* citées dans le **tableau 10** ont été sélectionnées pour leur grande capacité à former un biofilm.

Tableau 10. Caractéristiques des souches bactériennes sélectionnées pour l'étude

Souches identifiées	Slime	Biofilm	Prélèvement		
			Patient	Prothèse	Nettoyage
<i>S.parasanguinis</i>	Négatif	Forte	Homme 61 ans	10 ans	Rarement nettoyée avec de l'eau + eau de Javel Port nocturne
<i>S.gordonii</i>	Positif	Forte	Femme 45ans	24 ans	Brossage avec l'eau de robinet Une seule fois par semaine Port nocturne
<i>E. faecalis</i>	Négatif	Modérée	Femme 56ans	13 ans	Brossage à l'eau + eau de Javel/une fois par jour Port nocturne
<i>E.durans</i>	Positif	Forte	Femme 64 ans	20 ans	Brossage avec dentifrice deux fois par jour Port nocturne

IV. Caractérisations physicochimiques des surfaces

L'adhésion de micro-organismes aux surfaces buccales dures, comme la surface de la dent, les matériaux de restauration, les matériaux prothétiques et les composants de l'implant, est une condition préalable à la formation de la plaque dentaire qui peut entraîner le développement de caries dentaires, de maladies parodontales et de péri-implantites (**Van Loosdrecht et al., 1990**). L'adhérence des micro-organismes à une surface peut être décrite comme des interactions non spécifiques initiales (interactions électrostatiques, forces de van der Waals et interactions acide-base) et des interactions spécifiques (liaison récepteur-ligand). Les propriétés physicochimiques des substrats, ainsi que les caractéristiques de surface des bactéries adhérentes, peuvent contribuer au taux de colonisation microbienne et de maturation de la plaque (**Quirynen et Bollen, 1995**).

Dans le but d'évaluer l'adhésion bactérienne, première étape de la formation du biofilm prothétique, et comme les propriétés physicochimiques des surfaces sont connues pour être un facteur décisif dans l'adhérence, l'étape clé du phénomène d'adhésion, il nous a paru intéressant d'étudier l'influence du support prothétique et ses contributions polaires et non polaires, ainsi que les caractéristiques de surface bactérienne, sur l'adhérence. L'hydrophobicité des surfaces bactériennes a été étudiée par la méthode MATS en utilisant l'hexadécane comme solvant. Des mesures d'angle de contact avec différents liquides ont été effectuées pour déterminer le l'énergie libre de la surface bactérienne et de la résine acrylique.

IV.1. Détermination de l'hydrophobicité des surfaces bactériennes

Microbial Adhesion To Solvant (MATS), technique décrite par **Bellon-Fontaine et al., (1996)**, permet la détermination des propriétés de surface des cellules bactériennes, vu que l'hydrophobicité de celle-ci est connue pour être associée à la pathogénicité, à l'adhésion et à la capacité à former le biofilm chez les bactéries (**Zheng et al., 2021**).

Le pourcentage d'adhésion d'*E. faecalis* et *E. durans* à l'hexadécane estimé par la méthode MATS est de 63% et 90% respectivement, donc jugées hydrophobes. De même pour les deux espèces de *S. parasanguinis*, *S. gordonii* estimées comme moyennement hydrophobes avec un taux d'adhésion de 55% (**Tableau 11**).

L'hydrophobicité d'une surface est importante dans l'adhésion des micro-organismes à cette dernière. Moins les matériaux sont polarisés, plus les liaisons hydrophobes deviennent importantes. La majorité des bactéries sont chargées négativement et présentent à leur surface des zones hydrophobes (**Donlan et Costerton, 2002**).

Tableau 11. Pourcentage d'affinité des souches à l'héxadécane

Espèces	DO initiale	DO finale	%	Hydrophobicité
<i>S.parasanguinis</i>	0.09	0.04	55	Hydrophobe
<i>S.gordonii</i>	0.09	0.04	55	Hydrophobe
<i>E.faecalis</i>	0.11	0.04	63	Hydrophobe
<i>E.durans</i>	0.1	0.01	90	Hydrophobe

Le faible caractère hydrophile des bactéries à Gram positif pourrait être relié aux acides lipotechoïques, macromolécules hydrophobes ancrées dans leur paroi (**Handley, 1991**).

Vacheethasane et al., (1998) montrèrent que l'adhésion de souches à Gram + de *Staphylococcus epidermidis* à du polyéthylène était plus importante quand les souches étaient hydrophobes. **Gaouar (2022)** a également remarqué que toutes les souches à Gram + isolées de dispositifs médicaux étaient hydrophobes.

Plusieurs travaux antérieurs ont montré que l'adhésion des bactéries hydrophobes est généralement supérieure à celle des bactéries hydrophiles, car une bactérie hydrophobe aura plus de facilité pour enlever le film d'eau la séparant de la surface à coloniser et qu'elle est plus facilement en contact avec cette surface, qu'une bactérie hydrophile [(**Gallardo-Moreno et al., 2002**) ; (**Bayoudh et al., 2006**)]. Ce qui expliquerait sûrement nos résultats antérieurs et la grande persistance et adhésion bactérienne sur les prothèses dentaires. **Frank (2001)** explique que la plupart des bactéries à Gram négatif ont de longues chaînes de polysaccharides dans leur lipopolysaccharides exposé, ayant pour résultat une surface hydrophile tandis que les bactéries à Gram positif ont la partie de lipide d'acide lipotéichoïques se prolonger à l'extérieur de la cellule, ayant pour résultat une surface hydrophobe. L'hydrophobicité de la surface cellulaire est importante dans l'adhésion, car les interactions hydrophobes ont tendance à s'amplifier avec l'augmentation de la nature non polaire de l'un ou des deux surfaces impliquées (**Donlan, 2002**).

IV.2. Caractérisation des propriétés physicochimiques des surfaces

Dans le but de confirmer l'hydrophobicité des surfaces bactériennes et de la résine qui est le produit de base d'une prothèse dentaire, la mesure de l'angle de contact est donc nécessaire pour mieux comprendre l'adhésion bactérie/support.

L'angle de contact vis-à-vis de l'eau (θ_w) peut être utilisé comme une méthode qualitative pour estimer l'hydrophobicité de la surface (**Oliveira et al., 2001**). D'après **Vogler (1988)** la surface est considérée hydrophobe si $\theta_w > 65^\circ$ et hydrophile si $\theta_w < 65^\circ$. Il est possible aussi

de déterminer quantitativement le degré d'hydrophobicité selon l'approche de Van Oss en se basant sur l'énergie libre de surface Δ_{Giwi} .

L'angle de contact de l'eau avec la surface de la résine est supérieur à 65° ($\theta_w=99.8^\circ$), indiquant une hydrophobicité très élevée et montre un caractère donneur/accepteur d'électrons très faible (valeur faible de γ^+ et de γ^-) (**Tableau 12**). Ce grand angle de contact s'explique par de fortes forces de répulsion entre le matériau et les molécules d'eau. L'énergie libre de surface négative ($\Delta_{Giwi} = -78.06 \text{ mJ.m}^{-2}$) confirme l'hydrophobicité accrue de la résine acrylique. Les travaux antérieurs de **Latrache et al., (2002)** et **Hamadi et al., (2008)**, réalisés sur la relation entre les propriétés physico-chimiques et la composition chimique, rapportent que chaque propriété est engendrée par des éléments chimiques particuliers. La topographie (rugosité) des surfaces peut aussi influencer considérablement ces propriétés physicochimiques (**Bengoram et al., 2008**).

Tableau 12. Détermination de l'angle de contact par rapport à l'eau (θ_w), au formamide (θ_F) et au diiodométhane (θ_D) pour les souches bactériennes étudiées et la résine acrylique

Echantillon	Angles de contact ($^\circ$)			Composante d'énergie de surface (mJ/m^2)				
	θ_D	θ_F	θ_w	γ^{LW}	γ^+	γ^-	γ^{AB}	Δ_{Giwi}
<i>S.parasanguinis</i>	73.2	0	3.3	21.05	8.69	52.66	42.80	18.53
<i>S.gordonii</i>	78.7	22	13.5	18.12	8.42	55.08	43.07	20.04
<i>E.faecalis</i>	67.9	45.8	5.9	24.00	0.65	82.49	14.74	68.26
<i>E.durans</i>	53.7	13.6	64.2	32.12	8.77	4.77	12.95	-25.90
Résine	63.7	77.4	99.8	26.39	0.09	0.91	0.58	-78.06

Selon les résultats du **tableau 12**, les surfaces de *E.faecalis*, *S.parasanguinis* et de *S.gordonii* sont relativement hydrophiles et fortement donneur d'électrons (valeur élevée de γ^-). L'approche quantitative confirme ce résultat, constatant que l'énergie libre des surfaces des trois autres souches est positive ($\Delta_{Giwi} > 0$). Ce résultat est en contradiction avec les résultats trouvés par la technique MATS. Pour cette dernière méthode, ces souches sont relativement hydrophobes. La différence entre le caractère déterminé par l'angle de contact d'une part et par MATS d'autre part est liée à la différence des éléments qui interviennent dans chaque méthode. La méthode de l'angle de contact représente l'énergie extérieure pure (l'hydrophobicité) alors que MATS ne mesure pas uniquement le caractère hydrophobe de la

surface cellulaire sachant que l'adhésion à l'hexadécane est traduite par l'intervention des interactions électrostatiques et les interactions de Van der Waals (**Hamadi et al., 2009**).

La souche *E.durans* présente un caractère qualitativement hydrophile et quantitativement hydrophobe ($\Delta_{Giwi} = -25.90 \text{ mJ.m}^{-2}$) avec un caractère donneur/accepteur d'électrons très faible (valeur faible de γ^+ et de γ^-) (**Tableau 13**). **Van Oss (1995)** a rapporté qu'une surface hydrophobe a un caractère donneur d'électrons (γ^-) et accepteur d'électrons faibles (γ^+) et qu'une surface hydrophile a un caractère donneur d'électrons important. Nos résultats vérifient cette hypothèse. Des études ont montré que les propriétés de surface des cellules microbiennes varient en fonction des conditions environnementales dans lesquelles elles se trouvent [(**VanOss et al., 1986**) ; (**Hamadi et al., 2005**) ; (**Bayoudh et al., 2006**)]. Selon ces auteurs, plus l'hydrophobicité des cellules bactériennes augmentent, plus l'adhésion sera importante. Quant aux interactions électrostatiques, les charges négatives (généralement mieux exprimées à basse force ionique) provoquent une diminution de l'adhésion (**Jana et al., 2000**). Rappelons qu'il est chimiquement accepté que les cellules hydrophobes ont tendance à adhérer sur un substrat hydrophobe et les cellules hydrophiles ont tendance à adhérer sur un substrat hydrophile [(**Costa et al., 2006**) ; (**Hamadi et al., 2009**)]. Cette approche peut expliquer la capacité d'*E.durans* à adhérer sur la résine acrylique hydrophobe. Cependant, les résultats concernant l'adhésion des trois autres souches ne reflète pas cette hypothèse puisque nous avons montré que les souches hydrophiles possèdent un pouvoir d'adhésion sur les surfaces hydrophobes.

Des travaux précédents ont rapporté que l'hydrophobicité ne peut pas expliquer systématiquement les résultats de l'adhésion microbienne sur un support et que les interactions acides-bases jouent un rôle très important dans le phénomène d'adhésion [(**Henriques et al., 2004**) ; (**Hamadi et al., 2008**)]. En se basant sur l'approche de **Van Oss (1993)**, nous pouvons déduire que l'adhésion à la résine peut être due, au moins en partie, aux interactions acide-bases entre la surface bactérienne qui possède un caractère donneur d'électrons bien exprimé et le support résine qui est faiblement accepteur d'électrons. En considérant que les interactions électrostatiques sont négligeables, l'adhésion de *E.faecalis*, *S.parasanguinis* et *S.gordonii* semble être gouvernée uniquement par les interactions acido-basiques. Pour *E.durans*, c'est la combinaison des interactions acido-basiques et des interactions hydrophobe-hydrophobe qui serait à l'origine de l'adhésion.

IV.3. Approche thermodynamique de l'adhésion

L'adhésion microbienne aux supports peut être prévue théoriquement par l'approche thermodynamique. La prévision de cette adhésion permet de nous informer sur le potentiel de contamination sur une surface inerte. Certains travaux sont basés sur la prévision théorique pour proposer des solutions aux problèmes de biocontamination (**Teixeira et al., 2005**). Dans cette partie nous avons essayé d'appliquer cette approche pour comparer l'adhésion expérimentale et l'adhésion théorique. Le calcul de l'énergie libre d'adhésion d'une bactérie sur un support permet de nous informer sur la prévision théorique. Les résultats du calcul de cette énergie sont présentés dans le **tableau 13**.

Dans notre étude, l'énergie libre d'interaction apolaire (ΔG^{LW}) de *E. faecalis* et *E. durans* était négative (**Tableau 13**), ce qui indique que la force de Lifshitz van der Waals était principalement attractive. En revanche, l'énergie polaire libre d'interaction ΔG^{AB} semble être positive ($\Delta G^{AB} = 3.59 \text{ mJ/m}^2$), indiquant une force répulsive pour *E. faecalis* mais négative ($\Delta G^{AB} = -44.25 \text{ mJ/m}^2$), donc attractive pour *E. durans*. Pour les deux espèces de *Streptococcus* les énergies libres polaires et apolaires étaient positives présentent des forces répulsives.

Tableau 13. Les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion de souches bactériennes sur résine acrylique

Espèce	$\Delta G^{LW} \text{ (mJ/m}^2\text{)}$	$\Delta G^{AB} \text{ (mJ/m}^2\text{)}$	$\Delta G^{Total} \text{ (mJ/m}^2\text{)}$
<i>S. parasanguinis</i>	0.075	3.75	3.83
<i>S. gordonii</i>	0.38	4.93	5.32
<i>E. faecalis</i>	-0.21	3.59	3.38
<i>E. durans</i>	-0.93	-44.25	-45.19

Bernardes et al., (2010) ont montré que seules les surfaces considérées comme hydrophiles avaient des valeurs $\Delta G^{AB} > 0$, démontrant que l'hydrophobicité est principalement déterminée par les forces polaires d'attraction. La composante ΔG^{AB} représente l'hydratation de surfaces, ce qui signifie que des valeurs élevées de ΔG^{AB} sont corrélée à une faible hydrophobicité de surface. Selon la théorie thermodynamique de l'adhésion, si les forces attractives sont plus fortes que les forces répulsives, les interactions à courte portée jouent un rôle important dans l'adhésion bactérienne aux surfaces. L'adhésion bactérienne est favorable si les interactions conduisent à une diminution de l'énergie libre d'adhésion ($\Delta G^{Total} < 0$) (**Chen et al., 2011**).

Selon le **tableau 13**, l'énergie libre ΔG^{Total} était positive pour les souches *E.faecalis*, *S.gordonii* et *S.parasanguinis*, indiquant une adhésion thermodynamiquement défavorable, contrairement aux résultats obtenus expérimentalement (Test de formation de biofilm TCP). Ce résultat était similaire à ceux de **Teixeira et al., (2005)** et de **Bernardes et al., (2010)** qui ont observé que l'énergie libre d'adhésion des souches formatrices des biofilms était positive, ce qui montre que l'approche théorique n'a pas pu totalement expliquer le phénomène d'adhésion car il semblerait qu'il y a d'autres interactions qui ne sont pas prises en compte dans l'approche théorique et qui pourraient intervenir dans ce processus. Par contre l'énergie libre d'adhésion entre la surface de résine acrylique et la souche *E.durans* (ΔG^{Total}) est négative donc l'adhésion serait théoriquement possible, ce qui a été prouvé expérimentalement comme étant une souche extrêmement hydrophobe et fortement formatrice de biofilm et de slime. La valeur négative élevée de ΔG^{AB} par rapport à ΔG^{LW} , signifierait que d'un point de vue théorique, l'adhérence de *E.durans* devrait être régie essentiellement par des interactions de force à courte portée (acide- base). Dans leur étude *in vivo* sur l'adhérence bactérienne à quatre matériaux de restauration dentaire avec différentes énergies libres, **Quirynen et al., (1989)** ont constaté que sur les surfaces à faible énergie libre, une accumulation de plaque significativement moindre était observée. La formation de biofilm était alors plus prononcée sur les matériaux aux énergies libres élevées, même en présence de salive. Il a également été constaté qu'une ΔG^{AB} élevée crée une forte adhérence bactérienne [(**Knorr et al., 2005**) ; (**Lee et al., 2009**)]. En outre, le succès des colonisateurs bactériens associés aux maladies dentaires devrait être exploré d'avantage en ce qui concerne leur relation avec divers matériaux de restauration.

Par ailleurs, l'influence du pH du milieu sur l'hydrophobicité de la résine et sur l'énergie de l'adhésion a été examinée. Les résultats de l'énergie libre d'interaction calculée sous différents pH sont présentés dans le **tableau 14**.

Tableau 14. Variation de l'hydrophobicité de la résine ΔG_{Giwi} et l'énergie libre d'adhésion ΔG^{Total} en fonction du pH

Energie libre (mJ/m ²)	Ph4	Ph5	Ph6	Ph7	Ph9
Résine ΔG_{Giwi}	-56.49	-83.60	-41.06	-8.86	-44.55
<i>S.parasanguinis</i> ΔG^{Total}	3.70	-0.11	3.68	11.97	12.19
<i>S.gordonii</i> ΔG^{Total}	2.62	-0.99	2.20	11.25	10.42
<i>E. faecalis</i> ΔG^{Total}	1.81	-5.55	0.89	20.32	16.60
<i>E.durans</i> ΔG^{Total}	-37.92	-44.67	-33.24	-20.29	-37.63

L'hydrophobicité de la résine montre le même profil quel que soit le pH du milieu, avec une énergie libre négative ($\Delta G_{\text{Gwi}} < 0$) indiquant l'hydrophobicité accrue de la résine acrylique. Des résines composites hautement hydrophobes pourraient être plus résistantes à l'eau et aux espèces hydrophiles [(Weinmann et al., 2005) ; (Eick et al., 2007) ; (Buergers et al., 2009)]. Des forces d'adhérence peuvent survenir pour des surfaces plus hydrophobes, car l'eau est plus facilement éliminée de la zone entre la surface cellulaire et un matériau hydrophobe que de la zone entre la surface cellulaire et un matériau hydrophile, permettant des forces d'adhésion plus fortes (Mei et al., 2009). Ainsi, la présence de la plaque bactérienne sur des matériaux dentaires, produit des métabolites, dont des acides organiques et inorganiques, qui affectent le pH de surface, modifient la composition du milieu à proximité et créent un milieu chimiquement favorable à une corrosion des matériaux dentaires (Li et Liu, 2004).

Il est bien connu que lorsqu'une énergie libre d'interaction plus faible est obtenue, une adhérence plus élevée est attendue. De manière plus précise, seules des valeurs négatives de ΔG^{Total} prédisent une adhésion favorable. A partir du **tableau 14**, nous observons qu'à pH 4, 6, 7 et 9, à l'exception de la souche *E.durans* qui s'avère avoir la possibilité de s'adhérer quel que soit le pH du milieu avec une énergie de surface négative, l'énergie ΔG^{Total} est positive pour les souches *E.faecalis*, *S.gordonii* et *S.parasanguinis*, ce qui signifie qu'elles ne pouvaient pas ou faiblement adhérer à la résine acrylique à ces niveaux.

Pour un pH 5, l'énergie libre des surfaces de toutes les souches ΔG^{Total} est négative indiquant une adhérence favorable d'un point de vue thermodynamique. Cela peut être attribué à une réduction de la répulsion entre les cellules bactérienne puisque la charge négative de la surface cellulaire est faible à des pH acides. Ce résultat indique qu'à la baisse du pH l'adhésion et la formation de biofilm sont favorisées, d'où l'intérêt de stabiliser le pH buccal pour préserver l'équilibre de l'écosystème buccal. Le pH buccal normal varie selon le flux salivaire de 5.2 (faible flux) à 7.8 (pic de flux). Plus le flux de sécrétion salivaire stimulée est élevé, plus le pH s'élève et plus le pouvoir tampon de la salive s'amplifie (Szustakiewicz et al., 2009). Le port de prothèses amovibles et la diminution du flux salivaire, s'accompagnent d'une diminution du pH buccal, d'une acidification de la bouche, ce qui déséquilibre la flore commensale et favorise la multiplication des bactéries et des levures, mais aussi l'aggravation des maladies parodontales, l'apparition de caries et de lésions muqueuses (Lacoste-Ferré et al., 2013).

La formation de biofilm prothétique est très complexe et comprend non seulement les bactéries et les caractéristiques du matériau, mais également la salive et ses composants protéiques (Rüttermann et al., 2014). Par conséquent, les futures études *in vitro* ou *in vivo*

sur l'adhérence bactérienne aux matériaux dentaires devraient évaluer la composition d'une pellicule salivaire absorbée et son énergie libre d'interaction. Les forces présentes dans l'adhésion bactérienne pionnière à la pellicule acquise salivaire sont des liaisons hydrogène, des interactions hydrophobes, des ponts calciques, Van der Waals, les interactions acide-base et les interactions électrostatiques, mais plus tard, les forces chimiques deviennent prédominantes (**Hannig et Hannig, 2009**). Dès que les bactéries pionnières se fixent à la pellicule, elles commencent à excréter de l'EPS, ce qui aide les bactéries à se fixer et se lier. Ces premières espèces occupent de l'espace et tirent avantage de la compétition ultérieure avec d'autres espèces (**Kreth et al., 2005**).

Il est important de noter que les structures cellulaires, telles que les flagelles, les fimbriae et les pili, jouent un rôle important dans le processus d'adhésion, tout comme les EPS. De plus, les conditions environnementales, telles que les forces ioniques, la température, la durée d'exposition et la densité des micro-organismes affectent fortement le processus d'adhésion (**Van oss et al., 1995**). **Quirynen et Bollen (1995)** indiquent que dans l'environnement buccal, la rugosité de surface semble être un facteur déterminant sur l'influence de l'énergie libre de surface déterminant la quantité d'accumulation de plaque sur les matériaux dentaires. De même, l'adhésion est également médiée par le type du matériau dentaire, l'influence des sécrétions des glandes salivaires, la compétition entre différentes espèces microbiennes (**Tanner et al., 2005**).

D'autre part, l'expression de ces interactions physico-chimiques *in vitro* dépend des propriétés de surface des cellules bactériennes, qui dépendent de leur culture et des conditions expérimentales mais aussi des méthodes utilisées pour les déterminer (**Gallardo-Moreno et al., 2002**). Les caractéristiques physico-chimiques de surface des cellules planctoniques sont indépendantes de la source d'échantillonnage, tout en étant différentes des propriétés attribuées aux cellules organisées en biofilm. En effet, les micro-organismes peuvent basculer entre les phénotypes hydrophobes et hydrophiles en réponse à leur mode de développement en biofilm (**Tremblay et al., 2014**).

V. Activité antibactérienne des extraits de *Salvadora persica* et *Juglans regia* sur les espèces buccales de *Enterococcus* et *Streptococcus*

Compte tenu du processus de formation du biofilm, toute substance agissant sur la prévention de l'adhésion initiale ou toute autre étape de développement, serait utile pour contrôler la croissance du biofilm à la surface de la prothèse, essentiellement chez des personnes âgées. Diverses méthodes domestiques sont disponibles pour le nettoyage, telles que les solutions de

chlorure de sodium, les comprimés effervescents, les solutions de bains de bouche (**Mylonas et al., 2022**), ainsi que la désinfection avec des plantes médicinales tel le thé vert (**Antunes et al., 2015**). C'est dans cet objectif que deux espèces végétales de la médecine traditionnelle algérienne ont été sélectionnées sur la base de leur utilisation populaire à savoir le SWEK *Juglans regia* et ARAK *Salvadora persica*.

V.1. Le rendement en extrait

Les composés biologiquement actifs sont généralement présents à faibles concentrations dans les plantes. La technique d'extraction a pour but de capter les produits élaborés par le végétal tout en veillant à éviter d'en altérer la qualité (**Quispe Candori et al., 2008**). Les extraits bruts hydro-méthanoliques des deux parties végétales étudiées sont obtenus par macération et ont présentés des rendements différents, celui de *Juglans regia* étant plus important que *Salvadora persica* (**Tableau 15**).

Toutefois, il est difficile de comparer strictement nos résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de plusieurs facteurs tels que l'origine géographique, les conditions climatique, la saison de récolte, la nature chimique du matériel végétal, la partie utilisée, le solvant et la technique d'extraction (**Su et al., 2006**).

Tableau 15. Caractéristiques et rendement des extraits des plantes étudiées

Espèce	Partie végétale	Aspect	Couleur	Rendement (%)
<i>Juglans regia</i>	Racines	sec	Marron foncé	55.73%
<i>Salvadora persica</i>	Branches	sec	Jaune foncé	18.42%

En médecine traditionnelle l'extraction est principalement réalisée avec de l'eau, mais l'utilisation des solvants organiques donne une activité plus significative (**Das et al., 2010**). La méthode d'extraction adoptée dans ce travail est utilisées dans un large éventail de recherches car, en raison de sa polarité élevé, le méthanol aqueux permet d'extraire efficacement les composants actifs et donne des activités plus forte que celle obtenue par d'autres systèmes de solvants (**Al Fatimi et al., 2010**). Ce comportement peut-être expliqué par le fait que la présence de l'eau déstabilise les parois cellulaires et, par conséquence, en pénétrant plus profondément dans la matrice végétale, le solvant peut entrer en contact avec une quantité plus grande de solutés, favorisant ainsi l'extraction (**Penchev et al., 2010**).

V.2. Résultat de l'activité antibactérienne sur milieu solide

Les tests antibactériens des extraits des plantes étudiées ont été réalisés par la technique de diffusion en milieu gélosé, qui est une technique qualitative basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition qui apparaissent autour des disques contenant les extraits à tester. Les diamètres des zones d'inhibition des bactéries buccales testées en présence des extraits sont consignés dans le **tableau 16**. Il ressort des résultats obtenus que les deux extraits aient un effet inhibiteur sur les souches bactériennes testées. L'extrait de *J.regia* présente une bonne activité inhibitrice par rapport à l'extrait de *S.persica*, les espèces d'*Enterococcus* étaient moins sensibles aux deux extraits.

Tableau 16. Moyenne des zones d'inhibition des extraits de *S.persica* et *J.regia* vis-à-vis des souches de *Streptococcus* et *Enterococcus* testées

Souches	Zones d'inhibition (mm)	
	<i>Salvadora persica</i>	<i>Juglans regia</i>
<i>S. parasanguinis</i>	11± 1	14 ± 2
<i>S. gordonii</i>	13 ± 1	15.3 ± 1.5
<i>E. faecalis</i>	10± 0.5	14± 1
<i>E.durans</i>	11.6 ± 1.5	12 ± 1

Selon **Moori Bakhtiari et Khalafi (2015)**, l'activité antibactérienne de l'extrait hydro-alcoolique de *J.regia* est relativement plus élevée chez les bactéries à Gram positif que chez les bactéries à Gram négatif et la concentration de 1000 mgmL⁻¹ s'est avérée efficace pour l'inhibition de la croissance d'une souche de *Streptococcus spp* avec une zone d'inhibition de 12mm. **Zakavi et al., (2013)** ont indiqué que l'extrait éthanolique présente des zones d'inhibition de 11mm contre *Streptococcus sanguis* et de 6.5mm pour *Streptococcus salivarius* pour une concentration de 250 mgmL⁻¹ tandis que l'extrait aqueux est actif avec des zones d'inhibition plus petites. L'activité antimicrobienne observée au cours de la présente étude est en accord avec les résultats d'enquêtes antérieures où *Salvadora persica* présentait une activité antimicrobienne significative contre les streptocoques. **Chelli-Chentouf et al., (2012)** affirment que le miswak du Hoggar Algérien a eu un effet inhibiteur sur la croissance de *S.mutans* avec un diamètre d'inhibition de 7.5mm pour une concentration de 400mgmL⁻¹ en extrait méthanolique. Les travaux de **Balto et al., (2017)** ont constaté que l'extrait éthanolique présentait un effet inhibiteur accru contre les espèces de *Streptococcus* où l'extrait à 100mgmL⁻¹ était associé à une large zone d'inhibition de 20 mm contre *S. sanguis* et ainsi comparable au chlorexidine 0.2 %. Pour son effet sur *E. faecalis*, une étude menée par **Gupta et al., (2020)** a montré qu'un extrait de *S. persica* à 12.5% avait un effet antibactérien

acceptable lorsqu'il était testé par des méthodes de diffusion en puits (entre 10 et 14mm). Plus récemment, les résultats des expériences *in vivo* et *ex vivo* de **Abdeltawab et al., (2022)** ont indiqué que la concentration d'extrait méthanolique de *S. persica* a une activité antimicrobienne efficace et la plus grande zone d'inhibition a été observée après 3 jours (15 mm de diamètre) pour les deux espèces de *E.faecalis* et *S.mutans*.

Dans l'ensemble, les données de cette expérience ont clairement indiqué que les extraits de *Juglans regia* et de *Salvadora persica* inhibent la croissance des bactéries testées. Toutefois, la différence d'activité entre les extraits des plantes étudiées est probablement tributaire à la nature des molécules contenues dans chacune d'elles ou à la capacité de ces molécules de diffuser uniformément dans l'agar. En effet, l'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie) de différents composés (**Gertsch, 2011**).

V.3. Effet sur la croissance planctonique : Détermination des CMI

Le potentiel antimicrobien *in vitro* des deux extraits de bâtons à mâcher testés contre les bactéries buccales est illustré sur les **figures 26** et **27**.

Selon **Fankam et al., (2011)** les extraits ayant des valeurs de CMI inférieures à 8000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ pourraient être considérés avoir une activité antimicrobienne. Sous ces critères l'activité enregistrée avec nos extraits pourrait être considérée comme très bonne activité antimicrobienne. Les extraits ont démontré une activité inhibitrice avec une CMI comprise entre 0.8 et 6.4 mg mL^{-1} . La sensibilité des souches de *Streptococcus* et *Enterococcus* aux extraits était différente. *Enterococcus faecalis* et *E.durans* ont montré une plus grande sensibilité à l'extrait de *S.persica* que les souches de *Streptococcus*, avec une CMI ≥ 6.4 mg mL^{-1} (**Figure 26**). L'activité de l'extrait de *J.regia* était plus affirmée contre *S. gordonii* et *E. faecalis* avec une CMI ≥ 0.8 mg mL^{-1} (**Figure 27**).

Les données présentées dans les **figures 26** et **27** ont révélé une gamme fluctuante de valeurs de CMI variant selon l'espèce bactérienne, montrant que *E.durans* et *E.faecalis* étaient les souches les plus sensibles à *S. persica* avec une CMI de 6.4 mg mL^{-1} . Les valeurs des CMI de *S. persica* étaient inférieures à celles obtenues dans une étude récente réalisée par **Chelli Chentouf et al., (2012)**. Ils ont montré que les valeurs CMI de l'extrait méthanolique variaient selon la souche testée de 100 mg mL^{-1} pour *Escherichia coli* à 400 mg mL^{-1} pour *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus sp*, *Candida albicans*, et *Penicillium sp*.

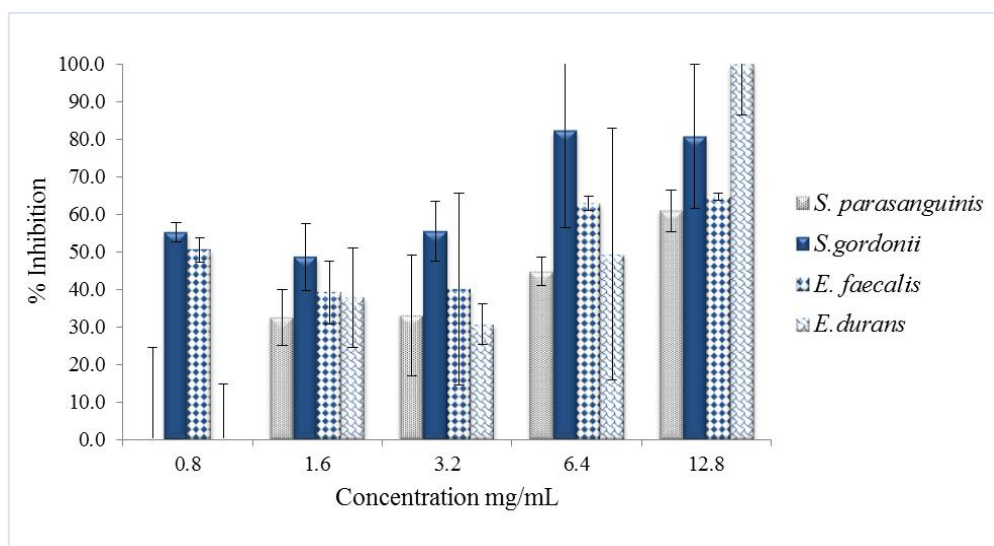


Figure 26. Pourcentage d'inhibition de la croissance planctonique des souches testées par l'extrait de *Salvadora persica*

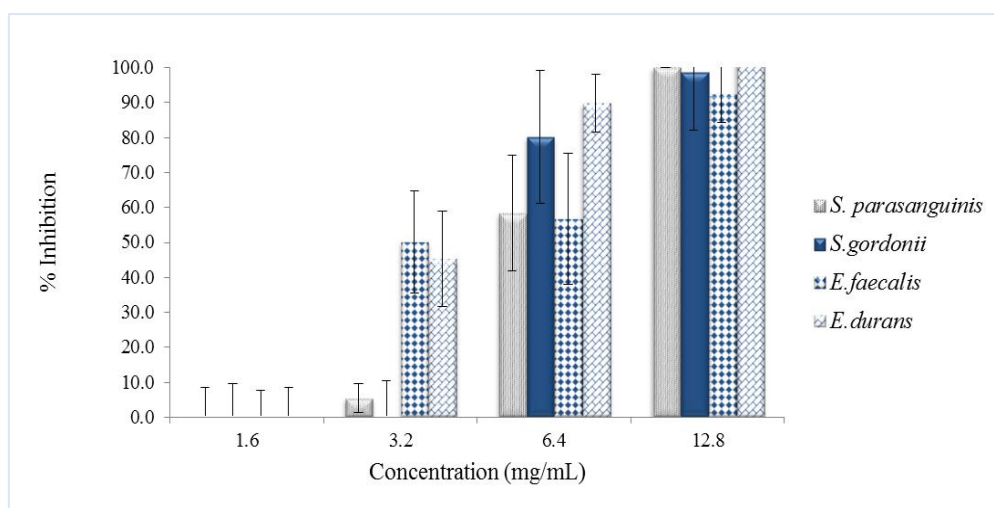


Figure 27. Pourcentage d'inhibition de la croissance planctonique des souches testées par l'extrait de *Juglans regia*

Toutefois l'étude d'**Al Sohaibani et Murugan (2012)** en Arabie Saoudite a montré qu'une CMI de 2.6 mgmL^{-1} de l'extrait méthanolique de *S.persica* inhibait *S.mutans*. Cette différence dans les activités antimicrobiennes peut être attribuée à des différences dans le temps et le lieu de la collecte des plantes, les méthodes d'extraction, la variabilité des espèces bactériennes testées et les techniques d'évaluation. De nombreux efforts ont été déployés pour confirmer l'activité antimicrobienne de *S.persica* par rapport à un large éventail de micro-organismes oraux et cariogènes [(Almas et al., 2005) ; (Darmani et al., 2006) ; (Al Bayati et Sulaiman, 2008) ; (Shingare et Chaugule, 2011) ; (Noumi et al., 2017)]. Récemment, l'extrait de son fruit a montré une activité antimicrobienne sélective pour les isolats de *S.mutans* avec des

valeurs de CMI de 3.12 mgmL^{-1} (Al Bratty et al., 2020). Plus récemment, dans une étude menée au Pakistan par Sarwar et al., (2023), l'activité antibactérienne maximale s'est produite avec l'extrait aqueux de *Salvadora persica*, par rapport aux autres bâtons à mâcher testés, avec une valeur de CMI de 8.33 mgmL^{-1} contre *Streptococcus mutans*. En outre, les huiles essentielles de racines séchées et fraîches de *S. persica* ont montré des valeurs IC_{50} comparables à celles du digluconate de chlorhexidine (Khan et al., 2020). De nombreux chercheurs indiquent la présence de plus de dix composés chimiques naturels différents et de minéraux, comme les fluorures, la silice, l'acide tannique, les résines, les alcaloïdes (salvadorine), les huiles volatiles (simgrins), le soufre, la vitamine C, le bicarbonate de sodium, les chlorures, calcium, benzyliothiocyanate, acides salicyliques, stérols, triméthylamine, saponines et flavonoïdes, ayant des activités antibactériennes et des propriétés anti-plaque considérés tous comme essentiels pour une bonne hygiène bucco-dentaire (Sağır et al., 2024).

En 2006, Darmani et al. ont révélé que les extraits aqueux de miswak et du Derum (différents types de bâtonnets à mâcher obtenus à partir de *Juglans regia*) étaient tous les deux capables d'inhiber de manière significative la croissance des bactéries cariogènes l'extrait de Derum montrant une activité supérieure au miswak. Ce résultat est comparable à celui de notre étude, où l'extrait de *Juglans regia* algérien présentait un potentiel significatif et une forte activité contre la croissance planctonique de souches buccales avec une CMI de 0.8 mgmL^{-1} , pour *S.gordonii* et *E.faecalis*. Pour l'étude de Zakavi et al., (2013) l'extrait aqueux de *J.regia* n'a eu aucun effet inhibiteur sur *S.mutans* en termes d'activité antimicrobienne, cependant, pour l'extrait à l'éthanol la CMI était de 5 mgmL^{-1} , une valeur de 1.25 mgmL^{-1} pour *S.sanguis* et de 2.5 mgmL^{-1} pour *S.salivarius*. Selon l'étude menée au Portugal par Vieira et al., (2019) la valeur de CMI la plus basse pour l'extrait hydroéthanolique de *J.regia* a été observée chez *E.faecalis* (2.5 mgmL^{-1}). De nombreuses études déjà menées sur différents extraits de feuilles, d'écorces, de fruits et même des fleurs de *J.regia* de différents pays, ont révélé une activité antibactérienne à large spectre contre les bactéries gram-positives et gram-négatives soutenant ainsi son application comme remède préventif contre diverses maladies microbiennes de la cavité buccale [(Deshpande et al., 2011) ; (Jabli et al., 2017); (Muzaffer et Paul, 2018) ; (Eswayah et al., 2019) ; (Bennacer et al., 2022)]. L'étude de Francis et al., (2024) estime que cette activité antimicrobienne est due principalement à la composition chimique, dont les principaux phytoconstituants sont l'iode, le phénol, le tanin, les flavonoïdes, la saponine, les glycosides, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les stéroïdes.

V.4. Effet antibiofilm des extraits de *S.persica* et *J.regia*

Vu que nos souches ont été isolées de prothèses dentaires, donc toutes bien adhérentes, nous avons jugé utile et important d'étudier la capacité antimicrobienne naturelle d'éliminer les bactéries adhérentes *in vitro*. Deux méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antibiofilm de *S. persica* et *J.regia* sur les bactéries orales bonnes formatrices de biofilm.

Le test d'adhésion sur microplaques 96 puits avec le cristal violet colorant toutes les cellules attachées et le test d'adhésion sur un support de résine acrylique (de même composition que la prothèse). Les deux méthodes ont montré une bonne activité antibiofilm présentée par les deux plantes. Ces observations sont spéculées par le fait que les extraits pénètrent efficacement dans la matrice des substances polymères extracellulaires (EPS) et tuent ou éliminent les cellules intégrées au biofilm (Roy et al., 2018).

V.4.1. Effet des extraits sur biofilms formés sur microplaques 96 puits

Les figures 28 et 29 démontrent l'effet inhibiteur des deux extraits sur la fixation et la formation de biofilm des souches buccales sur les microplaques. Les extraits de *J. regia* et *S.persica* présentaient une CMI biofilm $\geq 51.2 \text{ mgmL}^{-1}$ pour l'inhibition du biofilm. Dans les résultats obtenus, il y avait une variation considérable pour les isolats oraux cultivés en populations sessiles (Figures 26, 27) et planctoniques (Figures 28, 29). Les extraits ont été efficaces pour inhiber la croissance bactérienne planctonique à de faibles concentrations, mais les bactéries du biofilm sont apparues 8 à 60 fois plus résistantes aux extraits de *S. persica* et *J.regia* respectivement.

Les résultats de Dolatabadi et al., (2018) ont montré les effets inhibiteurs des extraits méthanoliques de feuilles de *J. regia* iranien sur la formation de biofilm par *P.aeruginosa* en réduisant la formation de biofilm de 60 % avec une moyenne de 16 mgmL^{-1} . En revanche, la valeur moyenne de CMI pour les cellules planctoniques était de 8 mgmL^{-1} . Nos résultats ont montré que les deux extraits présentent une activité antibiofilm contre les souches d'*Enterococcus* et *Streptococcus* avec plus de 50% d'inhibition, tandis que l'enquête antérieure de Al-Sohaibani et Murugan (2012) a révélé une inhibition significative des cellules sessiles et formation de biofilm de 87.92%, et que *S.persica* contient des agents antibiofilm bioactifs avec deux fonctionnalités d'inhibition de la croissance et l'interaction du régulateur de détection de quorum sensing.

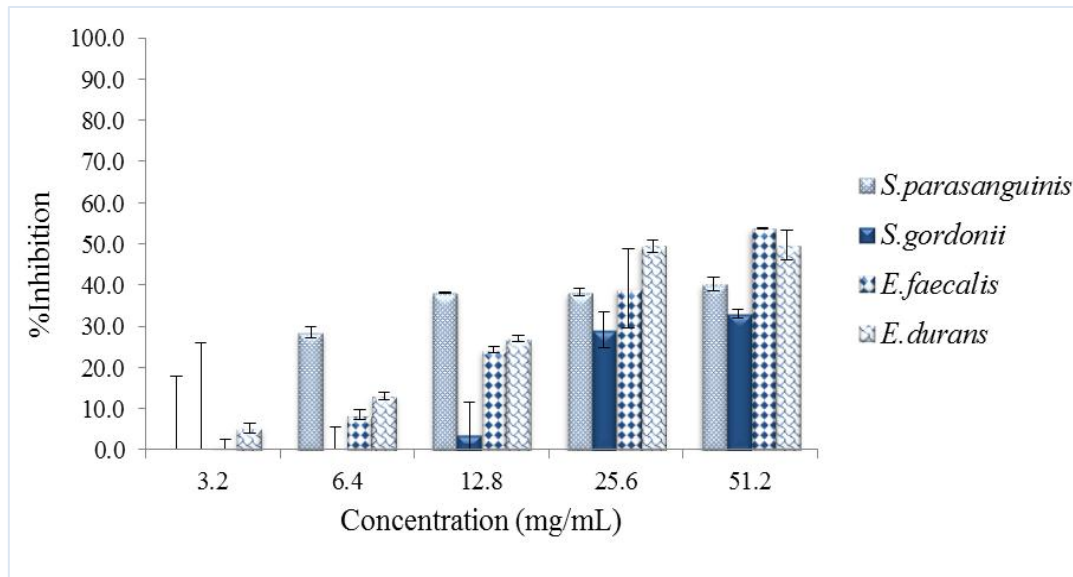


Figure 28. Pourcentage d'inhibition des biofilms formés sur microplaque 96 puits par l'extrait de *S.persica*

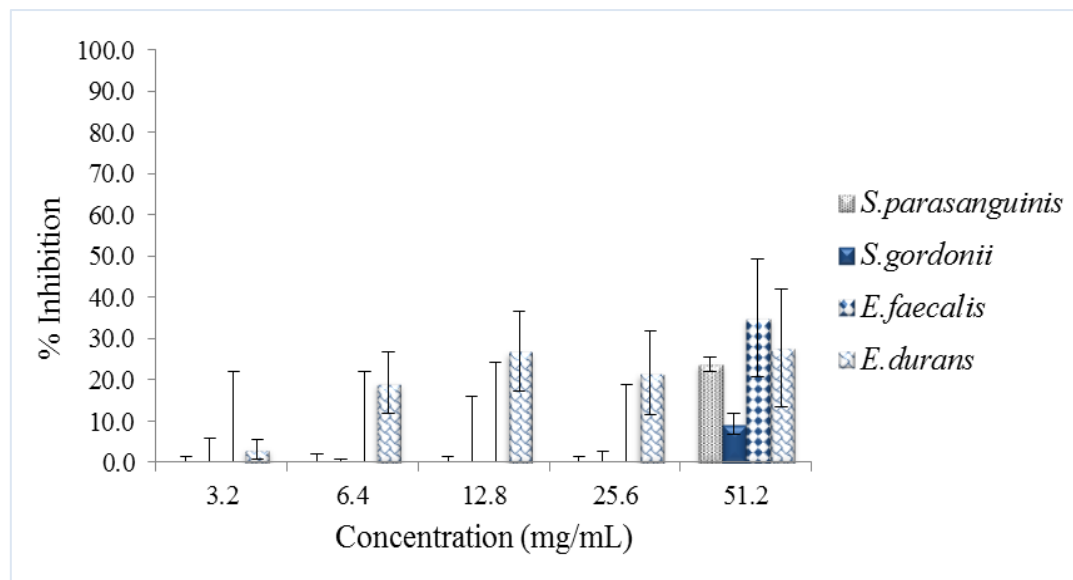


Figure 29. Pourcentage d'inhibition des biofilms formés sur microplaque 96 puits par l'extrait de *J.regia*

Selon **Balhaddad et al., (2021)** la concentration de 10 mgmL^{-1} de l'extrait méthanolique de *S.persica* a été déterminée comme concentration minimale inhibitrice du biofilm. L'étude d'**Abdulbaqi et al., (2016)** a démontré que le mélange de bâtonnet de racine de *S.persica* et de thé vert (Feuilles de *Camellia sinensis L.*) présentait des effets synergiques contre les colonisateurs primaires de la plaque dentaire et une activité antiplaque *in vitro*. Cela peut potentiellement produire de nouvelles formulations poly-herbales efficaces pour les soins bucco-dentaires.

La «bataille» contre les biofilms oraux est une tâche très difficile, principalement en raison de leur tendance à persister malgré le traitement. Cette tendance a été attribuée à de nombreuses voies de communication cellule-cellule telles que la détection du quorum sensing, le transfert horizontal de gènes et la transaction métabolique intrabiofilm (**Kolenbrander et al., 2010**). Par conséquent, les microorganismes du biofilm peuvent être jusqu'à 1000 fois plus résistants que les bactéries planctoniques aux thérapies antimicrobiennes conventionnelles avec des agents antibactériens tels que les antibiotiques ou la chlorhexidine [(**Costerton, 1999**) ; (**Karygianni et al., 2016**)].

V.4.2. Effet des extraits sur biofilms formés sur supports en résine acrylique

Des biofilms bactériens uni-espèces ont été reproduits *in vitro* sur des pastilles de résine (10×10×1) mm³ et les activités d'extraits de plantes ont été déterminées en utilisant la CMI obtenue pour l'inhibition des cellules sessiles. Après huit heures de contact avec les extraits (Durée minimale estimée pour le trempage nocturne des prothèses dentaire) une réduction de la charge bactérienne a été observée (**Figure 30**).

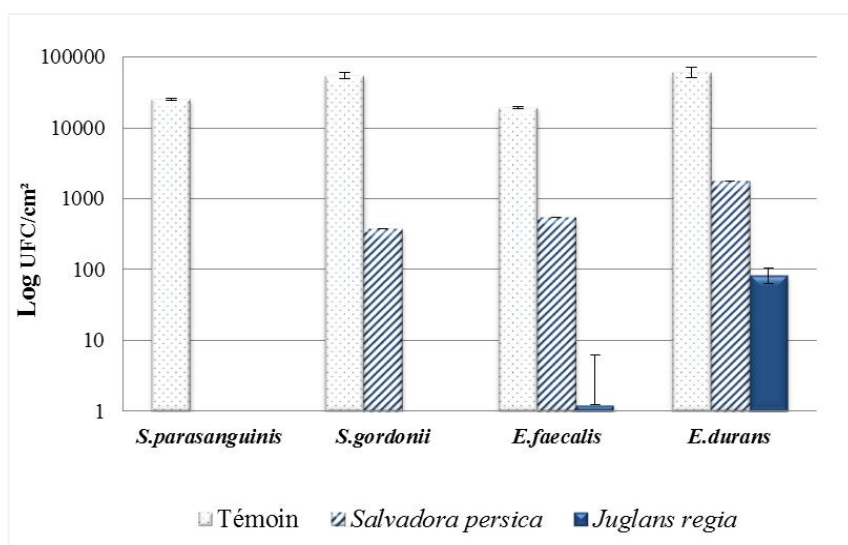


Figure 30. Activité antibiofilm des extraits de *Juglans regia* et *Salvia persica* sur les biofilms adhérents à la résine acrylique

L'activité des extraits de plantes sur le biofilm bactérien a été estimée en comparant la population bactérienne collectée à partir du biofilm placé dans une solution saline stérile et celles traitées par chaque extrait. Traités à l'extrait de *S. persica*, les espèces buccales de *Enterococcus* ont été sensibles avec une réduction de 97% suivies de *S. gordonii* (99%), plus *S. parasanguinis* qui a montré une sensibilité complète aux deux extraits. L'espèce *E. durans* reste tout de même plus persistante et résistante d'où on constate une inhibition et une

diminution de plus de 50%. Dans l'ensemble, l'extrait de *J.regia* s'est révélé être le plus efficace contre les biofilms, réduisant la charge microbienne d'environ 99%.

L'étude de **Jamal et Balaky (2023)** a révélé que l'extrait de *S. persica* pourrait diminuer la croissance de *S. mutans* et dégrader ses biofilms matures, avec une diminution significative de certains gènes de virulence. Récemment, plusieurs études ont été menées sur les nanoparticules d'argent, de Nickel, de chitosane et d'oxyde de zinc, synthétisées à partir de l'extrait de racine de *Salvadora persica*, incorporées dans une formulation de bain de bouche, pour leurs effets antimicrobiens contre les agents pathogènes buccaux [(**Arshad et al., 2021**) ; (**Balto et al., 2023**) ; (**Balto et al., 2024**) ; (**Bozer et al., 2024**)]. De même, des rapports antérieurs ont confirmé l'influence de *J. regia* ainsi que l'efficacité du synergisme de ses extraits avec les nanoparticules pour l'inhibition de la formation des biofilms microbiens [(**Thakur et al., 2017**) ; (**Movahhed et al., 2022**) ; (**Ghavabesh et al., 2023**)].

Les expériences réalisées ont porté essentiellement sur l'effet curatif, en ajoutant des extraits sur un biofilm déjà formé et ça a montré l'effet inhibiteur des deux extraits testés. Cependant leur utilisation se confronte à la complexité du milieu oral. Par ailleurs, ce travail n'envisage que quatre espèces du genre *Streptococcus* et *Enterococcus* sans tenir compte de la diversité de la microflore formant *in vivo* des biofilms buccaux et prothétiques.

VI. Analyses microscopiques des biofilms formés sur résine acrylique

Les images de la microscopie électronique à force atomique AFM ont permis d'acquérir des données topographiques des biofilms de *S.gordonii* sur résine (**Figure 31, 32**). Il faut noter que la taille et la forme des bactéries étudiées incluses dans un biofilm, peut être faussée par leurs surfaces souples qui peuvent se déformer, sous la pression imposée par la pointe, ou encore par la topographie environnante.

La **figure 33** montre des biofilms de *Streptococcus gordonii* formés sur de la résine avant et après le traitement antimicrobien visualisés par le microscope électronique à balayage MEBE. L'attachement bactérien et l'agrégation sur la résine avaient considérablement diminué après seulement 4 heures de traitement par les deux extraits.

L'examen microscopique a révélé la présence de cellules allongées avec des chaînes interrompues après un traitement par l'extrait de *S.persica* (**Figure 33b**). Les images des cellules de *S.gordonii* incubées avec l'extrait de *J.regia* ont révélé de nombreux changements structurels dans la morphologie des cellules. Celles-ci ont été endommagées et déchiquetées aux contours déformés ce qui a conduit à une fuite subséquente du contenu cellulaire (**Figure 33c**).

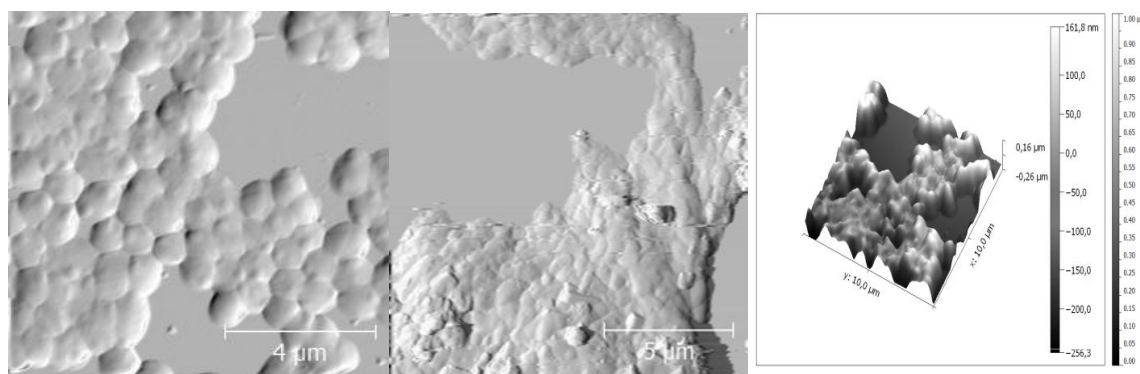


Figure 31. Biofilm de *Streptococcus gordonii* sur résine acrylique visualisé par AFM

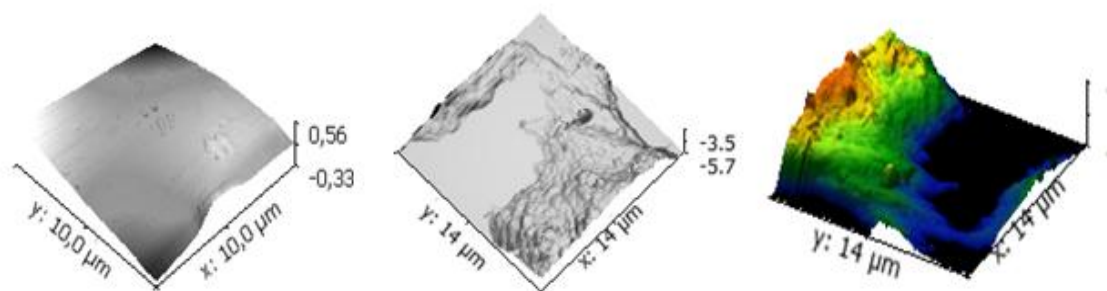


Figure 32. Topographie de résine acrylique avant et après formation du biofilm de *S.gordonii*

Au même moment, il convient de noter que les cellules témoins non traitées présentaient l'aspect streptococcique typique sous forme de cocci (**Figure 33a**), et le biofilm est apparu comme une structure compacte avec des bactéries proches les unes des autres, tandis que dans le biofilm traité, plusieurs lacunes ont été observées. L'imagerie électronique a montré des effets antibiofilm inhibiteurs et bactéricides clairs des deux extraits confirmant ainsi les résultats expérimentaux obtenus précédemment. L'apparence du biofilm suggère que l'extrait de *J.regia* agit plus efficacement en endommageant les membranes bactériennes, par conséquent les cellules rétrécissent et subissent une lyse. Tandis que l'extrait de *S.persica* peut agir sur la croissance de *S.gordonii* et conduire à inhiber la fixation et l'agrégation des cellules bactériennes. Des rapports antérieurs ont confirmé l'influence de *J. regia* sur l'inhibition de la formation de biofilm [(Bourais et al., 2023) ; (Wang et al., 2023)]. En fait, les extraits de *J. regia* inhibent l'adhésion bactérienne uniquement par inhibition de la synthèse du glucane (Chaieb et al., 2013). Outre les composés phénoliques, Meng et al., (2017) ont souligné que les polysaccharides pouvaient également présenter une activité antibactérienne en perturbant la perméabilité de la paroi cellulaire et de la membrane bactérienne, et en inhibant leur croissance.

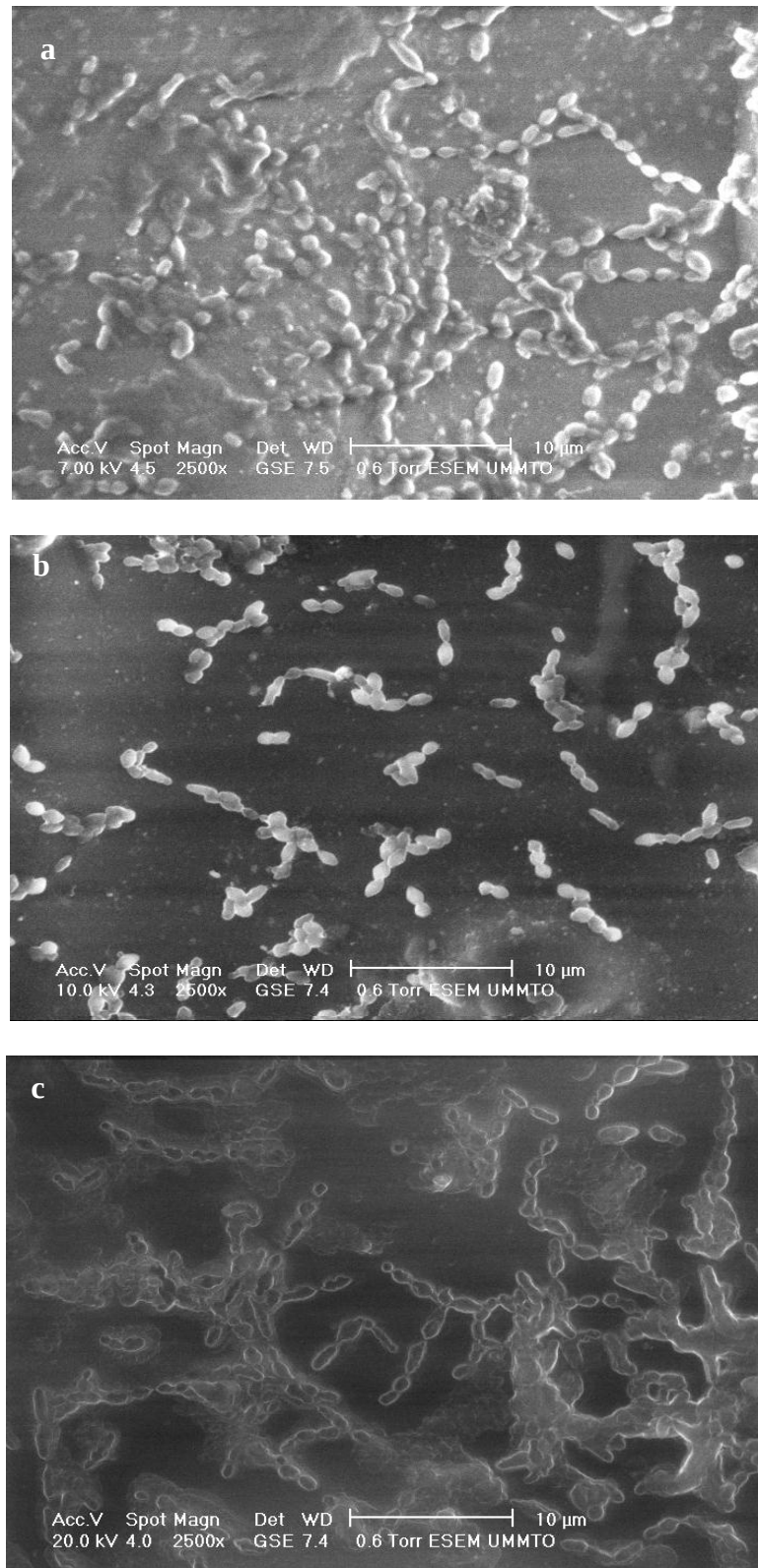


Figure 33. L'effet des extraits de *S.persica* et de *J.regia* sur le biofilm de *S.gordonii* formé sur la résine acrylique visualisé par MEBE.

(Barres d'échelle = 10 µm). **(a)** Biofilm de *S. gordonii* formé sur la résine avant traitement antimicrobien. **(b)** Effet d'extrait de *S.persica* **(c)** Effet d'extrait de *J.regia*

Il a également été suggéré que l'extrait de *S.persica* produit des composés phytochimiques tels que le β -sitostérol, qui peuvent aider à prévenir la formation de composés bactériens génotoxiques. De plus, les composés anioniques dissous peuvent endommager les parois cellulaires bactériennes, inhiber l'absorption d'oxygène et provoquer un stress oxydatif sévère, entraînant une toxicité. Il a également été démontré que les huiles essentielles et volatiles et les produits chimiques non polaires tamponnent le pH de la salive, diminuent l'activité bactérienne et décomposent la plaque dentaire [(Abhary et Al-Hazmi, 2016); (Mosaddad et al., 2023)].

La relation réciproque entre l'hôte et son microbiome prothétique est à la fois fragile et constamment dynamique. Plusieurs paramètres contribuant à cet équilibre peuvent être spécifiques à l'hôte (hérédité et pathologies générales) mais aussi dépendants de son niveau d'hygiène bucco-dentaire et de son hygiène de vie, ce qui rend difficile la prise en charge des infections microbiennes. Malgré les progrès récents, nous manquons encore d'une compréhension globale de nombreuses caractéristiques des biofilms prothétiques. Leur tolérance aux agents antimicrobiens existants, leur capacité à échapper aux composants du système immunitaire, leur résistance aux forces mécaniques et leur capacité à semer de nouvelles infections en font les cibles centrales d'un plan stratégique plus efficace dans la lutte contre les infections buccales persistantes (Le bars et al., 2022).

Conclusion

Les habitudes régulières d'hygiène buccale et prothétique jouent un rôle important dans le maintien de la santé bucco-dentaire et l'utilisation à long terme des prothèses amovibles. L'enseignement de l'hygiène dispensé auprès des patients édentés porteurs de prothèses amovibles dans cette étude est inexistant. Ce constat est confirmé par le manque d'entretien et de nettoyage des prothèses observé par la présente enquête et étude, situation qui incite à la réflexion vu que la majorité des patients n'était pas consciente du risque infectieux du port nocturne et de la pathologie provoquée par la pullulation microbienne à la surface d'une prothèse qui n'est pas ou mal nettoyée. La sensibilisation sur l'hygiène des prothèses dentaires doit être effectuée régulièrement pour aider les patients à maintenir une bonne santé bucco-dentaire.

D'autre part, notre étude prouve que la surface des matériaux qui composent ce type de prothèse constitue des niches pour les micro-organismes, en conséquence, peut conduire à la colonisation et à la formation de biofilms bactériens. Les espèces de *Streptococcus* et *Enterococcus* étant prépondérants dans la cavité buccale, sont connues comme agents pathogènes opportunistes formant des biofilms qui peuvent provoquer des maladies locales ou systémiques. Les différents tests d'évaluation de l'adhésion et la capacité de formation de biofilm des souches de *Streptococcus* et *Enterococcus*, isolées de prothèses amovibles complètes, confirment le potentiel fort des bactéries buccales à s'adhérer aux dispositifs dentaires. La surface bactérienne d'*E.durans* est jugée hydrophobe tandis que les surfaces de *E.faecalis*, *S.parasanguinis* et de *S.gordonii* sont relativement hydrophiles. La surface de la résine utilisée est également de nature hydrophobe, avec un caractère basique donneur d'électrons. Nos résultats confirment l'intérêt de la détermination des interactions physicochimiques dans la compréhension des phénomènes d'adhésion bactérienne sur les biomatériaux. Cette organisation bactérienne leur permet d'exprimer pleinement leur potentiel pathogène, mais aussi d'acquérir une résistance accrue vis-à-vis de l'hôte et des différents moyens chimiques que l'on pourrait employer dans nos thérapeutiques.

Un traitement aux extraits naturels de plantes avant et après la formation de biofilm sur prothèse dentaire à base de résine acrylique nous a permis de constater une variation considérable pour les isolats buccaux cultivés en populations sessiles et planctoniques. Les extraits hydro-méthanoliques de *Salvadora persica* et *Juglans regia* étaient efficaces pour inhiber la croissance bactérienne planctonique à de faibles concentrations, mais les bactéries du biofilm sont apparues 8 à 60 fois plus résistantes aux extraits *S.persica* et *J.regia* respectivement. Les expériences ont montré que les deux extraits présentent une bonne

activité antibiofilm avec 50% d'inhibition des bactéries buccales. L'analyse des images obtenues en microscopie électronique met en évidence l'effet inhibiteur et bactéricide qui était bien marqué à la surface du biofilm pour les deux extraits. Les expériences réalisées ont porté essentiellement sur l'effet curatif, en ajoutant des extraits sur un biofilm déjà formé. Dans l'ensemble, les propriétés antibiofilm des deux extraits semblent adaptées aux stratégies de nettoyage des prothèses dentaires.

Les composants naturels ont été incorporés dans les produits d'hygiène buccale sur la base de test *in vitro*. Or *in vivo* leurs effets antimicrobiens ne se confirment pas toujours, et cela mène à penser qu'il y a plusieurs paramètres qui peuvent interférer dans un milieu complexe qu'est la cavité buccale. Pour ces raisons, une étude clinique permettant de disposer d'une solution de décontamination *ex vivo* représente une première étape utile et prometteuse.

Enfin, les données de la littérature et les résultats de cette étude, focalisés sur ces deux espèces végétales, tendent à renforcer l'utilisation de ces extraits comme agent antimicrobien, et à promouvoir l'intérêt pour la recherche d'agents antiplaques naturels avec une efficacité sûre et une activité puissante pour réduire l'utilisation d'agents antimicrobiens synthétiques dans les produits de soins bucco-dentaires quotidiens.

Au-delà des résultats obtenues, ce travail fournit une base pour :

- Orienter la politique de prise en charge de la santé bucco-dentaire et de sa promotion auprès des citoyens.
- Impulser la réflexion sur la mise en œuvre et l'application généralisée des standards en matière d'hygiène buccale et surtout d'entretien prothétique.
- L'investigation d'avantage d'un large éventail de souches cliniques, bactériennes et fongiques, pour confirmer les données acquises.
- D'autres études sur le fractionnement des extraits, l'isolement et la détermination de la structure chimique des composés actifs, leur mode d'action, leur stabilité et leur efficacité sur des souches buccodentaires.
- La formulation d'une solution désinfectante aux concentrations adéquates des composés actifs, pour éliminer et même prévenir le biofilm sur prothèses amovibles en résine *ex-vivo*.
- De nouvelles études sur l'activité anti-biofilm des composants *in vivo*, des tests supplémentaires, y compris des modèles expérimentaux et l'applicabilité pharmacologique, sont nécessaires avant de considérer ces extraits de plantes comme de vrais composés alternatifs prometteurs.

Références bibliographiques

1. Abdeltawab SS, Abu Haimed TS, Bahammam HA, Arab WT, Abou Neel EA, Bahammam LA. Biocompatibility and antibacterial action of *Salvadora persica* extract as intracanal medication (*in vitro* and *ex vivo* experiment). *Materials*. 2022; 15(4): 1373.
2. Abdulbaqi HR, Himratul-Aznita WH, Baharuddin NA. Anti-plaque effect of a synergistic combination of green tea and *Salvadora persica* L. against primary colonizers of dental plaque. *Arch Oral Biol*. 2016; 70:117-124.
3. Abhary M et Al Hazmi A. Antibacterial activity of Miswak (*Salvadora persica* L.) extracts on oral hygiene. *J Taibah Univ Sci*. 2016; 10(4): 513-520.
4. Abranches J, Zeng L, Kajfasz JK, Palmer SR, Chakraborty B, Wen ZT, Richards VP Brady LJ, Lemos JA. Biology of oral *Streptococci*. *Microbiol Spectr*. 2018; 6(5):1-18.
5. Ahariz M, Loeb I, Courtois P. Candidoses orales et prothèses dentaires. *Rev Stomatol Chir Maxillofac*. 2010; 111(2):74-8.
6. Ahmad H et Rajagopal K. Biological activities of *Salvadora persica* L. (Meswak). *Med Aromat Plants*. 2013; 2:129.
7. Al Bayati FA et Sulaiman KD. *In vitro* antimicrobial activity of *Salvadora persica* L. extracts against some isolated oral pathogens in Iraq. *Turk J Biol*. 2008; 32(1): 57-62.
8. Al Bratty M, Makeen HA, Alhazmi HA, Syame SM, Abdalla AN, Homeida HE, Sultana S, Ahsan W, Khalid A. Phytochemical, cytotoxic, and antimicrobial evaluation of the fruits of miswak plant, *Salvadora persica* L. *J Chem*. 2020; 2020:1-11.
9. Al Fatimi M, Wurster M, Schröder G, Lindequist U. *In vitro* antimicrobial, cytotoxic and radical scavenging activities and chemical constituents of the endemic *Thymus laevigatus* (Vahl). *Rec Nat Prod*. 2010; 4(1): 49-63.
10. Aljubran H, Alshammary H, Alamoudi M, Alramadan H, Nazir M, Gad MM. Denture care and oral health-related quality of life among complete denture wearers in Eastern Province of Saudi Arabia. *Int J Dent Hyg*. 2024; 22(1): 194-200.
11. Al Sohaibani S et Murugan K. Antibiofilm activity of *Salvadora persica* on cariogenic isolates of *Streptococcus mutans*: *in vitro* and molecular docking studies. *Biofouling*. 2012; 28: 29-38.
12. Almas K. The antimicrobial effects of seven different types of Asian chewing sticks. *Odontostomatol Trop*. 2002; 24(96):17-20.
13. Almas K, Skaug N, Ahmad I. An *in vitro* antimicrobial comparison of miswak extract with commercially available non alcohol mouthrinses. *Int J Dent Hyg*. 2005; 3:18-24.

14. Almeida Júnior AA, Neves AC, Araújo CC, Ribeiro CF, Oliveira J, Rode SM. Avaliação de hábitos de higiene bucal em portadores de próteses removíveis da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe. *Comum Ciênc Saúde*. 2006; 17(4):283-9.
15. André P, Metzger C, Petey S, Muller D, Vidon D. Chemiluminescence of *Enterococci* isolates from freshwater. *FEMS Microbiol Lett*. 2005; 245:123-129.
16. Andrew PW et Mitchell TJ. The biology of *Streptococci* and *Enterococci*. Oxford (UK): Blackwell Science; 1997. 126P.
17. Antunes DP, Salvia AC, De Araujo RM, Nicolo RD, Koga Ito C, De Araujo MAM. Effect of green tea extract and mouthwash without alcohol on *Candida albicans* biofilm on acrylic resin. *Gerodontol*. 2015; 32: 291-5.
18. Aoun G et Gerges E. Assessment of hygiene habits in acrylic denture wearers: a Cross-sectional Study. *Mater Sociomed*. 2017; 29(3): 216-8.
19. Apratim A, Shah SS, Sinha M, Agrawal M, Chhaparia N, Abubakkar A. Denture hygiene habits among elderly patients wearing complete dentures. *J Contemp Dent Pract*. 2013; 14(6): 1161-4.
20. Araya M, Davidovich G, Chaves C, Arias ML. Identificación de *Enterococcus sp.* en muestras de leche cruda del Área Metropolitana de Costa Rica y evaluación del patrón de sensibilidad a antibióticos. *Arch Latinoam Nutr*. 2005; 2: 161-166.
21. Arshad H, Sami MA, Sadaf S, Hassan U. *Salvadora persica* mediated synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial efficacy. *Sci rep*. 2021; 11(1): 5996.
22. Asther M, Bellon-Fontaine MN, Capdevilla C, Corrieu G. A thermodynamic model to predict *Phanerochaete chrysosporium* INA-12 adhesion to various solid carriers in relation to lignin peroxidase production. *Biotechnol Bioeng*. 1990; 35: 477-490.
23. Attisso MA. As plantas medicinais voltam a florescer. *O correio da UNESCO*. 1979; 7: 6-8.
24. Aumeeruddy MZ, Zengin G, Mahomoodally MF. A review of the traditional and modern uses of *Salvadora persica* L. (Miswak): Toothbrush tree of Prophet Muhammad. *J Ethnopharmacol*. 2018; 213: 409-44.
25. Axe A, Burnett GR, Milleman KR, Patil A, Milleman JL. Randomized controlled clinical study to determine the oral and dermal tolerability of an experimental denture wipe. *J Prosthodont*. 2019; 28: 138-145.

26. Bacali C, Nastase V, Constantiniuc M, Lascu L, Badea ME. Oral hygiene habits of complete denture wearers in Central Transylvania, Romania. *Oral Health Prev Dent.* 2021; 19:107-113.
27. Balhaddad AA, Mokeem L, Melo MAS, Gregory RL. Antibacterial activities of methanol and aqueous extracts of *Salvadora persica* against *Streptococcus mutans* biofilms: an *in vitro* Study. *Dent J.* 2021; 9:143.
28. Balto H, Al-Sanie I, Al-Beshri S, Aldrees A. Effectiveness of *Salvadora persica* extracts against common oral pathogens. *Saudi Dent J.* 2017; 29(1):1-6.
29. Balto H, Amina M, Bhat RS, Al-Yousef HM, Auda SH, Elansary A. Green synthesis of nickel nanoparticles using *Salvadora persica* and their application in antimicrobial activity against oral microbes. *Microbiol Res.* 2023; 14(4): 1879-1893.
30. Balto H, Bekhit M, Auda S, Elansary A, Bhat R, Marraiki N, AlHadlaq S. Synergistic effect of *Salvadora persica* and chitosan nanoparticles against oropharyngeal microorganisms. *Sci Rep.* 2024; 14(1): 12997.
31. Baran I et Nalçaci R. Self-reported denture hygiene habits and oral tissue conditions of complete denture wearers. *Arch Gerontol Geriatr.* 2009; 49(2):237-41.
32. Bayoudh S, Othmane A, Bettaieb F, Bakhrouf A, Ben Ouada H, Ponsonnet L. Quantification of the adhesion free energy between bacteria and hydrophobic and hydrophilic substrata. *Mater Sci Eng.* 2006; 26: 300-305.
33. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, Griffen AL. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(3): 1001-9.
34. Belibasakis GN. Microbiological changes of the ageing oral cavity. *Arch Oral Biol.* 2018; 96:230-232.
35. Bellon-Fontaine M et Vernhet A. Adhésion de particules et de microorganismes aux surfaces solides. In: *Nettoyage, Désinfection et Hygiène dans les Bioindustries*, Leveau J. et Bouix M. Technique & Documentation. Paris (France): Lavoisier; 1999. 25-40p.
36. Bellon-Fontaine MN, Rault J, Van Oss CJ. Microbial adhesion to solvents: a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial cells. *Colloids Surf B.* 1996; 7:47-53.
37. Benagli C, Rossi V, Dolina M, Tonolla M, Petrini O. Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry for the identification of clinically relevant bacteria. *PLoS ONE.* 2011; 6(1): e16424.

38. Bengoram J, Hamadi F, Mabrouki M, Kouider, Zekraoui M, Ellouali M, Latrache H. Relationship between roughness and physicochemical properties of glass surface and theoretical adhesion of bacterial cells. *Phys Chem News*. 2008; 47:138-144.
39. Bennacer A, Sahir-Halouane F, Aitslimane-Aitkaki S, Oukali Z, Oliveira IV, Rahmouni N, Aissaoui M. Structural characterization of phytochemical content, antibacterial, and antifungal activities of *Juglans regia* L. leaves cultivated in Algeria. *Biocatal Agric Biotechnol*. 2022; 40: 102304.
40. Bergmaier D, Lacroix C, Macedo M, Champagne CP. New method for exo-polysaccharide determination in culture broth using stirred ultrafiltration cells. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2001; 57: 401-406.
41. Bernardes PC, Andrade NJD, Ferreira SO, Sá JPND, Araújo E, Delatorre D, Luiz LMP. Assessment of hydrophobicity and roughness of stainless steel adhered by an isolate of *Bacillus cereus* from a dairy plant. *Braz J Microbiol*. 2010; 41: 984-992.
42. Billroth T. Untersuchungen über die Vegetationsformen von *Coccobacteria Septica*. Berlin (Allemagne): G Reimer; 1874.
43. Bishop TT. Atomic force microscopy: more than surface imaging. Thesis for Master of Science. Colorado State University; 2020.1p.
44. Blagojevic V et Murphy VM. Microwave polymerization of denture base materials. A comparative study. *J Oral Rehabil*. 1999; 2: 804-8.
45. Bloch S, Hager-Mair FF, Andrukhov O, Schäffer C. Oral streptococci: modulators of health and disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2024; 14: 1357631.
46. Bonev I. Note technique sur le noyer, production des plantes greffées et création des noyeraies. Alger (Algérie): Bibliothèque forestière; 1973. 31p.
47. Bos R, van der Mei HC, Meinders JM, Busscher HJ. A quantitative method to study co-adhesion of microorganisms in a parallel plate flow chamber: basic principles of the analysis. *J Microbiol Methods*. 1994; 20: 289-305.
48. Bos R, van der Mei HC, Busscher HJ. Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions- its mechanisms and methods for study. *FEMS Microbiol Rev*. 1999; 23:179-230.
49. Bouchard P. Pathogénie des maladies parodontales in: *Parodontologie et dentisterie implantaire*. Paris (France): Lavoisier; 2015. 176p.

50. Boulangé-Petermann L, Baroux B, Bellon-Fontaine MN. The influence of metallic wettability on bacterial adhesion. *J Adhes Sci Technol*. 1993; 7: 221-230.
51. Boulangé-Petermann L, Rault J, Bellon-Fontaine M. Adhesion of *S.thermophilus* to stainless steel with different surface topography and roughness. *Biofouling*. 1997; 11: 201-16.
52. Bourais I, Elmarrkechy S, Taha D, Mourabit Y, Bouyahya A, El Yadini M, Iba N. A review on medicinal uses, nutritional value, and antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, antidiabetic, and anticancer potential related to bioactive compounds of *J.regia*. *Food Rev Int*. 2023; 39(9): 6199-6249.
53. Bozer BD, A Dede, K Güven. Green synthesized zinc oxide nanoparticles with *Salvadora persica* L. root extract and their antagonistic activity against oral and health threatening pathogens. *Indian J Microbiol*. 2024; 64: 1903-1911.
54. Braga AS, Abdelbary MMH, Kim RR, Melo F, Saldanha L, Dokkedal AL, Conrads G, Esteves-Oliveira M, Magalhães AC. The effect of toothpastes containing natural extracts on bacterial species of a microcosm biofilm and on enamel caries development. *Antibiotics*. 2022; 11: 1-14.
55. Braindet R, Meylheuc T, Maher C, Bellon Fontaine M. *Listeria monocytogenes* Scott A: Cell surface charge, hydrophobicity and electron donor and acceptor characteristics under different environmental growth conditions. *J Appl Environ Microbiol*. 1999; 65: 5328-5333.
56. Buergers R, Schneider-Brachert W, Hahnel S, Rosentritt M, Handel G. Streptococcal adhesion to novel low-shrink silorane-based restorative. *Dent Mater*. 2009; 25(2): 269-75.
57. Burgain J, Scher J, Francius G, Borges F, Corgneau M, Revol-Junelles AM, Cailliez-Grimal C, Gaiani C. Lactic acid bacteria in dairy food: surface characterization and interactions with food matrix components. *Adv Colloid Interface Sci*. 2014; 213:21-35.
58. Busscher HJ, Weerkamp AH, van der Mei HC, van Pelt AWJ, de Jong HP, Arends J. Measurement of the surface free energy of bacterial cell surfaces and it relevance for adhesion. *Appl Environ Microbiol*. 1984; 84:980-983.
59. Busscher HJ, Bellon-Fontaine MN, Mozes N, van der Mei HC, J Sjollema, Leonard AJ, Rouxhet PG, Cerf O. An interlaboratory comparison of physicochemical methods for studying the surface properties of microorganisms- application to *Streptococcus thermophilus* and *Leuconostoc mesenteroides*. *J Microbiol Methods*. 1990; 12: 101-115.
60. Cakan U, Yuzbasioglu E, Kurt H, Kara HB, Turunç R, Akbulut A et al. Assessment of hygiene habits and attitudes among removable partial denture wearers in a university hospital. *Niger J Clin Pract*. 2015; 18: 511-5.

61. Cankaya ZT, Yurdakos A, Kalabay PG. The association between denture care and oral hygiene habits, oral hygiene knowledge and periodontal status of geriatric patients wearing removable partial dentures. *Eur Oral Res.* 2020; 54: 9-15.
62. Casamajor P et Descroix V. La prescription ciblée en odontologie. France: Wolters Kluwer; 2009. 273p.
63. Cerning J. Polysaccharides exocellulaires produits par les bactéries lactiques. In: Roissart IH, Luquet FM. *Bactéries Lactiques*. Grenoble (France); 1994. 309-329p.
64. Chaieb K, Kouidhi B, Ben Slama R, Fdhila K, Zmantar T, Bakhrouf A. Cytotoxicity, antibacterial, antioxidant, and antibiofilm properties of Tunisian *Juglans regia* bark extract. *J Herbs Spices Med Plants.* 2013; 19 :168-179.
65. Chakraborty S, Mukherjee D, Baskey S. Morphological diversity and nomenclature of *Swertia Chirayita* (Gentianaceae)-Recovery of endangered medicinal plant population in North Eastern Himalaya. *Am J Plant Sci.* 2016; 7: 741.
66. Chan AKY, Tamrakar M, Leung KCM, Jiang CM, Lo EC, Chu CH. Oral health care of older adults in Hong Kong. *Geriatrics.* 2021; 6(4): 97.
67. Chardin H. Interactions flore-hôte. *Microbiologie en odonto-stomatologie*. Paris (France): Malloine; 2006. 165-191p.
68. Chelli Chentouf N, Tir Touil Meddah A, Mullie C, Aoues A, Meddah B. *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activity of Algerian Hoggar *Salvadora persica* L. extracts against microbial strains from children's oral cavity. *J Ethnopharmacol.* 2012; 144: 57-66.
69. Chen Y, Busscher HJ, van der Mei HC, Norde W. Statistical analysis of long- and short-range forces involved in bacterial adhesion to substratum surfaces as measured using atomic force microscopy. *Appl Environ Microbiol.* 2011; 77(15): 5065-70.
70. Chen YM, Tsai PH, Ye ZS, Huang YW, Shieh HR, Wu CH, Lin YJ, Miller JH, Abranches J, Chiu CH. Functional analysis of the collagen binding proteins of *Streptococcus parasanguinis* FW213. *mSphere.* 2020; 5(5):e00863-20.
71. Cinquanta L, Varoni EM, Barbieri C, Sardella A. Patient attitude and habits regarding removable denture home hygiene and correlation with prosthesis cleanliness: A cross-sectional study of elderly Italians. *J Prosth Dent.* 2021; 125(5): 772.e1-772.e7.
72. Clark AE, Kaleta EJ, Arora A, Wolk DM. Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 2013; 26(3): 547-603.

73. Clarke JK. On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. Br J Exp Pathol. 1924; 5: 141-147.
74. Coelho CM, Sousa YT, Daré AM. Denture-related oral mucosal lesions in a Brazilian school of dentistry. J Oral Rehabil. 2004; 31(2):135-9.
75. Costa GFM, Tognim MCB, Cardoso CL, Carrara-Marrone FE, Garcia Lourdes B. Preliminary evaluation of adherence on abiotic and cellular surfaces of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from catheter tips. Braz J Inf Dis. 2006; 10(5):346-35.
76. Costerton JW. Introduction to biofilm. Int J Antimicrob Agents. 1999; 11:217-21.
77. Coulthwaite L et Verran J. Potential pathogenic aspects of denture plaque. Br J Biomed Sci. 2007; 64: 180-189.
78. Coykendall AL. Classification and identification of the viridans *Streptococci*. Clin Microbiol Rev. 1989; 2(3): 315-328.
79. Croitoru A, Fikai D, Craciun L, Fikai A, Andronescu E. Evaluation and exploitation of bioactive compounds of walnut, *Juglans regia*. Curr Pharm Des. 2019; 25(2): 119-131.
80. Cruz PC, Andrade IM, Peracini A, Souza-Gugelmin MC, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Paranhos H. The effectiveness of chemical denture cleansers and ultrasonic device in biofilm removal from complete dentures. J Appl Oral Sci. 2011; 19(6): 668-73.
81. Cvitkovitch DG, Li YH, Ellen RP. Quorum sensing and biofilm formation in Streptococcal infections. J Clin Invest. 2003; 112(11): 1626-32.
82. Dar Odeh NS, Al Beyari M, Abu Hammad O. The role of antifungal drugs in the management of denture-associated stomatitis. Int Arab J Antimicrob Agents. 2012; 2(1):1-5.
83. Darmani H, Nusayr T, Al Hiyasat AS. Effects of extracts of miswak and derum on proliferation of Balb/C 3T3 fibroblasts and viability of cariogenic bacteria. Int J Dent Hyg. 2006; 4(2):62-66.
84. Das K, Tiwari RKS, Shrivastava DK. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. J Med Plants Res. 2010; 4(2): 104-111.
85. De Castellucci Barbosa L, Ferreira M, De Carvalho Calabrich C, Viana A, De Lemos M, Lauria R. Edentulous patients knowledge of dental hygiene and care of prostheses. Gerodontol. 2008; 25(2): 99-106.

86. De Sousa Porta SR, de Lucena-Ferreira SC, da Silva WJ, Del Bel Cury AA. Evaluation of sodium hypochlorite as a denture cleanser: a clinical study. *Gerodontology*. 2015; 32: 260-266.
87. Delacroix P. Résines acryliques et intrados prothétiques. *Prothèse Dent*. 1999; 14:154.
88. Derjaguin B et Landau LD. Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes. *Acta Physicochimica*. 1941; 14: 633-662.
89. Descy J, Meex C, Melin P, Hayette MP, Huynen P, De Mol P. Spectrométrie de masse MALDI-TOF en bactériologie clinique ou comment identifier une bactérie en une minute. *Rev Med Liège*. 2010; 65: 29-34.
90. Deshpande RR, Kale AA, Ruikar AD, Panvalkar PS, Kulkarni AA, Deshpande NR et al. Antimicrobial activity of different extracts of *Juglans regia L.* against oral microflora. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2011; 3: 200-201.
91. Dhahri S. Analyse topographique, mécanique et électrochimique à l'échelle sub-micrométrique de processus pilotés par les bactéries. Thèse de doctorat. Montpellier: Université Montpellier II; 2013. 23p.
92. Dikbas I, Koksall T, Calikkocaoglu S. Investigation of the cleanliness of dentures in a university hospital. *Int J Prosthodont*. 2006; 19(3): 294-8.
93. Dolatabadi S, Moghadam HN, Mahdavi-Ourtakand M. Evaluating the anti-biofilm and antibacterial effects of *Juglans regia L.* extracts against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Pathog*. 2018; 118: 285-289.
94. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis*. 2002; 8(9): 881-90.
95. Donlan RM et Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*. 2002; 15(2): 167-93.
96. Doshi M et Jones V. Denture hygiene: Safety issues with denture care. *Braz Dent J*. 2019; 226: 2.
97. Dunne WM. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin Microbiol Rev*. 2002; 15(2):155-66.
98. Dupré A. Théorie Mécanique de la chaleur. Paris (France): Gauthier-Villars; 1869. 367-370p.
99. Dupuis V. Diététique, édentation et prothèse amovible. Paris (France): CdP; 2005.134p.

100. Durkan R, Ayaz EA, Bagis B, Gurbuz A, Ozturk N, Korkmaz FM. Comparative effects of denture cleansers on physical properties of polyamide and polymethyl methacrylate base polymers. *Dent Mater J*. 2013; 32 (3): 367-75.
101. Dzidic M, Collado M, Abrahamsson T, Artacho A, Stensson M, Jenmalm M, Mira A. Oral microbiome development during childhood: an ecological succession influenced by postnatal factors and associated with tooth decay. *ISME J*. 2018; 12 (9): 2292-2306.
102. Eick JD, Kotha SP, Chappelow CC, Kilway KV, Giese GJ, Glaros AG, Pinzino CS. Properties of silorane-based dental resins and composites containing a stress-reducing monomer. *Dent Mater*. 2007; 23(8): 1011-7.
103. Elhagali AF, Sharaf MY, Abd El-Aziz ME-SA, Ali Bayiumy AS, Refaei MA, Al Agamy AH, Ali A, Elakel A, Altayyar R, Alzahrani R et al. The effects of different chemical disinfectants on the strength, surface, and color properties of conventional and 3D-printed fabricated denture base materials. *Prosthesis*. 2025; 7(2):24.
104. Esclassan R, Noirrit E, Champion J, Guyonnet JJ. Mise en place des prothèses partielles amovibles. Paris (France): Elsevier; 2000. 6p.
105. Eswayah A, Labyad N, Aleanizy F, Belaid A, Alqahtani F, Alfassam H. Antimicrobial and anti-inflammatory properties of *Juglans regia* leaves. *Orient J chem*. 2019; 35(6): 1756-9.
106. Expanded Human Oral Microbiome Database eHOMD. 2025. <http://www.homd.org>
107. Faden A. Evaluation of antibacterial activities of aqueous and methanolic extracts of *Juglans regia* bark (Derum) against some opportunistic oral bacteria. *Biosci Biotechnol Res Asia*. 2016; 9(2).
108. Fankam AG, Kuete V, Voukeng IK, Kuiate JR, Pages JM. Antibacterial activities of selected Cameroonian spices and their synergistic effects with antibiotics against multidrug-resistant phenotypes. *BMC Complement Altern Med*. 2011; 11:104.
109. Felipucci D, Davi L, Paranhos H, Bezzon O, Silva R, Pagnano V. Effect of different cleansers on the surface of removable partial denture. *Braz Dent J*. 2011; 22: 392-397.
110. Foulquie Moreno MR, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L. The role and application of *Enterococci* in food and health. *Int J Food Microbiol*. 2006; 106(1): 1-24.
111. Francis M, Padmaja S, Radhakrishnan A, Paulraj C S, Shankar S, Isaac JB, Kalaichelvan S, Selvaraj S. Evaluation of antioxidant, antibacterial and antidiabetic activity of *Juglans regia* root extract: *in vitro* and *in vivo* studies. *J Nat Remedies*. 2024; 24 (10) : 2263-2275.

112. Frank JF. Microbial attachment to food and food contact surfaces. *Adv Food Nutr Res.* 2001; 43: 319-70.
113. Franz CM, Huch M, Abriouel H, Holzapfel W, Gálvez A. *Enterococci* as probiotics and their implications in food safety. *Int J Food Microbiol.* 2011; 151(2): 125-40.
114. Freeman DJ, Falkner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase-negative *Staphylococci*. *J Clin Pathol.* 1989; 42: 872-874.
115. Fúcio SBP, Carvalhoa FG, Correr Sobrinhoa L, Sinhoretia MAC, Puppim Rontanib RM. The influence of 30 day old *Streptococcus mutans* biofilm on the surface of esthetic restorative materials: An *in vitro* study. *J Dent.* 2008; 36: 833-9.
116. Gallardo-Moreno M, Gonzalez-Martin ML, Pérez-Giraldo C, Garduno E, Bruque JM, Gomez-Garcia AAC. Serum as a Factor Influencing Adhesion of *Enterococcus faecalis* to Glass and Silicone. *Appl Env Microbiol.* 2002; 68: 5784-7.
117. Gallardo-Moreno M, Gonzalez-Martin ML, Pérez-Giraldo C, Garduno E, Bruque J, Gomez-Garcia A. The measurement temperature: an important factor relating physicochemical and adhesive properties of yeast cells to biomaterials J. *Colloid interface Sci.* 2004; 272: 351-358.
118. Gaouar S. Colonisation des canaux d'endoscopes: Suivi bactériologique, évaluation expérimentale de la formation de biofilm et mesures correctives. Thèse de doctorat. Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaid; 2022.
119. Garcia-Solache M et Rice LB. The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment. *Clin Microbiol Rev.* 2019; 32:e0 0058-18.
120. Garnett JA, Simpson PJ, Taylor J, Benjamin SV, Tagliaferri C, Cota E, Chen YY, Wu H, Matthews S. Structural insight into the role of *Streptococcus parasanguinis* Fap1 within oral biofilm formation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012; 6: 421-6.
121. Gendreau L et Loewy ZG. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont.* 2011; 20: 251-260.
122. Gertsch J. Botanical drugs, synergy and network pharmacology: forth and backto intelligent mixtures. *Planta Medica.* 2011; 77: 1086-98.
123. Ghavabesh B, Taheri M, Dalirfardouei R, Nouri F, Jalali A. Antibacterial activity and biofilm inhibition of gold nanoparticles synthesized with ethanolic extract of *Rosa damascena* and *Juglans regia*. *J Mazandaran Univ Med Sci.* 2023; 33 (219): 1-15.

124. Gibbons RJ et Etherden I. Comparative hydrophobicities of oral bacteria and their adherence to salivary pellicles. *Infect Immunol.* 1983; 41 (3): 1190-96.
125. Glazunova O, Raoult D, Roux V. Partial recN gene sequencing: a new tool for identification and phylogeny within the genus *Streptococcus*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2010; 60(9): 2140-2148.
126. Gordon JI et Klaenhammer TR. A rendez vous with our microbes. *Proc Natl Acad Sci.* 2011; 108 :4513-5.
127. Grant AA, Heath JR, McCord JF. Complete prosthodontics. Problems, diagnosis and management. London (UK): Mosby Yearbook Europe; 1994.193p.
128. Gueye M, Mbodj Eb, Dieng L, Toure A, Thioune N, Djeredou KB. Evaluation of hygiene practices among patients with removable prosthesis. *Rev Col Odonto-Stomatol Afr Chir Maxillo Fac.* 2015; 22(4): 23-27.
129. Guillemot G. Compréhension des mécanismes à l'origine de l'adhésion de *Saccharomyces cerevisiae* sur acier inoxydable- Implications pour l'hygiène des surfaces en industrie agroalimentaire. Thèse de doctorat.Toulouse: Université de Toulouse; 2006; 31p.
130. Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, Polissiou M, Adiguzel A, Ozkan H. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia L. ssp. Longifolia*. *Food Chem.* 2007; 103(4): 1449-56.
131. Gupta D, Kamat S, Hugar S, Nanjannawar G, Kulkarni R. A comparative evaluation of the antibacterial efficacy of *Thymus vulgaris*, *Salvadora persica*, *Acacia nilotica*, *Calendula arvensis*, and 5% sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis*: An *in-vitro* study. *J Conserv Dent.* 2020; 23(1): 97-101.
132. Habimana O, Semião AJC, Casey E. The role of cell-surface interactions in bacterial initial adhesion and consequent biofilm formation on nanofiltration/reverse osmosis membranes. *J Membr Sci.* 2014; 454:82-96.
133. Habouzit F, Gévaudan G, Hamelin J, Steyer JP, Bernet N. Influence of support material properties on the potential selection of Archaea during initial adhesion of a methanogenic consortium. *Bioresour Technol.* 2011; 102: 4054-60.
134. Hamadi F, Latrache H, Mabrouki M, Elghmari A, Outzourhit A, Ellouali M, Chtaini A. Effect of pH on distribution and adhesion of *Staphylococcus aureus* to glass. *J Adhesion Sci Technol.* 2005; 19: 73-85.

135. Hamadi F, Latrache H, Zahir H, Elghmari A, Timinouni M, Ellouali M. The relation between *Escherichia coli* surface functional groups composition and their physico-chemical properties. Braz J Microbiol. 2008; 39:10-15.
136. Hamadi F, Latrache H, Mliji E, Mallouki B, Mabrouki M, Ellouali M. Adhésion de *Staphylococcus aureus* au verre et au téflon. Rev Microbiol Ind San Environn. 2009; 3(1): 1-16.
137. Handley P, Coykendall A, Beighton D, Hardie JM, Whiley RA. *Streptococcus crista* sp. nov., a viridans *Streptococcus* with tufted fibrils, isolated from the human oral cavity and throat. Int J Syst Bacteriol. 1991; 41(4):543-7.
138. Hannig C et Hannig M. The oral cavity: a key system to understand substratum-dependent bioadhesion on solid surfaces in man. Clin Oral Investig. 2009; 13(2):123-39.
139. Haque M et Alsareii Saeed A. A review of the therapeutic effects of using miswak on oral health. Saudi Med J. 2015; 36 (5): 530-543.
140. Henriques M, Azeredo J, Oliveira R. Adhesion of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to acrylic and hydroxyapatite. Colloids surf B. 2004; 33: 235-241.
141. Herrero ER, Slomka V, Bernaerts K, Boon N, Hernandez-Sanabria E, Passoni BB, Quirynen M, Teughels W. Antimicrobial effects of commensal oral species are regulated by environmental factors. J Dent. 2016; 47:23-33.
142. Hiemenz P et Rajagopalan R. Principles of colloid and surface chemistry. New York (USA): Marcel Dekker; 1997.
143. Hong Y et Brown DG. Electrostatic behavior of the charge-regulated bacterial cell surface. Langmuir .2008; 24: 5003-9.
144. Hue O et Berteretche MV. Prothèse amovible complète. Paris: Quintessence Internationale; 2004.
145. Ibrahim N, Bhardwaj N, Puri A, Wadhwan V, Nangia R, Jahan I. Antimicrobial effect of *Juglans regia* bark with commonly used antibiotics against initial colonizers of plaque and caries: A comparative study. J Oral Maxillofac Pathol. 2023; 27: 443-54.
146. Iinuma T, Arai Y, Abe Y, Takayama M, Fukumoto M, Fukui Y, Iwase T, Takebayashi T, Hirose N, Gionhaku N, Komiyama K. Denture wearing during sleep doubles the risk of pneumonia in the very elderly. J Dent Res. 2015; 94: 28S-36S.

147. Jabli M, Sebeia N, Boulares M, Faïdi K. Chemical analysis of the characteristics of Tunisian *Juglans regia* L. fractions: Antibacterial potential, gas chromatography-mass spectroscopy and a full investigation of their dyeing properties. *Ind Crops Prod.* 2017; 108(1): 690-699.
148. Jahanban-Esfahlan A, Ostadrahimi A, Tabibiazar M, Amarowicz R. A Comparative review on the extraction, antioxidant content and antioxidant potential of different parts of walnut (*Juglans regia* L.) fruit and tree. *Molecules.* 2019; 24(11): 2133.
149. Jain A et Agarwal A. Biofilm production, a marker of pathogenic potential of colonizing and commensal *Staphylococci*. *J Microbiol Methods.* 2009; 76: 88-92.
150. Jamal AI et Balaky ST. The effect of Sub-MIC of *Salvadora persica* on growth and virulence gene expressions in *Streptococcus mutans*. *Cell Mol Biol.* 2023; 69(6): 88-94.
151. James AM. Structural and physic chemical Methods. In microbial cell surface analyses. Mozes N, Handley PS, Busscher HJ et Rouxhet PG. New York (USA): VCH Publishers; 1991. 223p.
152. Jana TK, Srivastava AK, Csery K, Arora DK. Influence of growth and environmental conditions on cell surface hydrophobicity of *Pseudomonas fluorescens* in non-specific adhesion. *Can J Microbiol.* 2000; 46: 28-37.
153. Jang YS et Mosolygó T. Inhibition of bacterial biofilm formation by phytotherapeutics with focus on overcoming antimicrobial resistance. *Curr Pharm Des.* 2020; 26(24): 2807-2816.
154. Kargar M, Chang Y, Khalili Hoseinabad H, Pruden A, Ducker WA. Colloidal crystals delay formation of early stage bacterial biofilms. *ACS Biomater Sci Eng.* 2016; 2(6): 1039-48.
155. Karygianni L, Al-Ahmad A, Argyropoulou A, Hellwig E, Anderson A, Skaltsounis A. Natural antimicrobials and oral microorganisms: A systematic review on herbal interventions for the eradication of multispecies oral biofilms. *Front Microbiol.* 2016; 6:1529.
156. Katsikogianni M et Missirlis YF. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *Eur Cell Mater.* 2004; 8: 37-57.
157. Khan M, Alkhathlan HZ, Khan ST. Antibiotic and antibiofilm activities of *Salvadora persica* L. essential oils against *Streptococcus mutans*: a detailed comparative study with chlorhexidine digluconate. *Pathogens.* 2020; 9: 66- 82.
158. Khattak P, Khalil T, Bibi S, Jabeen H, Muhammad N, Khan M, Liaqat S. *Juglans regia* (walnut tree) bark in dentistry: walnut tree bark in dentistry. *Pakistan BioMed J.* 2022;152-6.

159. Kiesow A, Sarembe S, Pizzey RL, Axe AS, Bradshaw DJ. Material compatibility and antimicrobial activity of consumer products commonly used to clean dentures. *J Prosthet Dent.* 2016; 115(2): 189-198.
160. Knorr SD, Combe EC, Wolff LF, Hodges JS. The surface free energy of dental gold-based materials. *Dent Mater.* 2005; 21(3): 272-7.
161. Kolenbrander PE, Palmer RJ, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat Rev Microbiol.* 2010; 8(7): 471-80.
162. Kolenbrander PE. Multispecies communities: interspecies interactions influence growth on saliva as sole nutritional. *Int J Oral Sci.* 2011; 3(2): 49-54.
163. Komiyama EY, Lepageur LS, Yassuda CG, Samaranayake LP, Parahitiyawa NB, Balducci I, Koga-Ito CY. *Enterococcus* species in the oral cavity: prevalence, virulence factors and antimicrobial susceptibility. *PLoS One.* 2016; 11(9):e0163001.
164. Kossioni AE. The prevalence of denture stomatitis and its predisposing conditions in an older Greek population. *Gerodontol.* 2011; 28(2): 85-90.
165. Kosuru KV, Devi G, Grandhi V, Prasan KK, Yasangi MK, Dhanalakshmi M. Denture care practices and perceived denture status among complete denture wearers. *J Int Soc Prevent Communit Dent.* 2017; 7:41-5.
166. Kreth J, Merritt J, Shi W, Qi F. Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm. *J Bacteriol.* 2005; 187(21): 7193-203.
167. Kulak Ozkan Y, Kazazoglu E, Arian A. Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeasts and stomatitis in elderly people. *J Oral Rehabil.* 2002; 29: 300-4.
168. Kumar A. The association between denture care and oral hygiene habits, oral hygiene knowledge and periodontal status of geriatric patients wearing removable partial dentures. *Int J Life Sci Biotech Pharm Res.* 2024; 13(7):166-169.
169. Lababidi S. *Salvadora persica L*: intérêt en hygiène bucco-dentaire. Thèse de doctorat. Paris: Université Paris Descartes; 2019. 9p-16p.
170. Lacoste-Ferré MH, Hermabessière S, Jézéquel F, Rolland Y. L'écosystème buccal chez le patient âgé. *Geriatr Psychol Neuropsychiatr Vieil.* 2013; 11(2):144-50.
171. Lancefield RC. A serological differentiation of human and other groups of *Streptococci*. *J Exp Med.* 1933; 59: 141-158.

172. Lang NP, Wilson TG, Corbet EF. Biological complications with dental implants: their prevention, diagnosis and treatment. Clin Oral Implants Res. 2000; 11:146-55.
173. Latrache H, El Ghmari A, Karroua M, Hakkou A, Ait Mousse H, El Bouadili A, Bourlioux P. Relations between hydrophobicity tested by three methods and surface chemical composition of *Escherichia coli*. Microbiologica. 2002; 25: 75-82.
174. Le Bars P, Amouriq Y, Bodic F, Giumelli B. Réactions tissulaires au port des appareils de prothèse dentaire amovible partielle ou totale. Paris (France): Elsevier SAS; 2002. 23-325.
175. Le Bars P, Kouadio AA, N'goran JK, Badran Z, Soueidan A. Relationship between removable prosthesis and some systemics disorders. J Ind Prost Soc. 2015; 15(4):292-299.
176. Le Bars P, Kouadio AA, Bandiaky ON, Le Guéhennec L, De La Cochetière MF. Host's immunity and *Candida* species associated with denture stomatitis: A narrative review. Microorganisms. 2022; 10(7): 1437.
177. Lee KK et Yii KC. A comparison of three methods for assaying hydrophobicity of pathogenic vibrios. Lett Appl Microbiol. 1996; 23: 343-346.
178. Lee SP, Lee SJ, Lim BS, Ahn SJ. Surface characteristics of orthodontic materials and their effects on adhesion of *mutans Streptococci*. Angle Orthod. 2009; 79(2): 353-60.
179. Leyral G et Joffin JN. Microbiologie technique: 2 Documentation techniques. 2^{ème} Ed. Bordeaux (France): CRDP d'Aquitaine; 1998. 299p.
180. Li L et Liu L. Microbial corrosion of dental alloy. Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi. 2004; 21: 864-866.
181. Lifshitz EM. J. Exp Theor Phys. 1955; USSR 29:94.
182. López Roa P, Sánchez Carrillo C, Marín M, Romero F, Cercenado E, Bouza E. Value of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight for routine identification of viridans group *Streptococci* causing bloodstream infections. Clin Microbiol Infect. 2013; 19 (5): 438-444.
183. Manchester SR. Fossil history of the Juglandaceae. PhD thesis. USA: Indiana University; 1981. 209p.
184. Manos PS et Stone DE. Evolution, phylogeny, and systematics of the Juglandaceae. Ann Missouri Bot Gard. 2001; 88: 231-269.

185. Marchini L, Tamashiro E, Nascimento DF, Cunha VP. Self reported denture hygiene of a sample of edentulous attendees at a University dental clinic and the relationship to the condition of the oral tissues. *Gerodontol.* 2004; 21:226-8.
186. Marchini L, Vieira PC, Bossan TP, Montenegro FL, Cunha VP. Self-reported oral hygiene habits among institutionalised elderly and their relationship to the condition of oral tissues in Taubaté, Brazil. *Gerodontol.* 2006; 23(1):33-7.
187. Marsh PD et Bradshaw DJ. Dental plaque as a biofilm. *J Ind Microbiol.* 1995; 15 (3): 169-175.
188. Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community - implications for health and disease. *BMC Oral Health.* 2006; 15; 6:14.
189. Marsh PD et Martin MV. *Oral microbiology.* Edinburgh (UK): Churchill Livingstone; 2009. 222p.
190. Mathur T, Singhal S, Khan S, Upadhyay DJ, Fatma T, Rattan A. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of *Staphylococci*: an evaluation of three different screening methods. *Indian J Med Microbiol.* 2006; 24(1): 25-9.
191. Maver U, Velnar T, Gaberšček M, Planinšek O, Finšgar M. Recent progressive use of atomic force microscopy in biomedical applications. *TrAC Trends Anal Chem.* 2016; 80: 96-111.
192. McLean JS. Advancements toward a systems level understanding of the human oral microbiome. *Front Cell Infect Microbiol.* 2014; 4: 98.
193. Mei L, Busscher HJ, van der Mei HC, Chen Y, de Vries J, Ren Y. Oral bacterial adhesion forces to biomaterial surfaces constituting the bracket-adhesive-enamel junction in orthodontic treatment. *Eur J Oral Sci.* 2009; 117(4):419-26.
194. Meng Q, Li Y, Xiao T, Zhang L, Xu D. Antioxidant and antibacterial activities of polysaccharides isolated and purified from *Diaphragma juglandis Fructus*. *Int J Biol Macromol.* 2017; 105: 431-437.
195. Miller RM, Tomaras AP, Barker AP, Voelker DR, Chan ED, Vasil AI, Vasil ML. *Pseudomonas aeruginosa* twitching motility-mediated chemotaxis towards phospholipids and fatty acids: specificity and metabolic requirements. *J bacteriol.* 2008; 190: 4038-49.
196. Mishra S, Routray S, Sahu Kumar S, Nanda S, Sahu Kanhu C. The role and efficacy of herbal antimicrobial agents in orthodontic treatment. *J Clin Diagn Res.* 2014; 8:12-4.

197. Monds RD et O'Toole G. The developmental model of microbial biofilms: ten years of a paradigm up for review. Trends microbiol. 2009; 17: 73-87.
198. Moori Bakhtiari N et Khalafi E. Antibacterial activity of the hydro-alcoholic extract of *Juglans regia* L. stem bark on human bacterial infection. Int Arch Health Sci. 2015; 2(4): 139-143.
199. Moori Bakhtiari N, Jamshidian J, Khalafi E. Effect of *Juglans regia* L stem bark hydroalcoholic extract on methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Jundishapur J Nat Pharm Prod. 2016; 11(1):e29095.
200. Mosaddad SA, Hussain A, Tebyaniyan H. Green alternatives as antimicrobial agents in mitigating periodontal diseases: a narrative review. Microorganisms. 2023; 11(5):1269.
201. Motta A, Migliaresi C, Faccioni F, Torricelli P, Fini M, Giardino R. Fibroin hydrogels for biomedical applications: preparation, characterization and *in vitro* cell culture studies. J Biomater Sci Polym Ed. 2004; 15(7):851-864.
202. Movahhed T, Mehrabkhani M, Arefnezhad M, Hamed S, Zare Mahmoudabadi R, Ghanbari F, Rostami M. Antibacterial efficacy of walnut green husk (WGH) extract with zinc oxide nanoparticles on *Streptococcus mutans*. Rep Biochem Mol Biol. 2022; 11(3):405-10.
203. Mouton C et Robert J. Bactériologie bucco-dentaire. Paris Milan Barcelone: Masson; 1994.
204. Murray BE. The life and times of the *Enterococcus*. Clin Microbiol Rev. 1990; 3(1): 46-65.
205. Muscariello L, Rosso F, Marino G, Giordano A, Barbarisi M, Cafiero G, Barbarisi A. A critical overview of ESEM applications in the biological field. J Cell Physiol. 2005; 205(3): 328-34.
206. Mushtaha W. Bacteria colonizing acrylic resin complete dentures, after long-term use and the 1st week of new dentures placement. Indian J Multidiscip Dent. 2019; 9 :32-5.
207. Musk DJ, Banko DA, Hergenrother PJ. Iron salts perturb biofilm formation and disrupt existing biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. Chem Biol. 2005; 12:789-796.
208. Muzaffer U et Paul VI. Phytochemical analysis, *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of male flower of *Juglans regia* L. Int J Food Prop. 2018; 21:345-56.
209. Myint A, Lee W, Mun S, Ahn CH, Lee S, Yoon J. Influence of membrane surface properties on the behavior of initial bacterial adhesion and biofilm development onto nanofiltration membranes. Biofouling. 2010; 26: 313-21.

210. Mylonas P, Milward P, McAndrew R. Denture cleanliness and hygiene: an overview. *Br Dent J*. 2022; 233(1): 20-26.
211. Najafi K, Ganbarov K, Gholizadeh P, Tanomand A, Rezaee MA, Mahmood S, Kafil H. Oral cavity infection by *Enterococcus faecalis*: virulence factors and pathogenesis. *Rev Med Microbiol*. 2020; 31(2): 51-60.
212. Namala BB et Hegde V. Comparative evaluation of the effect of plant extract, *Thymus vulgaris* and commercially available denture cleanser on the flexural strength and surface roughness of denture base resin. *J Indian Prosthodont Soc*. 2019; 19(3): 261-265.
213. Narwal E, Choudhary J, Kumar M, Amarowicz R, Kumar S, Radha, Chandran D et al. Botanicals as promising antimicrobial agents for enhancing oral health: a comprehensive review. *Crit Rev Microbiol*. 2024; 51(1): 84-107.
214. Niazi F, Naseem M, Khurshid Z, Zafar MS, Almas K. Role of *Salvadora persica* chewing stick (miswak): A natural toothbrush for holistic oral health. *Eur J Dent*. 2016; 10(2):301-8.
215. Nicolas GG et Lavoie MC. *Streptococcus mutans* et les streptocoques buccaux dans la plaque dentaire. *Rev Can Microbiol*. 2011; 57: 1-20.
216. Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T. Denture plaque - past and recent concerns. *J Dent*. 1998; 26: 299-304.
217. Nishi Y, Seto K, Kamashita Y, Take C, Kurono A, Nagaoka E. Examination of denture cleaning methods based on the quantity of microorganisms adhering to a denture. *Gerodontology*. 2012; 29:e259.
218. Normanita R, Kuntaman K, Eddy B. Validity of congo red agar and modified congo red agar to detect biofilm of *Enterococcus faecalis*. *J Saintika Med*. 2020; 16(1): 55-65.
219. Noumi E, Snoussi M, Merghni A, Nazzaro F, Quindós G, Akdamar Gü et al. Phytochemical composition, anti biofilm and anti quorum sensing potential of fruit, stem and leaves of *Salvadora persica* L. methanolic extracts. *Microb Pathog*. 2017; 109: 169-76.
220. Ogunrinde TJ et Opeodu OI. Denture care practice among patients attending the prosthetic clinic in a Nigerian teaching hospital. *Niger Med J*. 2015; 56(3):199-203.
221. Oliveira R, Azeredo J, Teixeira P, Fonseca A. The role of hydrophobicity in bacterial adhesion. *Bioline*. 2001; 11-22.
222. Ozcan M, Kulak Y, Arikan A, Silahtar E. The attitude of complete denture wearers towards denture adhesives in Istanbul. *J Oral Rehabil*. 2004; 31(2):131-4.

223. Ozyilmaz OY et Akin C. Effect of cleansers on denture base resins structural properties. J Appl Biomater Funct Mater. 2019; 17(1):2280800019827797.
224. Palmer RJ, Gordon SM, Cisar JO, Kolenbrander PE. Coaggregation-mediated interactions of *Streptococci* and *Actinomyces* detected in initial human dental plaque. J Bacteriol. 2003; 185: 3400-9.
225. Papadiochou S et Polyzois G. Hygiene practices in removable prosthodontics: A systematic review. Int J Dent Hyg. 2018; 16: 179-201.
226. Park OJ, Kwon Y, Park C, So YJ, Park TH, Jeong S, Im J, Yun CH, Han SH. *Streptococcus gordonii*: Pathogenesis and host response to its cell wall components. Microorganisms. 2020; 8(12): 1852.
227. Patel IB, Madan G, Patel B, Solanki K, Chavda R. Behaviours and hygiene habits of a sample population of complete denture wearers in Ahmedabad. J Int Oral Health. 2012; 4(2): 29-38.
228. Pembrey RS, Marshall KC, Schneider RP. Cell surface analysis techniques: what do cell preparation protocols do to cell surface properties? App Env Microbiol. 1999; 65: 2877-94.
229. Penchev P, Angelov G, Condoret J. Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la mélisse (*Melissa officinalis L.*). Revue de génie industriel. 2010; 5: 115-123.
230. Peracini A, Andrade IM, Paranhos Hde F, Silva CH, de Souza RF. Behaviors and hygiene habits of complete denture wearers. Braz Dent J. 2010; 21(3): 247-52.
231. Peracini A, Machado Andrade I, Oliveira VC, Macedo AP, Silva-Lovato CH, Oliveira Pagnano V, Watanabe E, Oliveira Paranhos HF. Antimicrobial action and long-term effect of overnight denture cleansers. Am J Dent. 2017; 30(2):101-108.
232. Pereira CA, Eskelson E, Cavalli V, Liporoni PCS, Jorge AOC, do Rego MA. *Streptococcus mutans* biofilm adhesion on composite resin surfaces after different finishing and polishing techniques. Oper Dent. 2011; 36: 311-31.
233. Perić M, Miličić B, Kuzmanović Pfićer J, Živković R, Arsić Arsenijević V. A systematic review of denture stomatitis: predisposing factors, clinical features, etiology, and global *Candida spp.* distribution. J Fungi. 2024; 10(5): 328.
234. Petrovska B. Historical review of medicinal plants usage. Pharmacogn Rev. 2012; 6(11):1-5.
235. Philbert R, Shimba E, Muro F, Rwakatema D. Oral prosthesis cleaning practice and oral health status of removable oral prosthesis wearers who attended Kilimanjaro Christian Medical Centre, Moshi, Tanzania. Tanzan J Health Res. 2024; 25(4):1491-1500.

236. Pompignoli M, Doukhan JY, Raux D. Prothèse complete: Clinique et laboratoire. Paris (France): CdP; 2011.
237. Ponce AG, Fritz R, Del Vallec, Rouras I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Soc Food Sci Technol. 2003; 36(7): 679-684.
238. Porwal A, Khandelwal M, Punia V, Sharma V. Effect of denture cleansers on colour stability, surface roughness, and hardness of different denture base resins. J Indian Prosthodont Soc. 2017; 17:61-67.
239. Prescott LM, Harley JP, Klein DA. Microbiologie. 2^{ème} ed. Bruxelles (Belgique); 2003.
240. Qiu Y, Xu J, Xu Y, Shi Z, Wang Y, Zhang L, Fu B. Disinfection efficacy of sodium hypochlorite and glutaraldehyde and their effects on the dimensional stability and surface properties of dental impressions: a systematic review. Peer J. 2023; 11:e14868.
241. Quave CL, Plano LRW, Pantuso T, Bennett BC. Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Ethnopharmacol. 2008; 118: 418-28.
242. Quirynen M, Marechal M, Busscher HJ, Weerkamp AH, Arends J, Darius PL, van Steenberghe D. The influence of surface free-energy on planimetric plaque growth in man. J Dental Res. 1989; 68: 796-9.
243. Quirynen M et Bollen CM. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. J Clin Periodontol. 1995; 22(1): 1-14.
244. Quispe Candori S, Foglio MA, Rosa PTV, Meireles MAA. Obtaining β -caryophyllene from *Cordia verbenacea* de Candolle by super critical fluid extraction. J Supercrit Fluids. 2008; 46(1): 27-32.
245. Rahman IU, Afzal A, Iqbal Z, Ijaz F, Ali N, Shah M, Ullah S, Bussmann RW. Historical perspectives of ethnobotany. Clin Dermatol. 2019; 37(4): 382-8.
246. Raja G, Ivvala A, Inampudi S, Swaminathan R, Kondaveeti S, Saleem Basha S. Nutritional analysis of nuts extract of *Juglans regia* L. Int J Bioassays. 2012; 1(10): 68-73.
247. Ramage G, O'Donnell L, Sherry L et al. Impact of frequency of denture cleaning on microbial and clinical parameters: a bench to chairside approach. J Oral Microbiol. 2019; 11(1): 1538437.

248. Richards VP, Palmer SR, Pavinski PD, Qin X, Weinstock GM, Highlander SK, Town CD, Burne RA, Stanhope MJ. Phylogenomics and the dynamic genome evolution of the genus *Streptococcus*. *Genome Biol Evol.* 2014; 6:741-753.
249. Rosa NM, Agnoletti F, Lollai S, Tola S. Comparison of PCR-RFLP, API® 20 Strep and MALDI-TOF MS for identification of *Streptococcus spp.* collected from sheep and goat milk samples. *Small Rumin Res.* 2019; 180: 35-40.
250. Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence.* 2018; 9(1): 522-554.
251. Rubio C. Compréhension des mécanismes d'adhésion des biofilms en milieu marin en vue de la conception de nouveaux moyens de prévention. Thèse de doctorat. Paris: Université Paris; 2002. 216p.
252. Rutter PR et Vincent B. The adhesion of microorganisms to surface: physicochemical aspects. In: *Microbial adhesion to surface*, Berkeley RC, Lynch JM, Melling J, Rutter PR et Vincent B. Chichester (UK): Ellis Horwood Limited; 1980. 79-92.
253. Rüttermann S, Beikler T, Janda R. Contact angle and surface free energy of experimental resin-based dental restorative materials after chewing simulation. *Dent Mater.* 2014; 30(6): 702-7.
254. Sağır S, Sapancı B, Uysal I, Sevindik M. A review: nutrition and oral-dental health, phytochemical content, biological activity of *Salvadora persica* (Miswak). *Prosp Pharm Sci.* 2024; 22(2): 18-25.
255. Saha A, Dutta S, Varghese RK, Kharsan V, Agrawal A. A survey assessing modes of maintaining denture hygiene among elderly patients. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2014; 4(3):145-8.
256. Salimi M, Majd A, Sepahdar Z, Azadmanesh K, Irian S, Ardestaniyan M, Hedayati M, Rastkari N. Cytotoxicity effects of various *Juglans regia* (walnut) leaf extracts in human cancer cell lines. *Pharm Biol.* 2012; 50:1416-1422.
257. Sarna-Boś K, Skic K, Sobieszczański J, Boguta P, Chałas R. Contemporary approach to the porosity of dental materials and methods of its measurement. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (16):8903.
258. Sartawi SY, Abu-Hammad S, A Salim N, Al-Omoush S. Denture stomatitis revisited: a summary of systematic reviews in the past decade and two case reports of papillary hyperplasia of unusual locations. *Int J Dent.* 2021; 13: 2021:7338143.

259. Sarwar N, Sharif S, Aslam S, Nisar B, Sarwar S, Batool A. Antibacterial effects of chewing stick extracts on *Streptococcus mutans*. Annals King Edward Med Univ. 2023; 29(2): 148-154.
260. Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram KM, Yoga Latha L. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2011; 8(1):1-10.
261. Satorres SE et Alcaráz LE. Prevalence of *ica A* and *ica D* genes in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from patients and hospital staff. Cent Eur J Public Health. 2007; 15(2): 87-90.
262. Scheuerman TR, Camper AK, Hamilton MA. Effects of substratum topography on bacterial adhesion. J Colloid Interface Sci.1998; 208:23-33.
263. Schloissnig S, Arumugam M, Sunagawa S, Mitreva M, Tap J, Zhu A, Waller A, Mende DR, Kultima JR, Martin J, Kota K, Sunyaev SR, Weinstock GM, Bork P. Genomic variation landscape of the human gut microbiome. Nature. 2013; 493 (7430):45-50.
264. Sedgley C, Molander A, Flannagan SE, Nagel AC, Appelbe OK, Clewell D, Dahlén G. Virulence, phenotype and genotype characteristics of endodontic *Enterococcus spp.* Oral Microbiol Immunol. 2005; 20: 10-9.
265. Shankar T, Gowd S, Suresan V, Mantri S, Saxena S, Mishra P, Panday P. Denture hygiene knowledge and practices among complete denture wearers attending a postgraduate dental institute. J Contemp Dent Pract. 2017; 18(8):714-721.
266. Sharma P, Garg S, Kalra NM. Effect of denture cleansers on surface roughness and flexural strength of heat cure denture base resin-an *in vitro* study. J Clin Diagn Res. 2017; 11(8): ZC94-ZC97.
267. Sher H, AlYamani MN, Wijaya L. Ethnobotanical and antibacterial potential of *Salvadora persica*: A well known medicinal plant in Arab and union system of medicine. J Med Plan Res. 2011; 5: 1224-9.
268. Shingare P et Chaugule V. Comparative evaluation of antimicrobial activity of miswak, propolis, sodium hypochlorite and saline as root canal irrigants by microbial culturing and quantification in chronically exposed primary teeth. Germs. 2011; 1:12-21.
269. Shukor SS, Juszczuk AS, Clark RK, Radford DR. The effect of cyclic drying on dimensional changes of acrylic resin maxillary complete dentures. J Oral Rehabil. 2006; 33(9): 654-9.

270. Siqueira W, Custodio W, McDonald E. New insights into the composition and functions of the acquired enamel pellicle. *J Dent Res.* 2012; 91:1110-1118.
271. Sitkiewicz I. How to become a killer, or is it all accidental? Virulence strategies in oral streptococci. *Mol Oral Microbiol.* 2018; 33: 1-12.
272. Sjollem J, Van der Mei HC, Wugen HM, Busscher HJ. The influence of collector and bacterial cell surface properties on the deposition of oral *Streptococci* in a parallel plate flow cell. *J Adhesion Sci Technol.* 1990; 4: 765- 777.
273. Srinivasan M et Gulabani M. A microbiological evaluation of the use of denture cleansers in combination with an oral rinse in complete denture patients. *Indian J Dent Res.* 2010; 21(3):353-6.
274. Stepanovic S, Vuković D, Hola V, Di Bonaventura G, Djukić S, Cirković I et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by *Staphylococci*. *APMIS.* 2007; 115(8): 891-899.
275. Su X, Duan Jun JY, Shi J, Kakuda Y. Effects of soaking conditions on the antioxidant potentials of oolong tea. *J Food Compos Anal.* 2006; 19(4): 348-353.
276. Suarez S, Nassif X, Ferroni A. Applications de la technologie MALDI-TOF en microbiologie clinique. *Pathol Biol.* 2015; 63(1): 43-52.
277. Suresan V, Mantri S, Deogade S, Sumathi K, Panday P, Galav A et al. Denture hygiene knowledge, attitudes and practices toward patient education in denture care among dental practitioners of Jabalpur city Madhya Pradesh, India. *J Ind Prosthodont Soc.* 2016; 16: 30-5.
278. Sutherland IW. The biofilm matrix- an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends Microbiol.* 2001; 9: 222-227.
279. Szalewski L, Pietryka-Michałowska E, Szymańska J. Oral hygiene in patients using removable dentures. *Polish J Pub Health.* 2017; 127(1): 28-31.
280. Szustakiewicz B, Djerbi N, Gondy A, Derki M, Devulder-Salana A, Pindi G, Rakotomalala H, Sergent O, Swead M, Tronet J. Comportement en milieu buccal. *Orthod Fr.* 2009; 80(1) 99-135.
281. Tang YL, Sim TS, Tan KS. Oral streptococci subvert the host innate immune response through hydrogen peroxide. *Sci Rep.* 2022; 12(1): 656.
282. Tanner J, Robinson C, Söderling E, Vallittu P. Early plaque formation on fibre reinforced composites *in vivo*. *Clin oral investig.* 2005; 9(3): 154-160.

283. Taylor M, Masood M, Mnatzaganian G. Longevity of complete dentures: a systematic review and meta-analysis. *J Prosthet Dent*. 2021; 125(4): 611-619.
284. Teixeira P, Lopes Z, Azeredo J, Oliveira R, Vieira MJ. Physico-chemical surface characterization of a bacterial population isolated from a milking machine. *Food Microbiol*. 2005; 22: 247-251.
285. Teles C, Smith A, Ramage G, Lang S. Identification of clinically relevant viridans group *Streptococci* by phenotypic and genotypic analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011; 30(2): 243-50.
286. Terada A, Yuasa A, Tsuneda S, Hirata A, Katakai A, Tamada M. Elucidation of dominant effect on initial bacterial adhesion onto polymer surfaces prepared by radiation-induced graft polymerization. *Colloids surf B Biointerfaces*. 2005; 43: 99-107.
287. Thakur N, Gaikar VG, Sen D, Mazumder S, Pandita NS. Phytosynthesis of Silver nanoparticles using walnut (*Juglans regia*) bark with characterization of the antibacterial activity against *Streptococcus mutans*. *Anal Lett*. 2017; 50(4): 690-711.
288. Thu KM, Yeung AWK, Samaranayake L, Lam WYH. Denture plaque biofilm visual assessment methods: a systematic review. *Int Dent J*. 2024; 74(1): 1-14.
289. Tosun B et Uysal N. Denture care attitudes, hygiene levels and oral mucosal lesions in complete denture wearers from a single-institution cross-sectional study. *Sci Rep*. 2025; 15: 1421.
290. Tremblay YD, Hathroubi S, Jacques M. Bacterial biofilms: their importance in animal health and public health. *Canadian J Vet Res*. 2014; 78(2):110-116.
291. Turgut Cankaya Z, Yurdakos A, Gokalp Kalabay P. The association between denture care and oral hygiene habits, oral hygiene knowledge and periodontal status of geriatric patients wearing removable partial dentures. *Eur Oral Res*. 2020; 54(1): 9-15.
292. Upadhyay V, Kambhoja S, Harshaleena K. Antifungal activity and preliminary phytochemical analysis of stem bark extracts of *Juglans regia* linn. *Int J Pharm Bio Arch*. 2010; 1(5):442-7.
293. Vacheethasanee K, Temenoff JS, Higashi JM, Gary A, Anderson JM, Bayston R, Marchant RE. Bacterial surface properties of clinically isolated *Staphylococcus epidermidis* strains determine adhesion on polyethylene. *J Biomed Mater Res*. 1998; 42(3):425-32.
294. Van der Mei HC, Busscher HJ. The use of X-Ray Photoelectron spectroscopy for the study of oral Streptococcal cell surfaces. *Adv dent res*. 1997; 11: 388-394.

295. Van Loosdrecht MC, Lyklema J, Norde W, Schraa G, Zehnder AJB. Electrophoretic mobility and hydrophobicity as a measure to predict the initial steps of bacterial adhesion. *Appl Environ Microbiol.* 1987; 53:1898-1901.
296. Van Loosdrecht MC, Lyklema J, Norde W, Zehnder AJ. Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiol Rev.*1990; 54:75-87.
297. Van Oss CJ, Good RJ, Chaudhury MK. The role of van der Waals forces and hydrogen bonds in hydrophobic interactions between biopolymers and low energy surfaces. *J Colloid Interface Sci.* 1986; 11: 378-390.
298. Van Oss CJ, Good RJ, Chaudhury MK. Additive and nonadditive surface tension components and the interpretation of contact angles. *Langmuir.*1988; 4: 884-891.
299. Van Oss CJ. Hydrophobicity of biosurfaces origin, quantitative determination and interaction energies. *Colloids Surf B.* 1995; 5: 91-100.
300. Van Oss CJ. Forces interfaciales en milieux aqueux. Paris (France): Masson; 1996.
301. Vergnault H. Etude et amélioration de la chromatographie en lit expansé. Thèse de doctorat. Toulouse: Université Paul Sabatier; 2004. 86p.
302. Verhaeghe TV, Wyatt CC, Mostafa NZ. The effect of overnight storage conditions on complete denture colonization by *Candida albicans* and dimensional stability: A systematic review. *J Prosthet Dent.* 2020; 124(2): 176-182.
303. Vernhet A, Leveau JY, Cerf O, Bellon-Fontaine MN. Role of electrostatic interactions in *Saccharomyces cerevisiae* adhesion to the inner surface of champagne bottles. *Biofouling.* 1992; 5(4): 323-334.
304. Verwey EW et Overbeek JG. Theory of the stability of lyophobic colloids: the interaction of sol particles having an electric double layer. Amsterdam (Netherland): Elsevier; 1948.
305. Vidana R, Rashid MU, Özenci V, Weintraub A, Lund B. The origin of endodontic *Enterococcus faecalis* explored by comparison of virulence factor patterns and antibiotic resistance to that of isolates from stool samples, blood cultures and food. *Int Endod J.* 2016; 49(4): 343-51.
306. Vieira V, Pereira C, Pires TCSP, Calhella RC, Alves MJ, Ferreira O, Barros L, Ferreira ICFR. Phenolic profile, antioxidant and antibacterial properties of *Juglans regia* L. (walnut) leaves from the northeast of Portugal. *Ind Crops Prod.* 2019; 134: 347-355.

307. Vogler EA. Thermodynamics of short-term cell adhesion *in vitro*. Biophys J. 1988; 53(5): 759-69.
308. Wang L, Li W, Li X, Liu J, Chen Y. Antimicrobial activity and mechanisms of walnut green husk extract. Molecules. 2023; 28(24):7981.
309. Weinmann W, Thalacker C, Guggenberger R. Siloranes in dental composites. Dent Mater. 2005; 21(1): 68-74.
310. WHO. World Health Organization. Consensus statement on oral hygiene. Int Dent J. 2000; 50:139.
311. Willershausen B, Callaway A, Ernst CP, Stender E. The influence of oral bacteria on the surfaces of resin-based dental restorative materials-an *in vitro* study. Int Dent J. 1999; 49: 231-239.
312. Yadav R, Yadav VS, Garg S, Mittal S, Garg R. Effectiveness of different denture cleansing methods on removal of biofilms formed *in vivo*. J Craniomaxillofac Surg. 2013; 2: 22.
313. Young T. An assay on the cohesion of fluids. Philos Trans R Soc. Londres. 1805; 95: 65-87.
314. Yuan H, Ma Q, Ye L, Piao G. The traditional medicine and modern medicine from natural products. Molecules. 2016; 21:559.
315. Zaheer R, Cook SR, Barbieri R, Goji N, Cameron A, Petkau A, Polo RO, Tymensen L, Stamm C, Song J et al. Surveillance of *Enterococcus spp.* reveals distinct species and antimicrobial resistance diversity across a One-Health continuum. Sci Rep. 2020; 10: 3937.
316. Zakavi F, Golpasand Hagh L, Daraeighadikolaei A, Farajzadeh Sheikh A, Daraeighadikolaei A, Leilavi Shooshtari Z. Antibacterial effect of *Juglans regia* bark against oral pathologic bacteria. Int J Dent. 2013; 2013: 854765.
317. Zhang T et Fang H. Quantification of extracellular polymeric substances in biofilms by confocal laser scanning microscopy. Biotechnol Lett. 2001; 23: 405-409.
318. Zheng S, Bawazir M, Dhall A, Kim H, He L, Heo J, Hwang G. Implication of surface properties, bacterial motility, and hydrodynamic conditions on bacterial surface sensing and their initial adhesion. Front Bioeng Biotechnol. 2021; 9: 1-22.
319. Zhong Z, Zhang W, Song Y, Liu W, Xu H, Xi X, Menghe B, Zhang H, Sun Z. Comparative genomic analysis of the genus *Enterococcus*. Microbiol Res. 2017; 196: 95-105.
320. Zhu J, Tian L, Chen P, Han M, Song L, Tong X, Sun X, Yang F, Lin Z, Liu X, Liu C, Wang X, Lin Y, Cai K, Hou Y, Xu X, Yang H, Wang J, Kristiansen K, Xiao L, Zhang T, Jia H, Jie

- Z. Over 50,000 metagenomically assembled draft genomes for the human oral microbiome reveal new taxa. *Genom Proteom Bioinf.* 2022; (2): 246-259.
321. Zirihi GN, Grenier P, Guédé-Guina F, Bodo B, Mambu L. Isolation, characterization and antiplasmodial activity of steroidal alkaloids from *Funtumia elastica* (Preuss) Stapf. *Bioorganic Med Chem Lett.* 2005; 15: 2637- 2640.
322. Zimmermann F, Ebert M, Worringen A, Schutz L, Weinbruch S. Environmental scanning electron microscopy ESEM as a new technique to determine the ice nucleation capability of individual atmospheric aerosol particles . *Atmos Environ.* 2007; 41: 8219-8227.

Annexes

Annexe I. Questionnaire d'évaluation

Date :

Prélèvement n° :

Age :

Sexe :

Type de prothèse :

Questionnaire Hygiène :

1. Depuis combien d'années portez-vous une ou des prothèses?

2. Enlevez-vous votre ou vos prothèses la nuit pour dormir?

- Si oui, dans quoi gardez-vous votre ou vos prothèses?

☐ A l'air libre au sec

☐ Dans un contenant rempli d'eau seulement

☐ Dans un contenant rempli d'eau avec un agent nettoyant

3. Comment nettoyez-vous votre ou vos prothèses?

☐ Rinçage à l'eau du robinet sans brossage

☐ Rinçage à l'eau du robinet avec brossage

☐ Brossage avec eau et pâte dentifrice

☐ Autres

4. À quelle fréquence nettoyez-vous votre ou vos prothèses?

☐ Après chaque repas

☐ Matin et soir

☐ Une fois / jour

☐ Trois fois et moins par semaine

☐ Une seule fois par semaine

☐ Autres fréquences

ملخص

يؤدي إرتداء أطقم الأسنان إلى تغييرات بيئية محلية في الفم ، خاصة عند كبار السن الذين لا يحافظون على نظافة الأطقم بشكل كافٍ. قمنا في هذا العمل بإجراء استبيان لعادات حاملي أطقم الأسنان المركبة فيما يتعلق بنظافة هذه الأخيرة. على مستوى المخبر، يتم تقييم القدرة على تكوين الأغشية الحيوية البكتيرية، لأنواع المكورات المعوية والمكورات العقدية الفموية التي تم جمعها من الأطقم المركبة، نوعاً وكماً. كما يتم تحديد الخصائص الفيزيوكيميائية للأسطح البكتيرية والمواد الحيوية التعويضية المتمثلة في راتنج الأكريليك، ويتبع ذلك بتطبيق نهج تنبؤي نظري من أجل فهم أفضل لظاهرة الالتصاق البكتيري. للوصول أخيراً إلى تقييم احتباس بكتيريا الفم على المادة الحيوية التعويضية بعد استخدام المستخلصات الطبيعية، قدمنا تقريراً ولأول مرة عن التأثير المضاد للغشاء الحيوي لعيدان المضغ، المشتقة من لحاء شجر الجوز و الأراك الجزائري، على الأغشية الحيوية الملتصقة براتنج الأكريليك في المختبر و تؤكد النتائج بصور المجهر الإلكتروني الماسح و مجهر القوة الذرية. حسب الدراسة التي أجريناها، معظم المشاركين ليسوعلى دراية كبيرة بأهمية الإعتناء اليومي بنظافة أطقم الأسنان وبمضاعفات الإهمال. تؤكد النتائج أهمية تحديد الخصائص الفيزيوكيميائية للأسطح في شرح ظاهرة الالتصاق البكتيري. كما أظهر تقييم نشاط المستخلصات الطبيعية أن جميع البكتيريا المختبرة، حرة أو كأغشية حيوية ، كانت أكثر حساسية بعد المعالجة، وبالتالي و نظراً لنشاطها المضاد للبكتيريا، يمكن أن تكون هذه المستخلصات ذات أهمية كبيرة للدراسات المستقبلية حول استخدام المواد الطبيعية في منتجات العناية بالفم و أطقم الأسنان.

الكلمات الدالة. أطقم الأسنان. راتنج الأكريليك. المكورات العقدية الفموية. المكورات المعوية الفموية. الأغشية الحيوية. شجرة الجوز. الأراك. مضادات البكتيريا.

Résumé

Le port de prothèses dentaires amovibles induit des changements environnementaux locaux, notamment chez les personnes âgées qui ne gardent pas leurs prothèses suffisamment propres. Une enquête auprès des patients édentés porteurs de prothèses est réalisée pour explorer leurs attitudes en matière d'hygiène buccale. La capacité de formation de biofilm par des espèces buccales de *Streptococcus* et *Enterococcus*, prélevées de prothèses dentaires amovibles, est évaluée qualitativement et quantitativement. Les propriétés physicochimiques des surfaces bactériennes et du biomatériau dentaire à base de résine acrylique sont déterminées et une approche prédictive théorique de l'adhésion est réalisée pour mieux comprendre le phénomène. Pour arriver à l'évaluation de la rétention de ces bactéries buccales sur matériau prothétique après traitement aux extraits naturels. Nous rapportons et pour la première fois l'effet antibiofilm de deux bâtonnets à mâcher récoltés au sud Algérien *Salvadora persica* et *Juglans regia*, sur des biofilms adhérents à la résine acrylique *in vitro* et visualisés par microscope électronique à balayage environnemental et à force atomique. Suite à notre audit, la plupart des participants ne sont pas très conscients de l'hygiène prothétique et de ses diverses complications. Les résultats confirment l'intérêt de détermination des propriétés physico-chimiques des surfaces dans l'adhésion bactérienne. L'évaluation de l'activité des extraits a révélé que toutes les bactéries testées, planctoniques ou en biofilms, étaient plus sensibles après traitement, l'extrait de *J.regia* montrant une activité plus importante que *S. persica*. Ainsi, compte tenu de leur activité antibactérienne, ces extraits pourraient être d'un grand intérêt pour de futures études sur les agents anti-plaques naturels dans les produits de soins bucco-dentaires quotidiens.

Mots clés. Prothèse dentaire. Résine acrylique. *Streptococcus*. *Enterococcus*. Biofilm buccal. *Juglans regia*. *Salvadora persica*. Antibactériens.

Abstract

Wearing removable dentures induces local environmental changes, especially in the elderly who do not keep their dentures sufficiently clean. A survey of edentulous patients with dentures is conducted to explore their attitudes regarding oral hygiene. Oral *Streptococcus* and *Enterococcus* species isolated from removable dentures are evaluated qualitatively and quantitatively for their biofilm forming ability. The physico-chemical properties of bacterial surfaces and acrylic resin biomaterial are assessed and a theoretical predictive approach is carried out to enhance the understanding of adhesion phenomena. The retention of these oral bacteria on dentures after treatment with natural extracts is investigated. We report for the first time the antibiofilm effect of two chewing sticks harvested in southern Algeria *Salvadora persica* and *Juglans regia*, on artificial biofilms adhered to acrylic resin *in vitro* and visualized by environmental scanning electron microscopy and atomic force microscopy. According to our audit, most participants are not very aware of denture hygiene and its various complications. The findings support the interest in identifying the physico-chemical properties of surfaces in bacterial adhesion. The evaluation of extracts activity revealed that all tested bacteria, planktonic or in biofilms, were more sensitive after treatment, the extract of *J. regia* showing a greater activity than *S. persica*. Thus, given their antibacterial activity, these extracts could be of great interest for future studies on natural anti-plaque agents in daily oral care products.

Keywords. Dentures. Acrylic resin. *Streptococcus*. *Enterococcus*. Oral biofilm. *Juglans regia*. *Salvadora persica*. Antibacterials.