



Article Original

Activité Antibactérienne In Vitro d'*Azadirachta Indica* (Neem) Utilisé pour le Traitement de l'Alvéolite

In vitro antibacterial activity of the essential oil of Azadirachta indica (Neem) for the treatment of alveolitis the said bacteria

Nokam Abena Marie Elvire^{1,4}, Soppo LobeVanessa⁶, Gonsu Kamga Hortense³, Nnanga Nga Emmanuel⁶, Ngoni Mballa Rose⁶, Messina Nomo Christelle Francine¹, Fokunang Charles⁷.

RÉSUMÉ

Introduction. L'alvéolite est une ostéite circonscrite périphérique survenant 2-3 jours après une avulsion dentaire. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* sont parmi les bactéries incriminées. Cependant, l'antibiothérapie mal adaptée génère des multi-résistances. Ainsi, la recherche s'oriente vers l'exploitation des plantes médicinales. Le but de l'étude était d'évaluer l'activité antibactérienne in vitro de l'huile essentielle d'*Azadirachta indica* (Neem) sur les dites bactéries. **Méthodologie.** Il s'agissait d'une étude expérimentale menée à la FMSB de Yaoundé et au CSIR de Bruneton à Pretoria, durant 7 mois courant 2019. Le criblage chimique a été fait par CPG/SM. L'activité antibactérienne a été étudiée selon la méthode de diffusion des disques sur ce milieu gélosé et la technique de macro dilution. L'analyse statistique a été réalisée à partir du logiciel Graphpad InStat version 5.1. **Résultats.** Le criblage chimique de l'huile de Neem a ressorti les composés à l'origine de l'activité antibactérienne à l'instar d'acides gras dont l'Acide oléique (42,5%) et de plusieurs composés volatils dont le Lineoleoyl chloride (10,24 %) et le Méthyl petroselinat (10,23 %). Les souches bactériennes étaient sensibles avec des diamètres de 14,9 mm pour *A. actinomycetemcomitans*, 11,3mm *P. gingivalis* et 12,6 mm *F. nucleatum*. Les CMI et CMB étaient respectivement de 125 mg /ml et 500 mg /ml ; le rapport CMB /CMI était égal à 4. **Conclusion.** L'huile de Neem a une activité bactériostatique sur les germes *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *porphyromonas gingivalis* et *fusobacterium nucleatum*; et constituerait une alternative pour la prise en charge de l'alvéolite.

ABSTRACT

Introduction. Alveolitis is a circumscribed peripheral osteitis occurring 2-3 days after dental avulsion. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* are among the incriminated bacteria. However, ill-adapted antibiotic therapy generates multi-resistance. Research is therefore focusing on the use of medicinal plants. The aim of the study was to evaluate the in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Azadirachta indica* (Neem) on the said bacteria. **Methodology.** This was an experimental study conducted at the FMSB in Yaounde and the CSIR of Bruneton in Pretoria, during 7 months in 2019. Chemical screening was done by CPG/SM. The antibacterial activity was studied according to the method of disc diffusion on this agar medium and the macro dilution technique. The statistical analysis was carried out using Graphpad InStat version 5.1 software. **Results.** The chemical screening of Neem oil brought out the compounds at the origin of the antibacterial activity like fatty acids such as Oleic Acid (42.5%) and several volatile compounds such as Lineoleoyl chloride (10.24%) and Methyl petroselinat (10.23%). Bacterial strains were susceptible with diameters of 14.9 mm for *A. actinomycetemcomitans*, 11.3 mm *P. gingivalis* and 12.6 mm *F. nucleatum*. The MIC and MBC were 125 mg /ml and 500 mg /ml respectively; the MBC / MIC ratio was 4. **Conclusion.** In the end, Neem oil has bacteriostatic activity on the germs *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *porphyromonas gingivalis* and *fusobacterium nucleatum*; and would be an alternative for the management of alveolitis.

¹Service d'odontostomatologie, Hôpital de district de la cité verte de Yaoundé

²Centre de Recherche Scientifique et Industriel (CSIR) de Bruneton à Pretoria

³Département de Microbiologie, Parasitologie, Hématologie et Maladies Infectieuses (FMSB)

⁴Département de Chirurgie Buccale, Maxillo-faciale et Parodontologie de la Faculté de médecine et des Sciences biomédicales (FMSB).

⁵Département de Médecine Traditionnelle africaine et pharmacopée traditionnelle (FMSB)

⁶Département de Pharmacie Galénique et Législation Pharmaceutique de la FMSB

⁷Département de Pharmacotoxicologie et Pharmacocinétique de la FMSB

Adresse pour correspondance : Dr Nokam Taguémné Epse Abéna Marie Elvire
Tel : (237)699975202 ; E-mail : nokamabena@yahoo.fr

Mots clés : Huile essentielle de Neem, *Azadirachta indica*, alvéolite, activité antibactérienne.

Key words: Neem essential oil, *Azadirachta indica*, alveolitis, antibacterial activity.

INTRODUCTION

L'ostéite est une maladie inflammatoire osseuse d'origine infectieuse bactérienne [1]. Elle peut survenir quelques jours après une extraction dentaire, suite à une fracture avec un dégagement osseux ou une infection parodontale sévère entraînant une perte d'attache [2,3]. L'alvéolite est une micro-ostéite du rebord alvéolaire pouvant s'étendre, caractérisée par des violentes douleurs aiguës, irradiantes, rebelles aux antalgiques, nécessitant un traitement adapté et efficace [2]. Cliniquement, on décrit deux formes d'alvéolite : sèche et suppurée [1,2]. Les microorganismes incriminés sont les Gram+ (Streptococcus, staphylococcus, entérobacilles), Gram-négatif (pseudomonas aeruginosa) et anaérobies Fusobactérium nucléatum, Porphyromonas gingivalis, Actinobacillus actinomycetemcomitans [2,3,4]. Le diagnostic de l'alvéolite est clinique et les moyens thérapeutiques utilisés sont médico-chirurgicaux [2,3]. Les antibiotiques les plus utilisés sont les Bétalactamines, les macrolides, les cyclines et les imidazolés [2,3]. Cependant, l'utilisation massive et répétée d'antibiotiques génère au fil du temps une augmentation des résistances bactériennes [5]. Aujourd'hui cette multi résistance microbienne pose de grands problèmes dans un contexte qu'est le nôtre où l'antibiothérapie conventionnelle utilisée après une exodontie peut s'avérer inefficace. En fait, il ne reste que très peu d'agents antimicrobiens efficaces contre certains microbes multi résistants. Les scientifiques sont donc à la recherche de nouveaux produits antimicrobiens notamment les composés phytochimiques isolés de plantes utilisées en médecine traditionnelle. Parmi elles, *Azadirachta Indica* communément appelée le «Neem», est connu comme étant une plante de la médecine traditionnelle dans de nombreuses zones rurales de régions d'Asie et d'Afrique, pour ses propriétés antiseptiques, anti-inflammatoires, hypoglycémiantes, antiulcéreux, antibactériens, antipaludéens, antiviral [8,9]. Au nord du Cameroun, il est aussi utilisé pour les besoins esthétiques. Cependant, les huiles essentielles ont dans certains cas provoqué des réactions indésirables [10]. Peu d'études ont été menées sur l'activité antibactérienne et surtout du Neem au Cameroun. Ce travail a permis de mettre en évidence son effet antibactérien in vitro sur les bactéries parodontopathogènes de l'huile essentielle d'*Azadirachta indica*.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Il s'agissait d'une étude expérimentale conduite sur une période de 7 mois allant de novembre 2018 à mai 2019. Le criblage chimique de l'huile de Neem venant de Faro au nord Cameroun (Fig.1), a été fait au laboratoire de bio analyse du Centre de Recherche Scientifique et Industrielle (CSIR) à Pretoria en Afrique du Sud. Les prélèvements sur les patients ont été réalisés au service d'Odontostomatologie du Centre Hospitalier et Universitaire de Yaoundé (CHUY). L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de Neem a été effectuée au laboratoire de microbiologie du CHUY.



Figure 1: Arbres, feuilles et fruits de Neem dans le Faro (Photographie de l'étude).

Était inclus dans l'étude tout patient consentant âgé de plus de 18 ans, présentant une parodontite agressive avec au moins trois poches parodontales supérieures à 5 mm localisée sur une dent de mobilité degré 2. Le malade devait être exempt de traitement parodontal et antibiotique topique ou systémique depuis au moins six mois.

Le matériel végétal était l'huile d'*Azadirachta indica* obtenue par première pression à froid des graines récoltées dans la localité de Faro au nord Cameroun (Fig.2). Le matériel d'extraction d'huile était la presse à huile à vis, modèle NF 500. Cent ml d'huile de Neem ont été conditionnés (séchée sur du sulfate de sodium anhydre et conservée à 4 °C) et envoyés au laboratoire de bioanalyse du CSIR pour la caractérisation chimique.



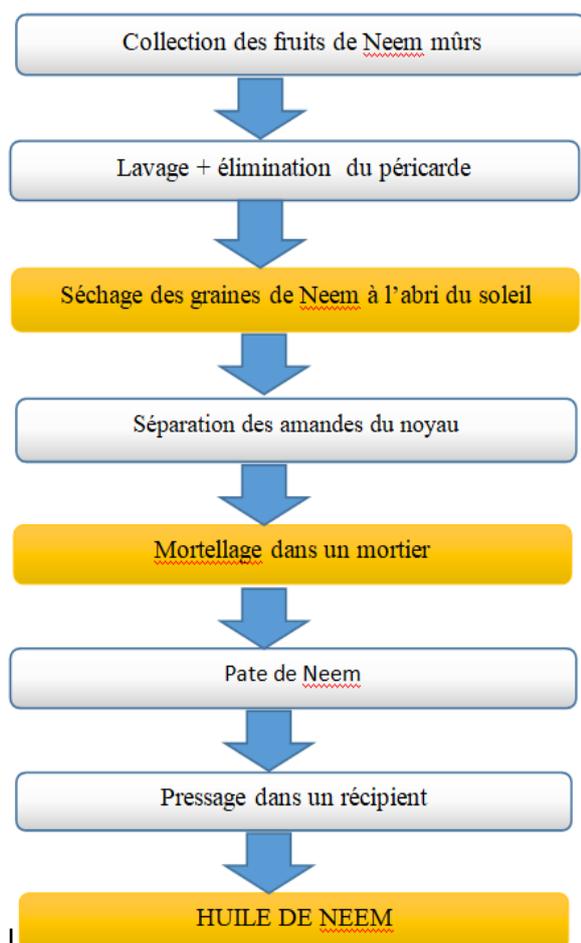


Figure 2: Schéma d'obtention de l'huile par pression mécanique à froid.

Le matériel microbiologique était composé de **souches bactériennes** qui provenaient des différentes cultures réalisées des prélèvements effectués chez les patients remplissant les critères d'inclusion ; et du **matériel d'usage au laboratoire de microbiologie**. Les **milieux de culture** étaient gélose chocolat + polyvitex, gélose au sang + vancomycine + Amicacycline, gélose éosine bleu de méthylène, gélose chocolat + polyvitex+ vancomycine+ Amicacycline.

Procédure d'évaluation de l'activité antimicrobienne

Les prélèvements des échantillons ont été effectués deux heures avant l'alimentation et le brossage des dents du patient. Le choix du site de prélèvement a été fait après évaluation des paramètres cliniques de la maladie parodontale (saignement au sondage, œdème gingival, perte d'attaches, profondeur de poche) [11]. Les prélèvements ont été réalisés quadrant par quadrant et par pool et ont été placés dans un même milieu de transport. La technique utilisée était le prélèvement par pointe de papier selon WOLF 2005 [11]. La plaque supra-gingivale a premièrement été éliminée à l'aide d'une curette stérile, de compresse, et de sérum physiologique stérile ; ensuite, les sites de prélèvement ont été isolés de la salive par des rouleaux de coton salivaire puis séchés à l'air ; après, une pointe de papier stérile saisie à l'aide d'une précelle stérile

a été introduite dans la poche jusqu'à sentir une résistance ; 10 à 20 secondes après la pointe a été retirée, en se rassurant qu'elle ne soit en contact ni avec la muqueuse ni avec la salive ; enfin, la pointe a été immédiatement introduite dans un flacon stérile contenant 1ml du bouillon cœur-cerveille et transportée directement vers le laboratoire de bactériologie.



Figure 3: Prélèvement de la plaque sous gingivale.

La culture des bactéries

Les prélèvements ont été homogénéisés grâce à un vortex à puissance maximale puis mis à incubation pendant 15 minutes. Les milieux de culture ont été préalablement préparés selon les normes recommandées par les fabricants. Après incubation, l'inoculum bactérien a été prélevé à l'aide d'une micropipette et étalé à l'aide d'une anse de platine stérile selon la méthode de quadrant et épuisement sur gélose au sang frais et chocolat [12]. Les boîtes de Pétri ont été introduites dans une jarre transparente, un sachet de Genbox (générateurs d'anaérobiose) y a été introduit pour créer des conditions d'anaérobiose à 37°C. Ensuite, tout ceci a été mis sous incubation pendant 5 à 10 jours.

Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de Neem :

Préparation de l'inoculum bactérien

A partir d'une culture pure des bactéries isolées et repiquées ayant au maximum 24h, le raclage de trois à cinq colonies du même type morphologique et parfaitement identiques a été fait à l'aide d'une anse de platine ; le contenu de cette anse a été ensuite déchargé dans 5ml de sérum physiologique stérile puis homogénéisé afin d'obtenir une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de Mc Farland correspondant à $1 - 2 \times 10^8$ UFC/ml puis diluée au 1/100°. L'ensemencement s'est fait en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.

Test de sensibilité: Méthode par diffusion des disques sur gélose

Pour tester la sensibilité des bactéries, le principe utilisé était celui de l'antibiogramme [13]. Un volume de 15 µL d'huile de Neem supplémentée de 1% de Tween 80 ont été introduits dans un tube puis homogénéisé au vortex. Par la suite des disques stériles de 6 mm de diamètre découpés dans un papier Whatman n°1 ont été introduits. Une fois les disques imprégnés par l'huile de Neem, ils

ont été retirés et déposés délicatement à la surface d'une gélose de Mueller Hinton préalablement ensemencé par écouvillonnage avec l'inoculum bactérien. Parallèlement, les disques d'antibiotiques témoin positif (Amoxicilline + Acide Clavulanique 30 µg, métronidazole 4 µg) ont été déposés aussi sur la surface de la gélose. Les boîtes ont ensuite été mises sous incubation pendant 24h sous anaérobiose stricte. Au sortir de l'incubateur les disques s'entouraient de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture, ce qui nous a permis de mesurer les diamètres d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse. Ceci a été réalisé pour chaque souche bactérienne trois fois au cours des trois expériences.

La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permettait une estimation une catégorisation clinique (S, I, R) de la souche, basée sur la corrélation entre les résultats obtenus par la méthode de diffusion et la méthode de référence [13]. La sensibilité à l'huile est classée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit : Non sensible (-) pour le diamètre de moins de 8 mm ; Sensible (+) pour un diamètre compris entre 8-13,9 mm ; Très sensible (+ +) pour un diamètre compris entre 14-19 mm ; Extrêmement sensible (+++) pour le diamètre de plus de 19 mm. Ce test de sensibilité permet d'accéder à des résultats qualitatifs. L'expérience a été répétée trois fois.

Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration de substance capable de tuer plus de 99,9 % d'inoculum bactérien initial (soit moins de 0,11 % de survivants) après 24 heures d'incubation à une température de 37°C [14]. Ainsi, leur détermination est fondée sur la subculture à partir de la CMI sur un milieu gélosé.

Pour chacun des tubes dépourvus de culot bactérien (croissance visible non observée) et du contrôle positif de la gamme de concentration réalisée pour la détermination de la CMI, nous avons effectué dans des boîtes de Pétri des ensemencements en stries sur gélose Mueller Hinton. Les boîtes de Pétri ont été incubées 24 heures à 37 °C. La CMB de l'huile de Neem est déduite à partir de la plus petite concentration à laquelle aucune culture n'est observée sur gélose Mueller Hinton [13]. Ce procédé a été répété trois fois pour chaque bactérie.

Rapports CMB/CMI

Le rapport CMB/CMI a permis de définir le caractère bactériostatique ou bactéricide de notre huile de Neem. Une huile essentielle est dite bactériostatique, lorsque ce rapport est supérieur ou égal à 4 et bactéricide, lorsque ce rapport est inférieur à 4 [13].

RÉSULTATS

La pression mécanique de 1000 g de graines d'*Azadirachta indica* nous a permis d'obtenir 186g d'huile soit un rendement de 18,6%.

L'évaluation macroscopique de l'huile de Neem a montré la couleur marron, l'odeur caractéristique d'ail piquant répulsif, la consistance visqueuse, avec une densité de 37,30-0,85 à 20°C et un indice de réfraction

de 30,6621-1,6331 à 40°C. Son indice d'iode était de 447,0 -81,0, sa teneur en Azadirachtine par HPLC (A+B) était de 110-247 PPM et sa teneur en sève de 168-221 (Fig.4).



Figure 4: Huile obtenue pour étude.

Les Caractéristiques chimiques de l'huile essentielle d'*Azadirachta indica*

La composition centésimale en acides gras de l'huile d'*Azadirachta indica* a mis en évidence sa richesse en acides dont l'Acide oléique était prédominant avec une teneur moyenne de 42,5% suivi respectivement par l'Acide palmitique avec une valeur de 22-36%, l'acide Stéarique de 13-22% , Acide Linoléique 18% et enfin Acide Palmitoléique de 13%.

La composition en composés volatils de l'huile d'*Azadirachta indica* par Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a révélé la présence de 17 composés. Les résultats montrent que les composés les plus importants sont respectivement le Lineoleoyl chloride 10,24 %, Méthyl petroselinate 10,23 %, Phytol 9,6 %, Hentriacontane 8,8% ,7-hexyl Eicosane 8,1 % (Tab. I)

Tableau I: Composition en composé volatils de l'huile d'*Azadirachta indica*.

No.	Nom des Composés	T _R (min)	%
1	Levogluconone	30.831	2.115
2	Benzaldéhyde, 2-méthyl	28.540	2.251
3	3, 7, 11,15-Tetraméthyl-2-hexadécen-1-ol	34.202	3.236
4	Méthyl 14-méthylpentadécanoate	39.812	3.151
5	Méthyl petroselinate	40.234	10.023
6	Lineoleoyl chloride	50.222	10.243
7	Phytol	47.421	09.600
8	Méthylisoheptadécanoate	39.812	3.151
9	Butyl palmitate	39.443	2.008
10	Heptacosane	51.436	2.822
11	Eicosane 7-hexyl	45.122	8.111
12	Heptacosane, 7-hexyl	43.319	3.131
13	Nonacosane	44.227	2.146
14	Hentriacontane	46.555	8.890
15	(Z, E)-α-Farnesene	3.131	2.901
16	Hexahydrofarnesyl acétone	23.623	2.358
17	2-Méthyl-5-éthylfuran	20.008	3.664
T _R =Temps de rétention en minutes ; % =pourcentage			

Identifications des souches bactériennes [12]

Au bout de 7 jours, une identification morphologique orientée par l'aspect des colonies a été faite ainsi que la coloration de Gram de contrôle, puis un repiquage sélectif avec les bactéries isolées pour n'obtenir que des cultures pures. Le test de gram nous permettait de différencier les Gram positif des Gram négatif. Les bactéries repiquées ont servi pour des tests d'identification biochimiques et enzymatiques.

✓ *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

C'est un coccobacille à Gram négatif, capnophile, non mobile, adhérent fortement à la gélose. Tests biochimiques : catalyse positif, oxydase négatif, indole négatif.

✓ *Porphyromonas gingivalis*

Bacilles de petite taille, gram négatif, anaérobies stricte non sporulé et immobile colonie de 1 à 3mm, rondes, crémeuses, bords irréguliers, lisse, hydrophobes, hémolytiques et marron ; catalase négatif et oxydase négatif.

✓ *Fusobacterium nucleatum*

Long bacille, Gram négatif, anaérobie stricte. Catalase négatif, oxydase négatif, indole positif.

Des tests biochimiques ont été faits, la souche 1 possédait l'enzyme catalase positive, il n'y'a pas eu de virage de couleur vers le violet, donc tous les isolats sont dépourvus d'oxydase. La production d'indole a été mise en évidence pour certaines bactéries notamment les souches 2 et 3. La souche 2 était sensible à la vancomycine contrairement à la souche 3. Toutes ces caractéristiques nous ont permis d'identifier trois souches bactériennes à savoir *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* et *Fusobacterium nucleatum* (Tab. II)

Tableau II: étude bactériologique des différents isolats étudiés.

Souches	Paramètres	Souche 1	Souche 2	Souche 3
morphologie	Forme	Ronde /étoilé	Ronde	Ronde
	Mobilité	Immuable	Immuable	Immuable
	Couleur	Blanche	Noire	Violette
microscopie	Gram	-	-	-
	Forme	Coccobacille	Coccobacille	Lactobacille
	Morphologie	Courte chaînette	Chaînette	Isolée
biochimie	Catalase	+	-	-
	Oxydase	-	-	-
	Indole	-	+	+
	V		Sensible	Resistant
Bactéries	A		Resistant	Sensible
	Bactéries	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>

Evaluation in vitro de l'activité anti bactérienne de l'huile d'*Azadirachta indica*

Diamètres des zones d'inhibition de l'huile d'*Azadirachta indica*

Les trois souches bactériennes identifiées ont été soumises aux tests de sensibilité aux antibiotiques témoins et à l'huile de Neem. Il ressort que toutes les souches bactériennes testées étaient sensibles à notre

huile de Neem. Nous avons obtenu des diamètres de 14,9±0,26 mm *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* 12,3±0,81 mm et *Porphyromonas gingivalis* 11,3± 0,51mm.

Toutes ces souches bactériennes étaient également sensibles à l'amoxicilline acide clavulanique. Par contre mis à part *Fusobacterium nucleatum* qui était sensible au métronidazole avec un diamètre de 26,7mm les autres souches bactériennes ont présenté une résistance au métronidazole (Tab. III).

Tableau III: Diamètre d'inhibition de l'huile de Neem, Amoxicilline acide clavulanique et le métronidazole sur les bactéries isolées.

Bactéries	Amoxicilline acide clavulanique	Métronidazole	Huile de Neem
<i>Actinobacillus</i>	28,33 ± 2,52	8,70 ± 0,75	14,90 ± 0,26
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	32,67 ± 1,53	26,73 ± 2,61	12,63 ± 0,81
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	24,00 ± 2,65	17,1 ± 2,61	11,3± 0,51

Concentration minimale inhibitrice et bactéricide de l'huile de Neem

Les concentrations minimales inhibitrices et les concentrations minimales bactéricides ainsi que leur rapport CMB/CMI de l'huile de Neem sont représentés dans le tableau XI. La CMI pour les trois souches étaient de 125mg/ml et la CMB 500mg/ml. Le rapport CMI/CMB a donné une valeur de 4.

DISCUSSION

Le présent travail a permis d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile d'*Azadirachta indica* sur des bactéries responsables des pathologies parodontales. Le but de cette étude était de rechercher si l'huile essentielle de Neem pouvait constituer une alternative pour le traitement efficace de l'alvéolite. Des composés volatils tels que la Lineoleoyl chloride et bien d'autres, des acides gras saturés et insaturés ont été ressortis par la CPG de l'huile. Trois bactéries ont été identifiées notamment *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *porphyromonas gingivalis* et *fusobacterium nucleatum* avec des diamètres respectifs 14,9 mm ; 12,3 mm et 11,3 mm de sensibilité. Le rapport CMB sur CMI était égal à 4 ; ce qui montrait que l'huile de Neem avait des propriétés antibactériennes bactériostatiques.

Un rendement d'extraction de 18,6% d'huile d'*Azadirachta indica* a été obtenu par pression mécanique à froid sans utiliser des produits chimiques susceptibles d'altérer l'huile. L'extraction par pression mécanique à froid évite toute altération de l'huile. Ce résultat est similaire à celui de obtenu par Sagoua et al, en 2009 au Sénégal qui avait obtenu un rendement de 18,3% [15]. Le criblage chimique de l'huile d'*Azadirachta indica* avait révélé une teinte marron claire, une odeur d'ail piquant, la présence d'acides gras avec un taux de 42,5% d'acide oléique, 13% pour l'acide Palmitoléique. Ce résultat diffère de celui obtenu au Sénégal en 2009 par Sagoua et al qui avait une huile de

couleur vert clair [15]. La CPG a ressorti également de nombreux composés volatils avec une teneur élevée en Lineoleoyl chlorure de 10,24 %, Méthyl petroselinate 10,23 %, Phytol 9,6 %, Hentriacontane 8,8% ,7-hexyl Eicosane 8,1 % et bien d'autres composés qui étaient faiblement représentés avec des pourcentages inférieurs à 3 %. . La présence de composés volatils serait à l'origine de l'activité antibactérienne de cette huile de Neem. Toutefois, les composés volatils dans notre huile sont différents de ceux retrouvés par Fokunang Charles et al, en 2019 au Cameroun qui trouvaient une prédominance en méthyl14méthylpentadecanoate(38.12%) suivi du m-toluylaldéhyde (22.76%), et l'hentriacontane(13.98%) [16]. Ceci pourrait s'expliquer par la différence du lieu de récolte des graines de Neem. L'huile de Neem utilisée dans cette étude a été récoltée dans la localité du Faro dans la région du nord Cameroun alors que celle utilisée par Fokunang et al, en 2019 provenait du centre commerciale de Maroua [16].

La recherche des bactéries après cultures et repiquage successifs a permis d'identifier trois souches bactériennes. Ce résultat est différent de celui retrouvé par Lakhssassi et al, en 2005 à Toulouse [17] qui avait retrouvé plus d'une dizaine de souches bactériennes. Cette différence pourrait se justifier par l'utilisation de milieux de culture spécifiques à certaines Bactéries. Les bactéries identifiées sur la base des caractères cultureux et biochimiques correspondaient *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobactérium nucléatum* et *porphyromonas gingivalis*. Ce résultat est en accord avec celui retrouvé par Criton en 2007 à l'académie de Nancy[12].

Toutes ces souches bactériennes isolées étaient sensibles à l'huile de Neem à des degrés variables. Ainsi, la détermination du diamètre d'inhibition nous a donné un résultat de 12,3 mm pour *Fusobactérium nucléatum*. Ce diamètre est inférieur à celui retrouvé par Packia Lekshmi et al, en 2012 en Inde qui avaient obtenu un diamètre de 16mm [18]. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait qu'ils avaient utilisé la méthode d'extraction par Soxhlet en utilisant comme solvant le chloroforme et éthanol. Toutefois, le diamètre obtenu montre que *Fusobactérium nucléatum* est sensible à l'huile de Neem. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* a présenté un diamètre d'inhibition de 14,9 mm et *Porphyromonas gingivalis* quant à lui a présenté 11,3mm. D'après la classification de Moreira [19] ces deux souches bactériennes sont sensibles à l'huile de Neem du Faro.

CONCLUSION

Au final, l'huile de neem contient des composés volatils tels que le Lineoleoyl chlorure, Méthyl petroselinate, Phytol, Hentriacontane,7-hexyl Eicosane et des acides gras qui seraient à l'origine de ses propriétés inhibitrices de la croissance bactérienne des souches *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* et *Fusobacterium nucleatum* testées. L'huile de Neem du Faro a montré une activité antibactérienne bactériostatique sur les bactéries parodontales. Elle pourrait être donc une bonne alternative dans le

traitement des alvéolites post-extractionnelles afin de réduire les résistances bactériennes dues aux antibiotiques. Toutefois, il semble important d'évaluer les toxicités aiguë et subaiguë de l'huile essentielle de Neem qui permettront de sécuriser son utilisation et de formuler un Médicament Traditionnel Amélioré.

CONFLITS D'INTERET

Aucun

REMERCIEMENTS

Au Centre de Recherche Scientifique et Industriel (CSIR) de Bruneton à Pretoria.

Au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Yaoundé. Au Laboratoire de multidisciplinaire galénique de la FMSB.

Au Laboratoire de chimie organique de la Faculté de Sciences de l'Université de Yaoundé I.

SOURCE DE FINANCEMENT

Cette recherche n'a reçu aucune subvention d'un organisme international ou public.

REFERENCES

1. Seguin P., Breton P. Ostéites des os de la face. Encycl. Med Chir. 5 Elsevier, Paris), Stomatologie Odontologie I. 1996,22-62.
2. Piette E., Rechler H. Traité des pathologies buccales et Maxillo-faciales. De Boeck Université 1991,1345-1355.
3. Haute Autorité de Santé - Parodontopathies : diagnostic et traitements. France; 2002 Disponible sur: <https://www.has-sante.fr>.
4. Dufour T, Svoboda J-M. Pathogénie bactérienne des parodontolyses. EMC - Odontol. 1 2005;1(1):46-57.
5. Résistances antibiotiques. Comité de Lutte Contre les Infections Nosocomiales Sud -Est. France; 2010 Disponible sur: <http://nosobase.chu-lyon.fr>.
6. Alzohairy MA. Therapeutics Role of Azadirachta indica (Neem) and Their Active Constituents in Diseases Prevention and Treatment. Evid-Based Complement Altern Med ECAM. Saudi Arabia. 2016. [en ligne]. <https://www.ncbi>. Consulté en décembre 2018.
7. Bourrain J-L. Allergies aux huiles essentielles : aspects pratiques. Revue Française d'Allergologie. 2013;53: 30-2.
8. Vandal J, Abou-Zaid MM, Ferroni G, Leduc LG. Antimicrobial activity of natural products from the flora of Northern Ontario, Canada. Pharm Biol. 2015;53(6):800-6.
9. Faye M. Nouveau procédé de fractionnement de la graine de Neem (*Azadirachta Indica* A. Juss) sénégalais : production d'un bio-pesticide d'huile et de tourteau [phd]. Sénégal; 2010.
10. Poirot T. Bon usage des huiles essentielles, effets indésirables et toxicologie. Thèse de Doctorat. France; 2016.[en ligne].

- <http://docnum.univ-lorraine.fr>. Consulté en décembre 2018.
11. Houle MA, Grenier D. Maladies parodontales : connaissances actuelles. *Médecine Mal Infect.* 2003; 33 (7): 331-40.
 12. Criton M. Diagnostic microbiologique en parodontologies: méthodes et intérêts cliniques. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré Nancy. France; 2007.
 13. Bouguerra M. al. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare Mill.* en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. République démocratique du Congo Thèse; 2012.
 14. Jennifer M. Andrews. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* Oxford Academic. 2001; 48: 5-16.
 15. Sagoua W. Etude synergique du couplage du Système Lactoperoxydase avec d'autres molécules naturelles actives ayant des propriétés antifongiques pour l'amélioration de la conservation en frais des bananes [thesis]. [Montpellier]: Cirad; 2009.
 16. Fokunang C, Ngum WL, Gonssu H, Ngameni B, Tembe E. Phytochemical characterization, in vitro antibacterial activity, in vitro acute toxicity studies of the sees oil of *Azadirachta indica* (neem oil) in Wistar rats. Cameroun; 2019. [en ligne]. <https://Medcraveonline.com>. Consulté en décembre 2018.
 17. Lakhssassi N, Sixou M. Variabilité de l'efficacité de l'érythromycine et de la spiramycine sur les pathogènes parodontaux dans les parodontites agressives. Étude in vitro comparative. *Pathol Biol.* oct 2005;53(8-9):527-35.
 18. Packia Lekshmi N.C. J., Sowmia N, Viveka S, Raja Brindha J, Jeeva S. The inhibiting effect of *Azadirachta indica* against dental pathogens. India; 2012. [en ligne] <https://pdfs.semanticscholar.org>. Consulté en novembre 2018.
 19. Bouguerra M. Al. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare Mill.* en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. République démocratique du Congo Thèse; 2012. [en ligne] <http://archives.umc.edu>. Consulté en novembre 2018.
 20. Alvaro M, Alejandra H, Antonio D. In vitro Antibacterial Activity of *Maclura tinctoria* and *Azadirachta indica* against *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Br J Pharm Res.* Grèce; 2015;7(4):291-8.