

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité/ Option : Microbiologie Appliquée
Département : Ecologie et génie de l'environnement

Thème : Isolement, Identification et étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries des caries dentaires

Présenté par :

Benkacher Sabiha

Hamoud Norelhouda

Devant le jury composé de :

| | | | |
|----------------|-----------------|---------|----------------------|
| Président : | Mr. Adrar N. | (M.A.A) | Université de Guelma |
| Examineur: | Mme. Hamdikan M | (M.A.A) | Université de Guelma |
| Encadreur : | Mr .Houhamdi M | (Pr) | Université de Guelma |
| Co-encadreur : | Mme. Boudraa W | (Dr) | Université de Guelma |

Juin 2018

REMERCIEMENTS

Avant tout on remercie dieu tout puissant de nous avoir donné le privilège, la chance d'étudier et de nous avoir donné force, courage, et patience pour accomplir ce travail. Sans oublier nos parents qui ont veillé sur nous durant toute notre vie.

*En premier lieu Nous voudrions présenter nos plus vifs remerciements et nos sincères gratitudee au **Professeur Mr HOUHAMDI Moussa** qui fut pour nos un Directeur et encadreur de mémoire attentif. Professeur au département de biologie pour sa gentillesse et son orientation éclairée, et son aide dans l'élaboration de notre mémoire. Et nous avoir fait l'honneur d'accepter la charge d'être rapporteur de ce mémoire, nous le remercions pour ses précieux conseils, son enseignement qu'on a pu apprécier pendant notre parcours.*

On souhaite aussi remercier tous les membres de jury présent.

*Nous exprimons nos profonds remerciements à **Monsieur Adrar Nassim** Maître assistant au Département de biologie, pour l'honneur qu'elle nous a fait en présidant le jury. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à **Madame Hamdigan Malika**, Maître assistant au Département de biologie pour avoir accepté d'examiner ce travail et de l'attribuer des remarques et des corrections très intéressantes, et c'est un honneur pour nous qu'elle juge ce travail.*

*Nos reconnaissances, nos vives gratitudee et nos sincères remerciements vont aussi à **Madame Boudraa Wahiba**, Docteur en Biologie de nous avoir dirigé de la réalisation de ce travail.*

*Sans oublier **Mme Abbas Leila** pour sa précieuse aide pour la réalisation de ce travail.*

Nous remercie, tous les Chirurghiens-Dentistes d'avoir accepté de nos donner des dents extraites de leurs patients et d'être vraiment compréhensif, et de nos aider pour la réalisation de ce travail.

Nous remercie également très spécialement les techniciennes de laboratoire de l'université pour leur accueil et leur contribution dans ce travail.

A la fin,

Nous exprimons nos vifs remerciements à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, et encouragé pour la réalisation de ce mémoire, qui ont contribué à la réalisation de ce travail .en particulier les enseignants et tous nos collègues d'études particulièrement notre promotion et les étudiants du département de biologie. Nous les remercions du fond du cœur. Veuillez bien accepter ici l'expression de nos remerciements les plus sincères.

Merci à tous....

Dédicaces

*À mes très chers parents **SAD** et **UAMMA***

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices et prières. Puisse Dieu, le très Haut, vous accorder santé, bonheur et long vie.

*Au mémoire de ma tante **Arifa** « que la terre vous soit légère et que Dieu vous accueille à son paradis »*

*À mon cher fiancé **Nabil** le symbole du courage de la responsabilité, pour son soutien. En témoignage de ses conseils, patience que dieu tu garde et te donne long vie.*

*À mes très chers frères **Salim, Hacem, Riyadh** et en particulier **Samir**, je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection. Que Dieu vos garde.*

*À mes tendres gentilles et adorables sœurs **Samia** et son époux **Mohamed, Wafa** et son fils mon œil **Abd Allah**.*

*A tous mes amis et ma promotion et en particulier **Imane, Inas, Hassiba, Widad, Samia et Maamer** vous êtes pour moi des frères des sœurs et des amis sur qui je peux compter. Je vous aimez trop.*

*A tous ma famille et ma belle famille en particulier **Hacina, chafia, Badri, firas, Meriem, Jomana, Rahma**, ma belle mère **khayra**, Mon beau père **Miloud**, ma tante **Hayat** et mes oncle **Hocine, Mohamed**.*

*A tous mes professeurs. A ma Promotion de Microbiologie 2018, A ma binôme **Noor** et tous qui connaisse **Sabiha (MMA)***

SABIHA

Dédicaces

Ce modeste mémoire est dédié à ...

Ma maman :

Ma douce et tendre, source de ma vie, aimable, honorable : Tu représente pour moi le réseau de vivre de continuer, réseau d'être plus forte en franchissons les barrières de ma vie, pour moi t'est l'exemple de la beauté de monde par excellence, la source de tendresse, du courage, de la responsabilité et de l'amour. T'est un cas de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier chaque jour et chaque matin pour moi. Tes prières m'ont été un grand soutiens et secours dans ma vie. Tu sais maman aucune dédicace ne serait expérimentes et ne serait assez suffisantes pour toutes les sacrifices que tu avais de courage à les faire et tous le chemin que tu as partagé avec moi : bonheur, joie, tristesse, échouements...

Quoi que je dis je pourrais jamais tu remercie pour tous les sacrifices que tu as consentis depuis ma naissance. Que Dieux te garde, te comble de santé, et te donne longue vie.

Mon papa : *Aucune dédicace ne pourra exprimer le respect que j'ai pour toi, l'amour qu'on partage entre nous. Ton silence été toujours pour moi un regrée que je n'arrivé pas à comprendre, tes effort jour et nuit pour mon éducation mon bien être.*

Ce travail représente le fruit de tes sacrifices.

Papa Maman : *Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond respect et amour. Que DIEU vous garde pour moi, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mes très chers frères **Amine et Wassim** : Les mots n'arrive pas à exprimé le respect, le remerciement, l'attachement, et l'amour que je vous porte, Je vous souhaite un avenir radieux et plains de bonheur. **A tous la famille Hamoud. et aussi la famille Atmani.***

*A mon très cher partenaire de vie **A. Amine***

Docteur en médecine pour son soutien et son amour, source de ma vie, aimable, honorable et mon sourire de vie, Un ange gentil, mon adorable ; Tu es un miracle m'a eu, que Dieu le protège pour moi et sa belle famille.

*A ma chère amie et sœur **A. Rania**, Merci de m'avoir soutenu dans ma vie et de patience et tendresse et encourage moi, Tu es le meilleur ange Que Dieux te protéger et sa belle fille **Ritaj**. Chérie à mon cœur **G. Fella**, Tu représente pour moi la vie, pour moi t'est l'exemple de la mère donnée le bien et la source de tendresse et d'amour Merci pour votre présence dans ma vie Vous êtes un morceau de l'âme. Que Dieux te garde, te comble de santé, et te donne longue vie.*

A mes grands parents maternels et paternels que DIEU vous protège et vous garde pour nous. *Je vous souhaite une longue vie A toutes **mes tantes, mes oncles, mes cousins et mes cousines** pour leur soutien, leur amour et leur encouragement malgré leur distance.*

*A mes tés chers amis et amis **Bouthaina, JoJo, Nour, Soumia, loubna, Hanan, Mira, Widad.***

*A tous mes professeurs. Mes frères a moi sans exception A tout mes enseignants et ma Promotion de Microbiologie 2018, A ma binôme **Sabiha** et tous qui connaisse **Noor (Happy).***

Nor el houda.

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

Partie bibliographique

Chapitre I: Généralités sur les bactéries cariogènes

| | |
|--|----|
| 1. Les bactéries..... | 3 |
| 1.1. Equilibre flore/hôte..... | 3 |
| 1.2. Flore bucco-dentaire..... | 3 |
| 1.3. La flore buccale..... | 6 |
| 1.4. Acquisition de la flore buccale..... | 6 |
| 1.5. Composition de la flore buccale..... | 7 |
| 2. Les bactéries cariogènes..... | 7 |
| 2.1. Streptocoques..... | 8 |
| 2.2. Lactobacilles..... | 9 |
| 2.3. Actinomyces..... | 9 |
| 2.4. Autres bactéries..... | 9 |
| 2.5. Action des bactéries cariogènes..... | 11 |
| 2.6. Rôle de la flore cariogène..... | 11 |
| 2.7. Caractéristique des bactéries cariogènes..... | 11 |
| 2.8. L'identification..... | 11 |
| 3. La sensibilité aux antibiotiques..... | 12 |

Chapitre II: les maladies buccales d'origine bactérienne

| | |
|---|----|
| 1. La cavité buccale..... | 14 |
| 1.1. Le rôle de la cavité buccale..... | 14 |
| 1.2. Anatomie dentaire..... | 14 |
| 1.3. Le biofilm buccale..... | 15 |
| 1.3.1. Les étapes de formation du biofilm..... | 16 |
| 1.3.1.1. Formation de la pellicule exogène (PAE)..... | 16 |
| 1.3.1.2. Phase d'adhésion réversible..... | 17 |
| 1.3.1.3. Phase d'adhésion irréversible..... | 17 |
| 1.3.1.4. Phase de prolifération..... | 17 |
| 1.3.1.5. Phase de maturation..... | 17 |
| 1.3.1.6. Phase de détachement..... | 18 |
| 1.4. La plaque dentaire..... | 19 |
| 1.4.1. Classification des plaques dentaires..... | 19 |
| 1.4.1.1. Selon l'habitat..... | 19 |
| 1.4.1.2. Selon le pouvoir pathogène..... | 20 |
| 1.5. Composition bactérienne de la plaque dentaire..... | 20 |
| 1.6. L'homéostasie..... | 21 |
| 2. La carie dentaire..... | 21 |
| 2.1. Définition de la carie dentaire..... | 21 |
| 2.2. Les facteurs de risque..... | 21 |
| 2.3. Symptômes..... | 22 |
| 2.4. Les stades d'évolution des lésions carieuses selon classification de SI/STA..... | 23 |

| | |
|--|----|
| 2.5. Classification les lésions carieuses selon ICDAS II | 24 |
| 2.6. Développement de la carie dentaire | 25 |
| 2.7. Diagnostic | 25 |
| 2.8. La prévention de la carie..... | 25 |

Partie expérimentale

Chapitre III : matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| 1. Matériel..... | 26 |
| 2. Méthodes..... | 27 |
| 2.1. Cadre d'étude..... | 27 |
| 2.2. Echantillonnage de et technique de prélèvement..... | 27 |
| 2.3. Méthode d'analyses..... | 28 |
| 2.3.1. Enrichissement..... | 28 |
| 2.3.2. Isolement des bactéries..... | 29 |
| 2.3.3. Purification..... | 30 |
| 2.3.4. Identification..... | 32 |
| 2.3.4.1. Test préliminaires..... | 32 |
| 2.4. Analyse microbiologique des bactéries pathogènes..... | 33 |
| 2.5. Analyse biochimique..... | 37 |
| 2.5.1. Galeries classique..... | 37 |
| 2.5.2. Test complémentaires..... | 41 |
| 2.5.3. Galeries biochimique..... | 42 |
| 2.6. Antibiogramme..... | 44 |

Chapitre IV : Résultat et Discussion

| | |
|---|----|
| 1. Résultat de l'enrichissement | 46 |
| 2. Aspect macroscopique après l'isolement..... | 46 |
| 3. dénombrement sur milieu solide..... | 52 |
| 4. Examen microscopique..... | 54 |
| 5. Tests biochimique..... | 57 |
| 6. résultat de l'enrichissement et la purification (repiquage)..... | 60 |
| 7. Identification biochimique..... | 61 |
| 8. Antibiogramme..... | 67 |
| Discussion..... | 75 |
| Conclusion..... | 78 |
| Références bibliographiques..... | 79 |

Résumé

Abstract

ملخص

Annexes

Liste de tableaux

| Tableau | Titre | Page |
|----------------|---|-------------|
| 1 | Les bactéries les plus fréquemment rencontrées dans la cavité buccale | 4 |
| 2 | les bactéries de la flore présente dans les infections carieuses | 10 |
| 3 | Les stades d'évolution des lésions carieuses selon classification de SI/STA | 23 |
| 4 | Classification des lésions carieuses selon ICDAS II | 24 |
| 5 | Evolution de la lésion carieuse | 25 |
| 6 | Matériel utilisé dans notre travail | 26 |
| 7 | Nature et période de prélèvement | 28 |
| 8 | Les principaux staphylocoques isolés en microbiologie | 34 |
| 9 | Les principaux streptocoques du groupe D isolés en microbiologie | 34 |
| 10 | Caractères d'identification biochimique de <i>Shigella</i> | 37 |
| 11 | Indentification biochimique à l'aide de la galerie classique | 38 |
| 12 | Galeries API bioMérieux SA et bactéries identifiables | 44 |
| 13 | Liste des antibiotiques utilisés | 45 |
| 14 | Résultats de l'isolement des différents prélèvements effectués | 47 |
| 15 | Aspects macroscopiques des colonies isolés | 51 |
| 16 | Le dénombrement des colonies bactériennes | 53 |
| 17 | Les résultats des observations microscopiques | 55 |
| 18 | Résultats des tests coagulase | 58 |
| 19 | Les résultats de repiquage | 61 |
| 20 | Les Résultat des Galerie classique | 65 |

| | | |
|----|--|----|
| 21 | Les résultats macroscopiques de la galerie classique | 66 |
| 22 | Les résultats d'antibiogramme | 67 |
| 23 | Aspect macroscopique d'antibiogramme | 68 |
| 24 | Résultats obtenus pendant notre étude pratique | 70 |

Liste de figures

| Figure | Titre | Page |
|---------------|---|-------------|
| 1 | L'organe dentaire : Coupe schématique d'une molaire inférieure | 15 |
| 2 | Représentation schématique de la formation d'un biofilm | 16 |
| 3 | Représentation de la coagrégation bactérienne dans la plaque dentaire humaine | 18 |
| 4 | Protocole d'isolement et d'identification des bactéries cariogène. | 31 |
| 5 | Test de coagulase | 42 |
| 6 | Galerie API 20 E | 43 |
| 7 | La disposition des disques d'antibiotiques | 44 |
| 8 | Résultats de l'enrichissement | 46 |
| 9 | Dénombrement sur Gélose Hektoen | 54 |
| 10 | Cocci en chaînette | 56 |
| 11 | Cocci Gram (+) (en grappe de raisin). | 56 |
| 12 | Bacille Gram (-) | 57 |
| 13 | Cocobacille Gram (-) | 57 |
| 14 | Aspect des levures | 57 |
| 15 | Oxydase (+) | 57 |
| 16 | Oxydase (-) | 57 |
| 17 | Catalase (+) | 58 |
| 18 | Catalase (-) | 58 |
| 19 | Test coagulasse positif | 59 |
| 20 | Test coagulasse négative | 59 |
| 21 | Les tests de coagulase | 59 |

| | | |
|----|---|----|
| 22 | Galerie API Staph avant et après incubation | 62 |
| 23 | Profil numérique de <i>Staphylococcus aureus</i> | 62 |
| 24 | Galerie API 20 E avant et après incubation | 62 |
| 25 | Profil numérique d'Enterobacter <i>aerogenes</i> . | 63 |
| 26 | Galerie API Strep avant et après incubation | 63 |
| 27 | Profil numérique d'Aerococcus <i>viridans</i> | 63 |
| 28 | Galerie API 20 NE avant et après incubation | 64 |
| 29 | Profil numérique de <i>Pasteurella pneumotropica</i> | 64 |
| 30 | Recherche de <i>Pseudomonas</i> dans leur milieu King A et King B | 67 |
| 31 | Répartition des souches selon le Sexe | 72 |
| 32 | Pourcentage des Souches identifiées | 73 |
| 33 | Répartition des Souches selon l'âge | 73 |
| 34 | Pourcentage des Familles identifiées | 74 |

Liste des abréviations

AMC : Amoxicilline Acide Clavulanique.

ARN: Acide Rébo-Nucléique.

AT: Azithromycine.

C: Chloramphenicol.

CN: Céfalexine.

E: Erythromycine.

GN: Gélose Nutritive.

MH: Gélose Mueller-Hinton.

NO: Nitrofurantoïne.

OF: Ofloxacin

ONPG: Ortho Nitro Phénol Galactoperanoside.

P: Penicillin (G).

PAE : Pellicule Acquise Exogène.

R: Rifamycine.

UFC : Unité Formant Colonie.

VA : Vancomycine.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

EPS : Substance Polymère Extracellulaire.

DDE : Tests de sensibilité aux antibiotiques.

Introduction

La cavité buccale est un écosystème complexe et varié. Elle est aussi l'un des sites les plus septiques de l'organisme et comme toute surface corporelle, elle est colonisée par des microbes qui constituent sa flore normale. Le rôle de ces microorganismes est normalement de maintenir un équilibre de fonctionnement de l'organisme. La relation hôte-microbes propre à la cavité buccale est toutefois particulière, principalement pour deux raisons : d'abord, le grand nombre de microbes différents aptes à s'y établir ; on peut dénombrer jusqu'à 500 espèces bactériennes différentes, et ensuite à la complexité des facteurs qui influencent les conditions du milieu buccal (Galmiche Fanny, 2011).

Beaucoup d'infections orales, semblent émaner d'une croissance de bactéries orales qui colonisent les surfaces dentaires et forment les bio-films buccaux (plaque dentaire) et quand une lésion apicale progresse et que l'infection se propage dans l'os alvéolaire, un abcès sera formé. Un traitement endodontique est alors proposé par le dentiste (Virtanen *et al.*, 2014). Certaines espèces bactériennes ont été alors impliquées en tant qu'agents pathogènes dans les affections humaines telles que les caries dentaires et les parodontites.

Les affections bucco-dentaires ont une incidence et une prévalence élevées et elles font parties des maladies les plus répandues dans le monde car elles touchent toutes les tranches d'âge. La carie dentaire est la maladie buccale la plus répandue et ce dès l'enfance.

La maladie carieuse est actuellement classée selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme étant le quatrième fléau mondial immédiatement après les cancers, les maladies cardio-vasculaires et le Syndrome d'Immunodéficience Acquise (SIDA) (Djossou *et al.*, 2015). Il s'agit d'une maladie microbienne, multifactorielle et pandémique des tissus durs de la dent (Probhakar *et al.*, 2008; Gunepin M, 2010). Elle concerne plus de 80% de la population mondiale, 60 à 90% des enfants d'âge scolaire et près de 100% des adultes (OMS, 2014).

La carie dentaire est une maladie infectieuse microbienne, transmissible post-éruptives des tissus durs de la dent (émail, dentine, ciment) (Galmiche Fanny, 2011). C'est une infection complexe, d'origine multifactorielle dans laquelle le régime alimentaire, l'hôte et la flore microbienne interagissent sur une période de temps de manière dynamique de façon à encourager la déminéralisation de l'émail des dents avec la formation des caries qui en résultent, allant d'une simple perte de minéraux non détectable à l'œil nu, à une destruction complète de la dent. La carie dentaire, le produit de progrès de l'homme vers la civilisation, a un potentiel de morbidité très élevée (Ingle *et al.*, 2014).

Les infections dentaires sont très fréquentes, conduisant souvent à des extractions des dents. La carie dentaire est généralement la principale cause d'extraction chez les personnes âgées jusqu'à 50 ans. Elle représente 42% des extractions (Virtanen *et al.*, 2014).

On définit des bactéries comme parodontopathogènes quand leur élimination des sites affectés résulte d'une amélioration clinique et par conséquent à la fin de la pathologie (Barbagallo, 2012). La microflore buccale est composée de plusieurs microorganismes parmi lesquels les staphylocoques, les streptocoques, les *Veillonella*, les *Neisseria*, les Actinomyces, les Lactobacilles, les *Enterococcus* et quelques levures.

Le groupe des « *Streptocoques mutans* » inclus les principales bactéries impliquées dans la formation de la carie dentaire. Il est considéré comme le responsable de l'initiation des lésions carieuses. (Guillaume *et al.*, 2011). Les bactéries colonisant la cavité buccale peuvent provoquer des maladies lorsqu'ils pénètrent dans la circulation sanguine en cas d'extraction des dents ou suite à une opération chirurgicale, surtout lorsqu'ils trouvent dans le corps un état immunitaire dépressif et dans les infections ou les lésions tissulaires préexistantes.

Le propos de ce travail est donc d'évaluer la prévalence des bactéries dans la carie dentaire et d'étudier leurs sensibilités vis-à-vis aux antibiotiques. Cette situation nous a incités à choisir notre thème de recherche dont les objectifs sont l'isolement et l'identification des bactéries à partir des cavités buccales en relation avec l'âge et le sexe des patients. Nous rapportons dans cette étude deux grandes parties :

La première est consacrée aux données bibliographiques comprenant des généralités sur la cavité buccale et sa population microbienne ainsi que les maladies provoquées par ces bactéries. Nous parlerons également de la composition et de la structure histologique des tissus dentaires afin de mieux comprendre les processus pathologiques. Nous décrivons par la suite les maladies carieuses, leurs étiopathogénies et l'évaluation des facteurs de risques.

La deuxième partie relate notre travail expérimental. Elle consiste à décrire les protocoles expérimentaux de l'étude avec les différentes techniques d'isolement et d'identification biochimiques des bactéries buccales et les études de la sensibilité vis-à-vis aux antibiotiques argumentés par une étude de la prévalence de la maladie et la détermination des facteurs de risques probables et nous présentons les résultats obtenus, leurs interprétations et leur discussion.

Une conclusion globale ainsi que des perspectives clôturent ce mémoire.

Partie bibliographique

Chapitre I

Généralités sur les bactéries cariogènes

1. Les Bactéries

1.1. Equilibre flore /hôte

La cavité buccale revêt de nombreux habitats où poussent les micro-organismes. Ils y forment des communautés. Leur présence dans un habitat spécifique détermine l'écosystème. Ainsi, lorsque certaines espèces occupent une « position » spécifique au sein de l'écosystème, on parle de « niche écologique ». La microflore buccale est dite commensale car elle vit en harmonie avec l'hôte, dont elle tire profit, sans pour autant y être défavorable. La flore et l'hôte sont en équilibre.

Toutefois, toute perturbation ou changement de la microflore entraîne une rupture de cet équilibre. Le déséquilibre peut être créé par un changement biologique dans la bouche, comme la prise d'antibiotiques, une prise fréquente d'aliments sucrés, ou encore l'altération des défenses de l'hôte, due à une thérapie immunosuppressive par exemple. Cela pourra se traduire par une modification qualitative ou quantitative de la flore, avec le développement de micro-organismes pathogènes, ou avec la transformation de la flore résidente en pathogènes opportunistes, et ainsi la survenue de maladies, caries ou maladies parodontales par exemple (Devals, 2003 ; Philip *et al.*, 2009).

1.2. Flore bucco-dentaire

La flore bucco-dentaire renferme plus de 50 milliards de bactéries, réparties sur plus de 500 espèces différentes, soit plus de 20 genres distincts (Gendron *et al.*, 2000 ; Afssaps, 2001). Ces bactéries représentent environ 20g dans la bouche de l'homme (Kerner, 2005).

Les bactéries les plus fréquemment rencontrées dans la cavité buccale sont représenté dans le (**tableau 1**) suivant d'après Mouton et Robert (1994).

Tableau 1 : Les bactéries les plus fréquemment rencontrées dans la cavité buccale

| Type respiratoire | Aspect microscopique | Genre | Espèce |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|--|
| Bactéries anaérobies strictes | Bâtonnets à Gram-négatif | <i>Porphyromonas</i> | <i>P. gingivalis</i> , <i>P. endodontalis</i> , <i>P. catoniae</i> |
| | | <i>Prevotella</i> | <i>P. oralis</i> , <i>P. oris</i> , <i>P. buccae</i> , <i>P. corporis</i> , <i>P. denticola</i> , <i>P. loescheii</i> , <i>P. intermedia</i> , <i>P. nigrescens</i> , <i>P. melaninogenica</i> |
| | | <i>Fusobacterium</i> | <i>F. nucleatum</i> spp. <i>nucleatum</i> , spp. <i>vincentii</i> , spp. <i>Polumorphum</i> |
| | | <i>Mitsuokella</i> | <i>M. dentalis</i> |
| | | <i>Selenomonas</i> | <i>S. sputigena</i> |
| | | <i>Campylobacter</i> | <i>C. sputorum</i> , <i>C. rectus</i> , <i>C. curvus</i> |
| | | <i>Treponema</i> | <i>T. denticola</i> , <i>T. vincentii</i> , <i>T. socranskii</i> |
| | | <i>Bacteroides</i> | <i>B. forsythus</i> |
| | Bâtonnets à Gram-positif | <i>Eubacterium</i> | <i>E. alactolyticum</i> , <i>E. lentum</i> , <i>E. yurii</i> |
| | | <i>Propionibacterium</i> | <i>P. acnes</i> , <i>P. propionicus</i> , <i>P. jensenii</i> , <i>P. granulosum</i> , <i>P. avidum</i> |

Chapitre I: Généralités sur les bactéries cariogènes

| | | | |
|---|--------------------------|---------------------------|--|
| | | <i>Lactobacillus</i> | <i>L. catenaforme,</i> <i>L. crispatus,</i> <i>L. oris,</i> <i>L. uli,</i> <i>L. grasseri</i> |
| | | <i>Actinomyces</i> | <i>A. israelii,</i> <i>A. odontolyticus,</i> <i>A. meyeri</i> |
| | | <i>Arachnia</i> | <i>A. propionica</i> |
| | Coques à Gram-négatif | <i>Veillonella</i> | <i>V. parvula,</i> <i>V. alcaescens</i> |
| | Coques à Gram-positif | <i>Peptostreptococcus</i> | <i>P. asaccharolyticus,</i> <i>P. magnus,</i> <i>P. micros,</i> <i>P. anaerobius,</i> <i>P. prevotii</i> |
| Bactéries anaérobies facultatives | Bâtonnets à Gram-négatif | <i>Eikenella</i> | <i>E. corrodens</i> |
| | | <i>Capnocytophaga</i> | <i>C. ochracea,</i> <i>C. sputigena,</i> <i>C. gingivalis</i> |
| | | <i>Actinobacillus</i> | <i>A. actinomycetemcomitans</i> |
| | | <i>Haemophilus</i> | <i>H. aphrophilus,</i> <i>H. influenzae,</i> <i>H. parainfluenzae,</i> <i>H. paraphrophilus,</i> <i>H. segnis</i> |
| | Bâtonnets à Gram-positif | <i>Corynebacterium</i> | <i>C. xerosis,</i> <i>C. matruchotii</i> |
| | | <i>Actinomyces</i> | <i>A. naeslundii,</i> <i>A. viscosus</i> |
| | | <i>Rothia</i> | <i>R. dentocariosa</i> |
| | | <i>Lactobacillus</i> | <i>L. acidophilus,</i> <i>L. brevis,</i> <i>L. buchneri,</i> <i>L. casei,</i> <i>L. salivarius,</i> <i>L. fermentum</i> |

| | | | |
|--|-----------------------|-----------------------|---|
| | Coques à Gram-négatif | <i>Neisseria</i> | <i>N. flavescens,</i> <i>N. mucosa,</i> <i>N. sicca,</i> <i>N. subflava</i> |
| | | <i>Branhamella</i> | <i>B. catarrhalis</i> |
| | Coques à Gram-positif | <i>Streptococcus</i> | <i>S.mutans,</i> <i>S.sanguis,</i> <i>S. salivarius,</i> <i>S. sobrinus,</i> <i>S. rattus,</i> <i>S. downei,</i> <i>S. mitis,</i> <i>S. milleri,</i> <i>S. oralis,</i> <i>S. intermedius</i> |
| | | <i>Staphylococcus</i> | <i>S. aureus,</i> <i>S. epidermidis</i> |
| | | <i>Enterococcus</i> | <i>E.faecalis,</i> <i>E.faecium</i> |

1.3. La Flore buccale

Comme toute surface corporelle, la cavité orale est colonisée par des micro-organismes qui constituent sa flore résidente commensale. En effet, le contact avec l'air extérieur, les aliments, donne accès à une grande variété de micro-organismes tels que bactéries, champignons, virus, protozoaires. Différents types de surfaces, dures ou molles (dents, gencives, langue, gorge, muqueuse buccale) offrent autant d'habitats différents, hébergeant chacun des communautés bactériennes caractéristiques (Philip *et al.*, 2009 ; Scannapieco et Frank, 2013).

Ainsi la flore buccale varie d'un site à l'autre, et dans le temps.

1.4. Acquisition de la flore buccale

In utero, le fœtus est normalement stérile, et sa flore buccale inexistante. La naissance marque le passage de la vie intra utérine stérile à la vie extra utérine, et ainsi à l'exposition continue aux micro-organismes par contact avec l'environnement, avec les autres individus, etc. (Chardin *et al.*, 2006). Pendant les premiers mois de la vie, alors que le nouveau-né n'a pas de dent, les seules surfaces pouvant être colonisées sont les muqueuses. A cela, s'ajoutent la desquamation des cellules épithéliales, le flux salivaire, le pH buccal et les propriétés antibactériennes de la salive, qui sont autant de facteurs limitant la colonisation bactérienne. (Chardin *et al.*, 2006 ; Philip *et al.*, 2009). La première contamination orale de l'enfant s'effectue

lors de l'accouchement par la flore vaginale maternelle (lactobacilles), et continuera ensuite avec l'environnement (salive du père, de la mère, aliments, ...). Ces premiers colonisateurs sont souvent transitoires.

Ensuite, quand les dents lactéales font leur éruption, et que l'enfant a ses propres défenses immunitaires, apparaissent de nouvelles surfaces à coloniser, de nouveaux nutriments dus à un changement d'alimentation, et de nouvelles défenses ; et avec eux, une plus grande diversité de la flore. On y retrouvera les Streptocoques ; *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius* et *Streptococcus oralis*. L'éruption des dents définitives, elle, amène des bactéries anaérobies. La composition de la flore n'est pas figée, et pourra être modifiée au cours de la vie, par des facteurs hormonaux (notamment à l'adolescence ou pendant la grossesse), le régime alimentaire, le vieillissement, les pathologies, l'hygiène bucco-dentaire, etc. (Chardin *et al.*, 2006 ; Philip *et al.*, 2009).

1.5. Composition de la flore buccale

La croissance des micro-organismes dans le milieu buccal dépend de plusieurs paramètres, et notamment l'humidité, la température, le pH, le potentiel redox, la disponibilité en nutriments, les surfaces à coloniser, le flux salivaire. Ces paramètres dépendront eux-mêmes de l'hôte, de son hygiène bucco-dentaire et de son alimentation. Pourtant, une fois équilibrée, la microflore résidente reste relativement stable au cours du temps. C'est une flore abondante, complexe et très hétérogène. Elle est constituée de :

- Coques Gram positif comme les Streptocoques, qui représentent plus de 20% de la flore buccale (parmi eux, *Streptococcus mutans* joue un rôle dans la carie, *Streptococcus mitis* est impliqué dans la plaque dentaire) ;
 - Bacilles et filaments Gram positif comme *Actinomyces*, *Lactobacillus* ou *Eubactérium* ;
 - Coques Gram négatif comme *Neisseria* et *Veillonella* ;
 - Bacilles Gram négatif comme *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Porphyromonas*, *Fusobactérium*,
- Ces bactéries peuvent être aérobies ou anaérobies, facultatives ou obligatoires. Spirochètes, Mycoplasmes, Champignons qui ne forment qu'une petite partie de la microflore et Quelques virus. (Chardin *et al.*, 2006 ; Philip *et al.*, 2009).

2. Les bactéries cariogènes

La lésion carieuse traduit la déminéralisation et la dégradation de la matrice organique des tissus durs de la dent. La présence de bactéries cariogènes est nécessaire au développement des lésions. Des bactéries protéolytiques et peptidolytiques sont nécessaires pour dégrader la trame organique de la dentine et du cément [1].

Après un bon brossage, les surfaces dentaires sont propres et donc dépourvues de toute présence bactérienne. Trois à quatre heures plus tard, une couche de protéines, essentiellement d'origine salivaire (pellicule acquise) va se déposer sur les dents. Les bactéries vont coloniser la pellicule acquise par couches successives et former le biofilm. La salive et certains glucides alimentaires comme le saccharose jouent un rôle important dans la formation du biofilm (Rudney, 2000). Le flux salivaire véhicule les bactéries vers les dents, mais en même temps assure partiellement leur élimination ; le métabolisme du saccharose par les bactéries aboutit, entre autre, à la formation de polysaccharides intracellulaires (glycogène) assurant l'énergie nécessaire à la survie et au développement des bactéries et, d'autre part, à la formation de polysaccharides extracellulaires (glycanes et fructanes) qui constituent l'essentiel de la matrice interbactérienne. Matrice et bactéries constituent le biofilm. Les premières couches bactériennes du biofilm sont des bactéries aérobies. Au fur et à mesure de leur multiplication, les conditions d'anaérobiose devenant favorables, les bactéries anaérobies vont progressivement se développer au détriment des aérobies. Schématiquement le biofilm supra-gingival est à forte prédominance d'aérobies alors que le biofilm sous-gingival est à forte prédominance d'anaérobies. Le pouvoir cariogène d'une bactérie est lié à sa capacité de métaboliser un glucide fermentescible pour aboutir à la production d'un acide à fort pouvoir de dissolution des phosphates de calcium de l'émail. C'est le processus de déminéralisation. Le *Streptococcus mutans* est la bactérie la plus impliquée dans le processus carieux initial de l'émail dentaire, aussi bien au niveau des surfaces lisses qu'au niveau des sillons et des fosses. Le potentiel cariogène de cette bactérie est considéré comme étant le plus important de toutes les bactéries de la plaque bactérienne (Kohler *et al.*, 1981 ; Salonen *et al.*, 1990 ; Bowden, 1997 ; Van Ruyven *et al.*, 2000 ; Kleinberg, 2002). D'autres streptocoques possèdent un pouvoir cariogène mais moindre que celui de streptocoque mutans. Parmi ces bactéries on retrouve : *S. sobrinus*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. salivarius*. Les lactobacilles et certaines variétés d'Actinomyces sont particulièrement impliqués dans les caries des racines dentaires (Van Houte *et al.*, 1990 ; Zambon *et al.*, 1995 ; Reiker *et al.*, 2000).

2. 1. Streptocoques

Les principaux groupes de bactéries impliqués dans la physiopathologie de la carie dentaire sont les streptocoques : *Streptococcus mutans* (SM) (sérotypes c, e, f) et *Streptococcus sobrinus* (sérotypes d et g) sont les principales bactéries. Cependant *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius* et *Streptococcus anginosus* interviennent également dans le développement des lésions carieuses. Ces bactéries sont de type cocci à gram positif. Les propriétés acidogéniques et aciduriques des Sm en font les bactéries les plus cariogènes de la plaque dentaire (Marsh, 2004). A partir des sucres provenant de l'alimentation,

les Sm synthétisent des polysaccharides extracellulaires, glucanes et fructanes, qui leur confèrent la capacité d'adhérer aux surfaces dentaires (Jenkinson et Lamont, 1997).

De plus, en métabolisant les hydrates de carbone alimentaires, les SM produisent de l'acide, surtout de l'acide lactique (Lasfargues et Colon, 2009). La baisse de pH qui s'ensuit entraîne une perte de minéraux à la surface de l'émail dentaire. Par ailleurs, SM peut survivre et même se développer dans un milieu extrêmement acide à un pH auquel la majeure partie des bactéries ne sont plus actives. Faiblement présent au début dans la plaque dentaire (moins de 1%), SM devient majoritaire dans la plaque cariogène active (Fitzgerald et Keyes, 1960 ; Lasfargues et Colon, 2009).

Cette bactérie est particulièrement virulente du fait de son utilisation optimale du saccharose. En effet, SM est doté d'un facteur de virulence supplémentaire lorsque les glucides exogènes sont abondants, celui-ci peut polymériser le glucose à l'intérieur de la cellule et le stocker. Ces polysaccharides intracellulaires sont dépolymérisés quand les hydrates de carbone exogènes ne sont plus disponibles. Cette particularité entraîne une production d'acide continue (Rosan et Lamont, 2000).

2.2. Lactobacilles

Les lactobacilles sont des bactéries à gram positif, anaérobies facultatives qui convertissent le lactose et les autres sucres simples en acide lactique. Les espèces les plus fréquemment isolées dans la cavité buccale sont *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus oris*, *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus salivarius* (Lasfargues et Colon, 2009).

Les lactobacilles sont des germes commensaux du tractus digestif et possèdent un pouvoir pathogène pour les tissus durs de la dent (Mouton et Robert, 1994) comme les lactobacilles possèdent une faible adhérence aux surfaces lisses, leur nombre et leur proportion augmentent proportionnellement à la rétention de sucre dans la cavité buccale et la cavitation carieuse. Ces bactéries acidophiles sont capables de produire une quantité importante d'acide lactique.

2.3. Actinomyces

Ce genre est surtout impliqué dans les caries radiculaires et les caries secondaires que nous ne développerons pas.

2.4. Autres bactéries

Il existe de nombreuses espèces bactériennes qui jouent un rôle dans la balance acido-basique du biofilm, en transformant l'acide lactique en acides plus faibles par exemple. Par leurs

Chapitre I: Généralités sur les bactéries cariogènes

actions, elles permettent une stabilité du pH et de la flore buccale lors des périodes de jeûne mais elles ne peuvent pas rivaliser avec l'acidogénicité induite par la prise de sucre (Lasfargues et Colon, 2009). Des études menées chez l'homme suggèrent que des proportions élevées de SM adhérents à l'émail n'initient pas systématiquement des lésions carieuses et qu'inversement, le processus carieux peut être observé en l'absence de *Streptococcus mutans* (Carlsson *et al.*, 1985). Ainsi, dès 1987, la spécificité de cette bactérie à l'égard du processus carieux a été totalement remise en question, l'hypothèse d'un biofilm inducteur de la carie étant à considérer (Nyvad et Fejerskov, 1987). Cependant, *Streptococcus mutans* est encore considéré comme le principal germe impliqué dans le développement des caries coronaires (Garcia-Godoy et Hicks, 2011). *Streptococcus mutans* et *Streptococcus sanguinis* sont retrouvés dans les premiers stades de la lésion carieuse. *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei* se développent après la formation d'une cavité, tandis que les proportions d'Actinomyces et de lactobacilles s'élèvent lorsque la dentine est atteinte (Aas *et al.*, 2008 ; Siqueira et Rocas, 2008) (**Tableau 2**).

Tableau 2 : les bactéries de la flore présente dans les infections carieuses (Aas *et al.*, 2008 ; Becker *et al.*, 2002).

| Carie | | |
|----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|
| Email | Dentine coronaire | Racine |
| <i>Actinomyces naeslundii</i> | <i>Actinomuces spp.</i> | <i>Actinomuces spp.</i> |
| <i>Actinomyces viscosus</i> | <i>Bifidobacterium spp.</i> | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| <i>Capnocytophaga sputigena</i> | <i>Fusobacterium animalis</i> | <i>Streptococcus mutans</i> |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> | <i>Lactobacillus spp.</i> | <i>Enterococcus faecalis</i> |
| <i>sub sp. polymorphum</i> | <i>Propionibacterium spp.</i> | <i>Selenomonas spp.</i> |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | <i>Streptococcus mutans</i> | <i>Atopobium spp.</i> |
| <i>Lactobacillus casei</i> | <i>Streptococcus sobrinus</i> | <i>Olsenella spp.</i> |
| <i>Streptococcus anginosus</i> | <i>Streptococcus salivarius</i> | <i>Prevotella multisaccharivorax</i> |
| <i>Streptococcus mitis</i> | <i>Streptococcus sanguinis</i> | <i>Pseudoramibacter</i> |
| <i>Streptococcus mutans</i> | <i>Veillonella spp.</i> | <i>alactolyticus</i> |
| <i>Streptococcus sobrinus</i> | | <i>Propionibacterium spp.</i> |

2.5. Action des Bactéries cariogènes

L'action de bactéries cariogènes est contrebalancée par la salive, grâce à sa teneur en molécules telles que: le bicarbonate de tamponner le pH acide; ions calcium, phosphate et du fluor, qui remplacent la structure cristalline de l'émail modifiés par des acides; lysozyme et lactoferrine (enzymes ayant des propriétés antibactériennes) et des immunoglobulines (anticorps); l'eau, l'action de lavage qui réduit à la fois la densité bactérienne que les résidus alimentaires, de la soustraction de la nourriture pour les mêmes bactéries responsables de la carie dentaire [2].

2.6. Rôle de la flore cariogène

La cavité buccale du nouveau-né est stérile et c'est au contact de son environnement et de la flore parentale que s'installe la flore buccale et notamment les Streptocoques oraux et bactéries Gram négatif. L'acquisition de la flore se poursuit avec l'éruption dentaire qui fait apparaître de nouvelles surfaces à coloniser. Les bactéries modifient alors le milieu et permettent le développement de nouvelles espèces, qui constitueront avec les premières la flore buccale de l'individu. Elle pourra varier en fonction des conditions du milieu (Surfaces d'adhésion disponibles, flux salivaire, qualité et quantité des nutriments, conditions physico-chimiques : température, oxygène, pH...) (De la dure-Molla *et al.*, 2012).

2.7. Caractéristiques des bactéries cariogènes

- Germes anaérobies stricts ou facultatifs, elles supportent les conditions anaérobies;
- Acidogènes, elles sont capables de produire des acides organiques par fermentation lactique des glucides exogènes, en l'absence d'oxygène;
- Aciduriques ou acidotolérantes, elles résistent au milieu acide (dû à la libération d'acides organiques), elles synthétisent des polymères glucidiques extracellulaires (adhésion aux surfaces dentaires) et intracellulaires (réserves en cas de diminution des apports exogènes) (Kaqueler et Le May, 1998 ; Chardin *et al.*, 2006 ; Fioretti et Haïkel, 2010).

2.8. L'identification

Les bactéries forment des colonies (colony forming unit (CFU)) peuvent se différencier par leur aspect et par leur réaction spécifique à des substrats (tests enzymatiques ou biochimiques). Elles se caractérisent tout d'abord par (Bouchard *et al.*, 2015) :

- La morphologie : forme, surface, consistance, couleur.
- La transmission de la lumière, cette différenciation peut se faire à l'œil nue, à la loupe binoculaire, sous lumière ultraviolette ou sous microscope à immersion pour voir la mobilité de certaines espèces.
- Par la caractérisation avec des colorations (par exemple coloration de Gram).

- Par la fermentation des sucres, la production d'indole et d'une gélatinase.
- Par leurs réactions aux tests enzymatiques.
- Par leurs caractères antigéniques : cela permet par la recherche d'antigènes bactériens spécifiques grâce à l'utilisation d'anticorps spécifiques, de mettre en évidence certains pathogènes par des méthodes d'immunofluorescence. Cette orientation présomptive permet la détermination du genre bactérien de la grande majorité des anaérobies (ce qui est souvent suffisant). Chaque pathogène aura des caractéristiques qui permettront de les distinguer les uns des autres. Il est clair qu'à l'heure de la biologie moléculaire, l'identification sous binoculaire de la morphologie bactérienne semble un peu médiévale (Bouchard *et al.*, 2015).

Le test de sensibilité des isolats aux antibiotiques est utilisé comme test de confirmation des genres isolés en se basant sur la sensibilité naturelle des souches aux différents antibiotiques.

3. La sensibilité aux antibiotiques

C'est une technique classiquement utilisée en bactériologie médicale afin de déterminer la sensibilité bactérienne à différentes molécules antibiotiques (Sixou *et al.*, 1993 ; Lakhssassi *et al.*, 2005). Cette méthode permet également de contrôler immédiatement la présence d'un mutant ou d'une résistance inductible, d'apprécier l'intérêt d'une association de deux antibiotiques, de même, le test de sensibilité aux antibiotiques constitue un critère ultime d'identification des bactéries anaérobies.

Les résultats de cet examen appliqués aux bactéries anaérobies et coprophiles de la cavité buccale apportent des informations importantes au clinicien afin qu'il puisse choisir l'antibiotique ou l'association de molécules antibiotiques la plus appropriée. Les bactéries anaérobies provoquent un nombre important d'infections qui nécessitent une thérapeutique spécifique. Les tests de sensibilité aux antibiotiques ou le DDS-test (méthode de Kirby-Bauer modifiée pour les bactéries anaérobies) sont classiquement des tests par diffusion en milieu gélosé. Un tel test consiste à placer des disques stériles en papier contenant une concentration déterminée d'un antibiotique. Ces disques préchargés sont disposés sur la surface de la gélose préalablement ensemencée par l'inoculum bactérien à étudier.

Après 24 à 48 heures d'incubation à 37°C, le diamètre d'inhibition en millimètres est mesuré. La résistance correspond à une culture des souches ayant un diamètre d'inhibition inférieur à 10mm par rapport au disque. La résistance intermédiaire correspond aux diamètres intermédiaires d'inhibition sur la gélose, c'est-à-dire diamètre entre 10 et 15mm autour du disque antibiotique sans culture. La sensibilité des bactéries à un antibiotique est donc mesurée par une culture à une distance supérieure à 15mm depuis le disque d'antibiotique. L'intérêt thérapeutique de ce test est de pouvoir choisir un antibiotique mieux ciblé et adapté aux souches présentes (Bouchard *et al.*, 2015).

Chapitre I: Généralités sur les bactéries cariogènes

Un autre test peut être réalisé aussi sur un milieu gélosé préalablement ensemencé : l'E test. Ce test permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) des pathogènes aux antibiotiques. (Bouchard *et al.*, 2015) La CMI représente la concentration minimale pour laquelle un antibiotique inhibe la croissance d'une bactérie. Une bandelette d'antibiotique est placée sur le milieu ensemencé. Cette bandelette contient un antibiotique à des concentrations croissantes. Après incubation, une ellipse d'inhibition des bactéries va se former autour de cette bandelette (zone claire). Le début de cette ellipse indiquera la CMI de la souche étudiée pour l'antibiotique utilisé (Bouchard *et al.*, 2015).

Chapitre II

Les maladies buccales d'origine bactérienne

1. La cavité buccale

La cavité buccale est l'entrée du tube digestif. Le tube digestif est anatomiquement continu et abrite environ 1×10^{14} micro-organismes, ce qui est plus que les quelque 6×10^{13} cellules qui constituent le corps humain tout entier. Sur les différents sites du corps, la cavité orale est l'une des plus densément peuplées et plus de 500 espèces de micro-organismes ont été isolés à partir de la cavité buccale en utilisant des méthodes de biologie moléculaire récemment développées. Ces micro-organismes colonisent les surfaces orales où ils forment un consortium microbien appelé plaque dentaire ou biofilm oral (Takahashi, 2005).

1.1. Le rôle de la cavité buccale

La cavité buccale forme la première cavité du tube digestif et détient plusieurs fonctions qui sont : la phonation, la mastication, la déglutition, la respiration et l'esthétique. Toutes ces fonctions sont déterminantes pour la santé générale. Il est donc primordial de préserver la santé buccale afin de maintenir la qualité de vie de l'individu (Secci, 2006).

1.2. Anatomie dentaire

Chaque dent (ou odonte) possède deux parties anatomiques principales : la partie coronaire, visible et la partie radiculaire implantée dans la cavité osseuse de l'alvéole (Cavézian *et al.*, 2006). La zone de jonction entre la couronne et la racine est représentée par le collet (Lautrou, 1998 ; Cavézian *et al.*, 2006 ; Woelfel et Scheid, 2007) (**Figure 1**). La dent est constituée de trois tissus minéralisés : l'émail, la dentine et le ciment et d'un tissu conjonctif : la pulpe dentaire composée notamment de nerfs et de vaisseaux sanguins qui acheminent les éléments nourriciers vers la dent par l'intermédiaire de l'apex radiculaire. La majeure partie de la dent est formée par la dentine, recouverte, au niveau de la couronne, par l'émail et, au niveau de la racine, par une fine couche de ciment (Lautrou, 1998 ; Cavézian *et al.*, 2006). La jonction entre l'émail et le ciment ou jonction amélo-cémentaire est représentée par le collet anatomique de la dent. Ce dernier diffère du collet physiologique qui est une zone d'insertion de la gencive et dont le niveau se modifie au cours du temps (Cavézian *et al.*, 2006). Les structures de soutien de la dent ou parodonte comprennent l'os alvéolaire, le ligament alvéolo-dentaire, la gencive ou muqueuse gingivale et le ciment (Lautrou, 1998). L'os alvéolaire, qui est un os spongieux, soit histologiquement indissociable de l'os maxillaire, son existence est tributaire de la présence des dents (Piette et Goldberg, 2001 ; Cavézian *et al.*, 2006). La cavité osseuse de l'alvéole est articulée à la partie radiculaire par l'intermédiaire du ligament alvéolo-dentaire qui constitue le desmodonte (Lautrou, 1998 ; Cavézian *et al.*, 2006 ; Woelfel et Scheid, 2007) (**Figure 1**).

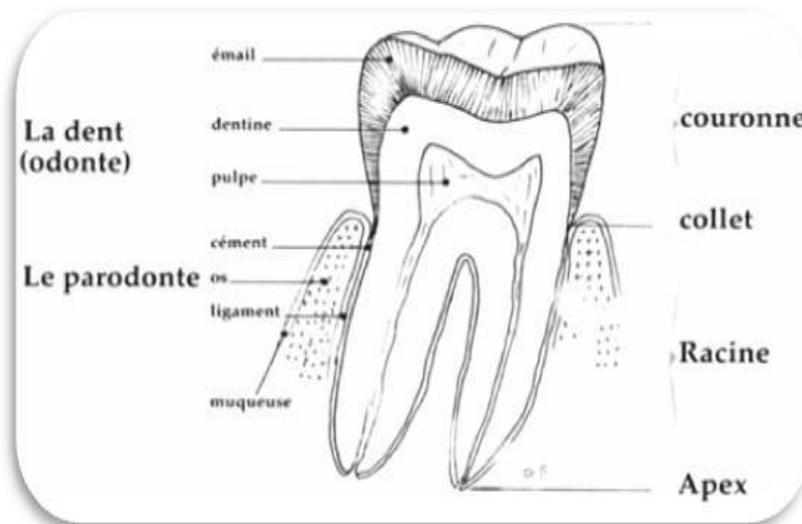


Figure 1 : L'organe dentaire : Coupe schématique d'une molaire inférieure (Fronty *et al.*, 2005)

La couronne est scindée en trois parties à parts égales : le tiers incisif ou occlusal, le tiers moyen et le tiers cervical, plus proche du collet. La racine se compose également de trois parties en proportions égales : le tiers supérieur ou cervical qui est proche de la jonction coronoradiculaire, le tiers moyen et le tiers apical (Bass, 2005 ; Beauthier, 2007). Les dents peuvent être mono ou pluriradiculées. Le point de jonction entre les deux racines s'appelle l'embrasure interradiculaire ou furcation (Piette et Goldberg, 2001 ; Cavézian *et al.*, 2006 ; Beauthier, 2007). Topographiquement, une dent présente cinq faces (Fronty *et al.*, 2005) :

- la face mésiale en regard du point inter-incisif médian, -la face distale, opposée à la face mésiale, la face vestibulaire orientée vers l'extérieur, en regard de la muqueuse jugale, la face linguale orientée vers l'intérieur, -la face occlusale ou triturante des prémolaires et molaires, le bord libre des incisives et la pointe canine, représentant la partie disposée en vis-à-vis des dents antagonistes. Les faces proximales sont les faces mésiale et distale (Fronty *et al.*, 2005).

1.3. Le biofilm buccal

Il est bien connu que le biofilm bactérien est un agrégat de micro-organismes dans lequel les cellules sont collées les unes aux autres et/ou à une surface. Ces cellules adhérentes sont souvent intégrées dans une matrice auto-produite de substance polymère extracellulaire (EPS) (Hall Stoodley *et al.*, 2004). Dans la cavité buccale en particulier, les biofilms buccaux sont constitués de plus de 700 espèces de bactéries, empêtrées dans une matrice extracellulaire riche en polysaccharide (Foster et Kolenbrander, 2004 ; Paes Leme *et al.*, 2006 ; Keijser, *et al.*, 2008). Ces biofilms microbiens spécialisés ont évolué pour supporter l'environnement défavorable de la surface dentaire et de l'épithélium gingival (Kolenbrander *et al.*, 2002 ; Marsh, 2004). Pour cette

raison, leur développement est le résultat de nombreuses interactions physico-chimiques complexes entre des substrats du tissu oral, des micro-organismes, et des macromolécules adsorbées (Socransky et Haffajee, 2002 ; Frias-Lopez et Duran-Pinedo, 2012). La structure du biofilm améliore la communication bactérienne, l'échange d'éléments nutritifs et l'efficacité métabolique de la communauté. Ainsi, cette structure confère aux bactéries une résistance aux antibiotiques et aux attaques immunitaires de l'hôte (Bauer et al., 2002 ; Slinger et al., 2006).

1.3.1. Les étapes de formation du biofilm

La formation de la plaque dentaire peut se décrire schématiquement selon une séquence d'évènements : l'adhésion des bactéries pionnières, la prolifération des bactéries buccales, la formation des microcolonies et le détachement (**Figure 2**) (Hojo et al., 2009). Cependant, le biofilm dentaire est en constant remaniement. Il s'agit d'un processus dynamique dans lequel l'adhésion, la croissance, l'élimination et le rattachement sont continus (Bouchard, 2015).

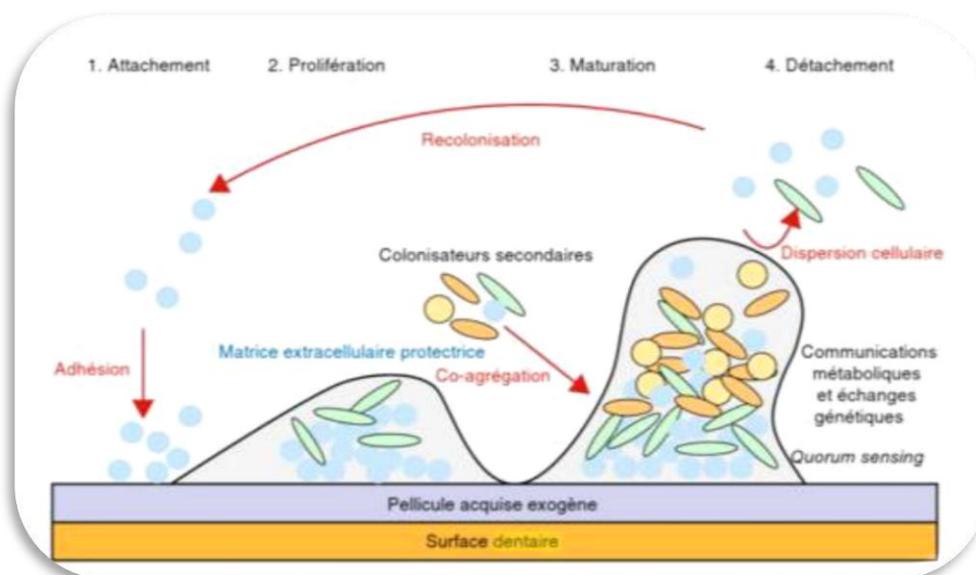


Figure 2 : Représentation schématique de la formation d'un biofilm (Socransky et al., 1998).

1.3.1. 1. Formation de la pellicule acquise exogène (PAE)

L'élaboration de la plaque dentaire dépend préalablement de la capacité des bactéries à adhérer aux surfaces dentaires. Cette colonisation se fait par l'intermédiaire d'un film organique d'origine salivaire recouvrant les surfaces dentaires : la pellicule acquise exogène (PAE). Celle-ci se forme spontanément dès l'éruption des dents et en quelques minutes après leur nettoyage prophylactique. La PAE est principalement composée de glycoprotéines et de protéines salivaires qui se lient à l'hydroxyapatite de la surface minérale. Si son rôle est de protéger les

dents des agressions mécaniques et acides, elle favorise néanmoins l'installation de la plaque dentaire (Bouchard, 2015).

1.3.1.2. Phase d'adhésion réversible

Une adhésion réversible peut s'établir entre la PAE et les bactéries grâce à des interactions physicochimiques non spécifiques (forces de Van der Waals et forces de répulsion électrostatiques). Les micro-organismes sont alors facilement détachables par rinçage (Bouchard, 2015).

1.3.1.3. Phase d'adhésion irréversible

L'adhérence devient irréversible lorsque la liaison se fait par des interactions de plus courtes distances (liaison ioniques, covalentes ou de ponts hydrogènes) et, surtout, par la reconnaissance de molécules spécifiques. Différents motifs protéiques de la pellicule sont reconnus spécifiquement par les adhésines d'un nombre restreint de bactéries. Parmi ces colonisateurs précoces, également appelés bactéries pionnières, figurent principalement des cocci à Gram positif et des bâtonnets à Gram positif : *Streptococcus sanguis*, *gordonii*, *oralis* et *mitis*, *Actinomyces naeslundii* (Li *et al.*, 2004).

1.3.1.4. Phase de prolifération

Une fois fixées sur la PAE, les bactéries pionnières contribuent rapidement à la croissance de la plaque dentaire par division cellulaire. C'est la phase de prolifération bactérienne. De nombreux streptocoques sécrètent une matrice extracellulaire (glycocalyx) composée de polysaccharides, laquelle participe à l'ancrage de la structure en assurant un rôle protecteur et nutritif. La division des cellules adhérentes produit des cellules filles qui vont soit être incluses dans la matrice, soit être libérées dans le milieu environnant (Bouchard, 2015).

1.3.1.5. Phase de maturation

Les bactéries pionnières vont ensuite permettre l'agrégation de nouvelles bactéries qui n'étaient par capables de se fixer directement à la PAE. Ces conglomerats bactériens s'organisent en microcolonies dont la différenciation mène à l'élaboration du biofilm dentaire. Les colonisateurs secondaires ou tardifs sont essentiellement à Gram négatif : *Fusobacterium sp.*, *Haemophilus sp.*, *Porphyromonas sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Veillonella sp.*, et *Treponema sp.* Leur recrutement repose sur les propriétés de co-adhérence bactérienne, c'est-à-dire la capacité d'une bactérie libre de se lier à une bactérie fixée (Bouchard, 2015) (**Figure 3**).

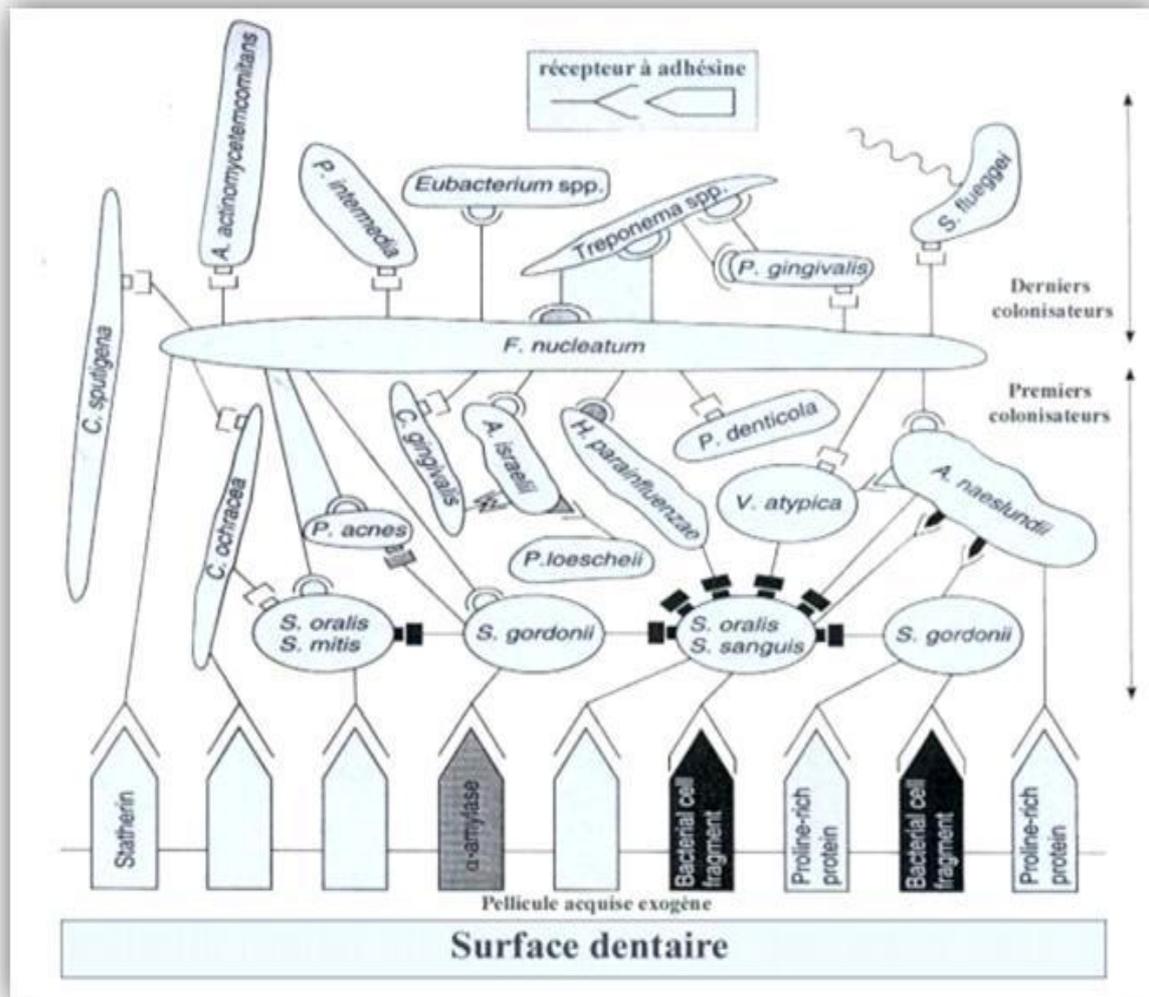


Figure 3. Représentation de la coagrégation bactérienne dans la plaque dentaire humaine : Les colonisateurs précoces se lient à des récepteurs présents dans la pellicule acquise à la surface dentaire. Par la suite, d'autres micro-organismes peuvent s'agréger à ce lit bactérien (Marsh et al., 1999).

1.3.1.6. Phase de détachement

Lorsque la plaque dentaire est épaisse, elle peut subir un phénomène de détachement bactérien. Sous l'effet de forces de cisaillement, comme celles exercées lors de la mastication ou de la phonation, des microcolonies peuvent se dissocier du biofilm. Par ailleurs, dans des conditions environnementales défavorables, certaines bactéries sont capables de se détacher elles-mêmes de la plaque dentaire. *Streptococcus mutans* peut synthétiser des enzymes qui hydrolysent ses liaisons avec les protéines de surface. Retournant à l'état planctonique dans la salive, les bactéries peuvent coloniser alors des milieux plus propices (Bouchard, 2015).

1.4. La plaque dentaire

La plaque dentaire est une accumulation hétérogène, adhérente à la surface des dents ou située dans l'espace gingivo-dentaire, composée d'une communauté microbienne riche en bactéries aérobies et anaérobies, enrobées dans une matrice intercellulaire de polymères d'origine bactérienne et salivaire (Mouton et Robert, 1994).

1.4.1. Classification des plaques dentaires

1.4.1.1. Selon l'habitat

L'hétérogénéité des types de tissu dans la cavité buccale, tels que les dents, la langue et la muqueuse, signifie que différents sites sont disponibles pour la colonisation par des micro-organismes oraux. Chaque site possède des caractéristiques uniques et permet à ces micro-organismes les mieux adaptés à l'environnement d'habiter le site. La fonction ou le rôle des micro-organismes dans un habitat est désigné comme une niche écologique et un certain nombre de niches écologiques existent dans la cavité buccale, y compris la plaque supra-gingivale, la plaque sous-gingivale et le revêtement de la langue. Ces niches écologiques peuvent être caractérisées par les facteurs environnementaux et les caractéristiques métaboliques de la flore microbienne qui occupent ces sites (Takahashi, 2005).

A- La plaque supragingivale

La plaque supra-gingivale commence à se former en quelques minutes après le brossage des dents. Les bactéries pionnières commencent le processus de colonisation et sont bientôt rejoints par d'autres espèces bactériennes et de levures (Trisha, 2011). Les Streptocoques non-mutans et les Actinomyces sont prédominants dans l'écosystème supragingival, ils causent l'acidification de milieu, entraînant alors la déminéralisation de la surface dentaire et l'introduction de plusieurs micro-organismes cariogènes comme *Streptococcus mutans* (Takahashi, 2005).

B - La plaque sous-gingivale:

Dans les sites sous-gingivaux, les micro-organismes asaccharolytiques métabolisent les composés azotés provenant du fluide gingival (GCF) et créent un pH neutre et un environnement anaérobie riche en acides gras à chaîne courte et en ammoniac (Takahashi, 2005).

Fusobacterium et *Prevotella* neutralisent le pH de l'environnement sous-gingival par un métabolisme azoté. Le pH neutre et l'environnement azoté augmente l'activité protéolytique de *Prevotella* et facilite la mise en place des bactéries intolérantes à l'acide, mais parodontopathogènes comme *Porphyromonas gingivalis*.

C - Le revêtement de la langue

Dans le revêtement de la langue, l'activité asaccharolytique à l'égard de la cystéine et la méthionine produit des composés de soufre, qui sont les principales causes de la mauvaise haleine.

1.4.1.2. Selon le pouvoir pathogène

Loesche *et al.* (1983) distinguent trois types de plaques dentaires en fonction de leur pouvoir pathogène :

A - Plaque non pathogène : compatible avec un état satisfaisant de santé dentaire et Parodontale. Cette plaque n'entraîne aucune pathologie. Elle comprend essentiellement des bactéries à Gram positif appartenant aux genres *Streptococcus* et *Actinomyces*.

B - Plaque cariogène : qui se développe lors d'une consommation importante de sucres fermentescibles et qui se caractérise par une forte proportion de *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus propices* à l'acidification du milieu et à la déminéralisation de l'émail.

C- Plaque parodontopathique : qui se développe dans l'espace gingivo-dentaire. Son contenu bactérien évolue progressivement d'une flore aéro-anaérobie facultative, composée de cocci à Gram positif vers une flore anaérobie stricte à Gram négatif. Cette flore est à l'origine de nombreuses maladies parodontales telles que les gingivites et les parodontites.

1.5. Composition bactérienne de la plaque dentaire

De nouvelles techniques comme l'analyse de la séquence nucléotidique du gène de la sous-unité 16S des ARN ribosomiaux ont permis d'identifier de nouvelles bactéries incapables de survivre avec les moyens de culture actuels. Ces bactéries représenteraient environ 50% de la totalité de la population bactérienne (Jenkinson et Lamont, 2005). Ces techniques ont permis de montrer que la flore sous-gingivale était très diversifiée, que la composition des plaques supra-gingivale et sous-gingivale était différente (Marsh, 2005). De même, la composition de la plaque dentaire varie en fonction la pathologie (Socransky et Haffajee, 2005). La plaque dentaire est constituée de colonisateurs précoces représentés à 60% par des *Streptococcus*. Le reste est constitué par des *Actinomyces*, des *Veillonella* et des *Neisseria* (Jenkinson et Lamont, 2005). Cette première adhésion implique la liaison entre des composants de la salive adsorbés à la surface de la cavité buccale et les bactéries. Ces composants qui varient selon la composition de la surface (dent ou gencive) déterminent la composition du biofilm. La bactérie pionnière dépend donc de la nature des composants qui sont adsorbés à la surface de la dent (Socransky et Haffajee, 2005). Or, la structure de la plaque est elle-même dépendante de la bactérie pionnière car les associations entre les premières colonisatrices et les autres sont spécifiques. Ainsi, les bactéries du « complexe rouge » comme *Porphyromonas gingivalis* ou *Treponema denticola*, indicateurs cliniques des maladies parodontales sont rarement détectées en absence de bactéries

d'autres complexes comme le complexe orange (*Fusobacterium*, *Prevotella*) (Marsh, 2005). La composition de la plaque dentaire évolue avec l'état pathologique de la gencive (Socransky et Haffajee, 2005). Cela montre qu'avec la progression de la maladie, on observe une diminution du pourcentage des bactéries à Gram positif tels que les *Streptococcus* et *Actinomyces* au profit de bactéries à Gram négatif et plus particulièrement de bâtonnets à Gram négatif (Lindhe, 1986).

1.6. L'homéostasie

L'homéostasie est un équilibre fragile qui se crée entre l'hôte et la microflore buccale. Elle est donc mise en place d'une part par l'hôte et d'autre part par les microorganismes. De nombreuses études ont été menées pour connaître la réponse cellulaire face à des bactéries pathogènes. Or, les infections bactériennes sont relativement rares et opportunistes et la plupart du temps, l'épithélium est confronté à des microorganismes bénins ou commensaux (Mazmanian et Kasper, 2006). L'épithélium et les bactéries commensales ont évolué ensemble. Ceci signifie que contrairement aux microorganismes pathogènes, les commensaux ont un rôle dans le développement, la fonction physiologique et la santé de l'épithélium. Cette homéostasie met en jeu l'hôte et les microorganismes. Dans la plaque dentaire, en plus de la production d'acide par des bactéries acidogènes, certaines bactéries peuvent augmenter le pH par la production d'ammoniac à partir de l'urée et de l'arginine (Burne et Marquis, 2000), qui prévoit un mécanisme pour équilibrer la production d'acide à partir de sucres alimentaires par d'autres bactéries et ainsi maintenir l'homéostasie (Burne *et al.*, 2012). La valeur du pH du biofilm se lèvera à nouveau et la reminéralisation de l'émail peut se produire (Marquis, 1995).

2. La carie dentaire

2.1. Définition de la carie dentaire

La carie dentaire est classée par les experts de l'OMS au 3ème rang des fléaux mondiaux, immédiatement après les affections cancéreuses et les maladies cardio-vasculaires. Étymologiquement, le mot carie provient du latin caries, qui signifie pourriture, mais la carie dentaire n'est pas une simple lésion dégradant les tissus minéralisés de la dent mais bien une maladie d'origine infectieuse (Hess, 1970). La carie dentaire est une maladie infectieuse, transmissible post-éruptives des tissus durs de la dent (émail, dentine, cément) (Axelsson, 2000). Elle est d'origine multifactorielle initiée et influencée par de nombreux facteurs (Selwitz *et al.*, 2007).

2.2. Les facteurs de risque

- une alimentation contenant des hydrates de carbone fermentescibles
- un hôte susceptible

Chapitre II: les maladies buccales d'origine bactériennes

- une microflore buccale spécifique et le temps durant lequel ces trois facteurs sont réunis en bouche pour interagir et provoquer une baisse du pH sous le seuil de 5,5, auquel les cristaux d'hydroxyapatite commencent à se dissoudre.

La carie dentaire ne se manifeste que quand ces quatre facteurs sont réunis et peut être inactivée par l'absence de l'un d'entre eux. Selon un concept plus contemporain, d'autres facteurs tels les facteurs génétiques, comportementaux et environnementaux, influenceraient également le développement de la carie dentaire (Selwith *et al.*, 2007).

2.3. Symptômes

Une carie dentaire peut évoluer pendant plusieurs semaines ou mois sans provoquer de douleurs. Les premières manifestations de la carie dentaire surviennent lorsque la carie dentaire a déjà évolué et que la dent est profondément atteinte. Apparaissent alors des douleurs au niveau de la dent cariée. C'est lorsque la dentine (la pulpe à l'intérieur de la dent) est attaquée que des douleurs très vives apparaissent, qui peuvent aller jusqu'à la rage de dents. Les douleurs sont présentes aux changements de température au contact de la dent, une tâche peut être vue sur la dent. Un mauvais goût dans la bouche s'observe également. Si la dent n'est pas soignée, des complications peuvent apparaître, comme la formation d'un abcès et la mort de la dent. (Journal des Femmes Santé [3]).

2.4. Les stades d'évolution des lésions carieuses selon classification de SI/STA

Tableau 3: Les stades d'évolution des lésions carieuses selon classification de SI/STA.

Source : Iskander S. Intérêts des aides optiques en chirurgie dentaire: analyse d'un questionnaire; 2015

| Stade | Identification | Forme clinique |
|----------------|--|---|
| Stade 0 | Lésion active, superficielle, sans cavitation ne nécessitant pas une intervention chirurgicale mais un traitement préventif non invasif. |  |
| Stade 1 | Lésion active débutante, avec des altérations de surface, ayant franchi la jonction amélo-dentinaire mais ne dépassant pas le tiers dentinaire externe, nécessitant une intervention restauratrice a minima en complément du traitement préventif. |  |
| Stade 2 | Lésion active d'étendue modérée, cavitaire ayant progressé dans le tiers dentinaire médian sans fragiliser les structures cuspidiennes, et nécessitant une intervention restauratrice à minima de comblement de la perte de substance. |  |
| Stade 3 | Lésion cavitaire étendue ayant progressé dans le tiers dentinaire interne au point de fragiliser les structures cuspidiennes, et nécessitant une intervention restauratrice de comblement et de renforcement des structures résiduelles. |  |
| Stade 4 | Lésion cavitaire extensive et parapulpaire ayant progressé au point de détruire une partie des structures cuspidiennes, et nécessitant une intervention restauratrice de recouvrement coronaire partiel ou total. |  |

2.5. Classification des lésions carieuses selon ICDAS II (International Caries Detection And Assesment System)

Tableau 4: Classification des lésions carieuses selon ICDAS II.

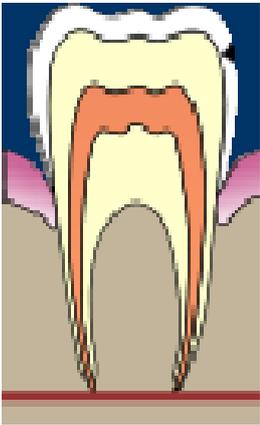
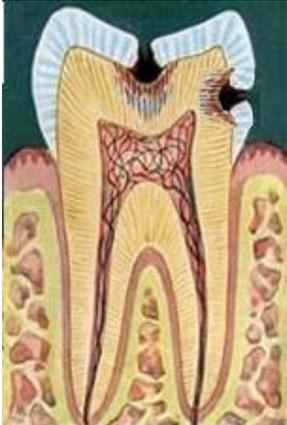
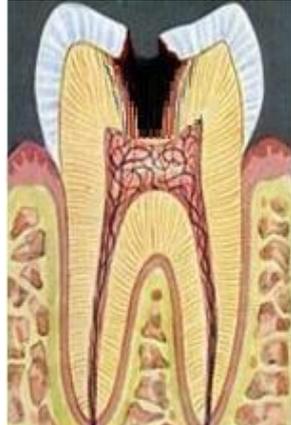
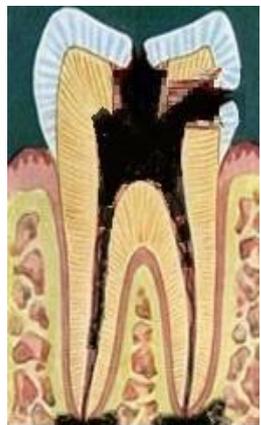
Source: Göran Koch SP, Ivar Espelid, Dorte Haubek. Pediatric Dentistry A Clinical Approach 2017

| | | |
|---------------|---|---|
| CODE 0 | Sain |  |
| CODE 1 | Premier changement visuel de l'émail (visible uniquement après séchage prolongé ou confiné aux puits et fissures) |  |
| CODE 2 | Changement visuel net de l'émail |  |
| CODE 3 | Rupture localisée de l'émail (sans signe visuel d'atteinte dentinaire) |  |
| CODE 4 | Zone sombre dans la dentine sous-jacente visible à travers l'émail |  |
| CODE 5 | Cavité distincte avec dentine exposée |  |
| CODE 6 | Cavité de grande étendue avec dentine exposée |  |

2.6. Développement de la carie dentaire

Le développement de la carie comprend quatre (4) stades.

Tableau 5 : Evolution de la lésion carieuse.

| | | | | |
|---|--|--|---|--|
| Source: Göran Koch SP, Ivar Espelid, Dorte Haubek. Pediatric Dentistry A Clinical Approach 2017 | | | | |
| Identification | <p>Stade 1 : Attaque l'émail, non douloureuse.</p> | <p>Stade 2 : Détruit la dentine, Peut commencer à faire mal.</p> | <p>Stade 3 : Attaqué la pulpe, "rage de dent".</p> | <p>Stade 4 : Détruit la pulpe, l'infection peut se développer en dehors de la dent. C'est :l'abcès dentaire</p> |
| Schéma Representative |  <p align="center">Stade 1</p> |  <p align="center">stade 2</p> |  <p align="center">stade 3</p> |  <p align="center">stade 4</p> |

2.7. Diagnostic

Le diagnostic est facilement réalisé par le dentiste puisque la carie est souvent visible à l'œil nu. Il pose des questions sur la douleur et la sensibilité des dents. Une radiographie peut confirmer la présence d'une carie [4].

2.8. La prévention de la carie

Aucun médicament n'existe qui prévient les caries dentaires, les stratégies principales de prévention comprennent une ingestion minimale de saccharose, le brossage quotidien, les rinçages de bouche et le nettoyage professionnel (deux fois par jour) pour enlever les plaques dentaires. L'addition de fluorures dans les pâtes dentifrice, l'eau potable, les solutions de rinçage de bouche ou leur application protègent les dents contre les acides lactiques et acétiques, réduisant la cariogénèse (GRARANEDJOURD,2001/2002).

Partie expérimentale

Chapitre III

Matériel et Méthodes

1. Matériel

Le matériel et les réactifs utilisés dans la partie expérimentale son représentés dans le tableau suivant :

Tableau 6: Matériel utilisé dans notre travail.

| Appareillages | les milieux de culture | Les réactifs et les colorons utilisées | Autres matériels |
|----------------------|---------------------------------------|--|-----------------------------------|
| -Autoclave. | -Gélose nutritive. | -L'alcool a 95°. | -Portoir. |
| -Etuve à 37° C. | -Gélose Hektœn. | -Fuchsine. | -Glacière. |
| -Réfrigérateur. | -Gélose Chapman. | -Huile de cèdre. | -Marqueur. |
| -Ecouvillons. | -Gélose Mac Conkey. | -Lugol. | -Etiquettes. |
| -Microscope optique. | -Milieu Sabouraud Chloramphénicol. | -Réactifs de Kovacs. -Réactif de TDA. | -Anse de platine. -Bec Bunsen. |
| | -Eau Peptonée Tamponnée | -Rouge de méthylène. | -Boîtes de pétri stériles |
| | - Bouillon nitrate. | -Violet de Gentiane. | -Ecouvillons. |
| | - Milieu TSI. | -Voges-Proskauer | -Micro pipette. |
| | - Citrate de Simmons. | (VPI, VPII). | -Tubes à hémolyse. |
| | - Clark et Lubs. | -Nitrate réductase NRI et | -Système API20E. |
| | - Mannitol mobilité. | NRII. | -Système API20NE. |
| | -Urée-indole. | -Bleu de méthylènes. | -Système API Staph. |
| | -Muller Hinton MH. | -Peroxyde d'hydrogène. | -système API Strep. |
| | | -huile de paraffine. | -Disque d'oxydase. |
| | | -Disques d'antibiotiques | -Disque ONPG. |
| | | AMC :Amoxicilline | -Sérum humain (O+). |
| | | AT : Azithromysine | -Distributeurs |
| | | NO :Nitrofurantoine | d'antibiotiques. |
| | | VA : Vancomysine | |
| | | OF :Ofloxacin | Verrerie : |
| | | P : Penicillin (G) | -Lames et lamelles. |
| | | R :Rifamycine | -Pipettes Pasteur. |
| | | C : Chloramphenicol | -Tubes à essai stériles |
| | | CN :Céfalexine. | |
| | | E : Erythromycine. | |

2. Méthodes

2.1. Cadre d'étude

Le but de notre travail est l'isolement et l'identification des bactéries de la cavité buccale et l'étude de leur biorésistance. Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de l'Université de 8 Mai 1954 de Guelma Ce travail a duré du 2 mois (de mars à mai 2018). Les prélèvements ont été effectués dans un cabinet dentaire privé, chez des patients âgés entre 24 et 60 ans Homme et Femme. Notre travail a porté sur 15 prélèvements de dents cariés.

2.2.Échantillonnage et technique de prélèvement

Les prélèvements ont été effectués à l'aide des écouvillons stériles ; ensuite chaque prélèvement est identifié par la fiche de renseignement suivante :

| Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire | |
|--|------------------------------------|
| Le numéro : | la Date : |
| Age : | Le Service : |
| Sexe : | |
| Nature du prélèvement : | |
| Heure de prélèvement : | les maladies antécédentes : |

La répartition des prélèvements selon leur origine, le sexe et l'âge des patients est rapportée dans le (tableau 7).

Tableau 7 : Nature et période de prélèvement.

| Numéro du prélèvement | Date et heure de prélèvement | Age (ans) | Sexe | Site de prélèvement | Lieu de prélèvement |
|-----------------------|------------------------------|-----------|------|---------------------|---------------------|
| P1 | 06/03/2018 à 09 :28 | 53 | H | carie | Cabinet dentaire |
| P2 | 06/03/2018 à 09 :30 | 53 | F | Carie | Cabinet dentaire |
| P3 | 06/03/2018 à 10 :05 | 35 | F | Carie | Cabinet dentaire |
| P4 | 06/03/2018 à 10 :30 | 57 | H | Carie | Cabinet dentaire |
| P5 | 06/03/2018 à 10 :40 | 32 | H | Carie | Cabinet dentaire |
| P6 | 06/03/2018 à 10 :45 | 66 | H | Carie | Cabinet dentaire |
| P7 | 06/03/2018 à 10 :50 | 66 | H | Carie | Cabinet dentaire |
| P8 | 11/03/2018 à 10 :15 | 25 | H | Carie | Cabinet dentaire |
| P9 | 11/03/2018 à 10 :35 | 54 | H | Carie | Cabinet dentaire |
| P10 | 11/03/2018 à 11 :30 | 30 | F | Carie | Cabinet dentaire |
| P11 | 25/03/2018 à 10 :15 | 34 | F | Carie | Cabinet dentaire |
| P12 | 01/04/2018 à 10 :25 | 55 | F | Carie | Cabinet dentaire |
| P13 | 15/04/2018 à 11 :11 | 24 | F | Carie | Cabinet dentaire |
| P14 | 14/05/2018 à 10 :40 | 60 | F | Carie | Cabinet dentaire |
| P15 | 14/05/2018 à 10 :50 | 36 | H | Carie | Cabinet dentaire |

2.3. Méthodes D'analyses

2.3.1. Enrichissement

L'absence de colonies suspectes sur l'isolement sélectif ne suffit pas pour affirmer l'absence de ces bactéries dans le prélèvement. C'est pourquoi un enrichissement est mis en route en même temps que l'isolement (Guillaume, 2004).

Le Bouillon nutritif est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants. Il est recommandée dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits (Eaton *et al.*, 1995).

Après avoir effectuer les différents prélèvements, les écouvillons sont introduits dans des tubes de Bouillon nutritif ou d'eau peptonée tamponnée, comme étant le milieu le plus utilisé pour l'isolement des bactéries.. Les tubes sont ensuite acheminés au laboratoire dans un délai qui n'a pas dépassé 02 heures, où ils sont incubés dans une étuve réglée à 37°C pendant 24h -48h jusqu'à l'apparition 'un trouble (croissance bactérienne).

2.3.2. Isolement des bactéries

Après l'observation macroscopique des différents types bactériens, nous cherchons à isoler les bactéries du mélange pour permettre de les identifier et l'obtenir de souches pures.

Un isolement consiste à disperser des micro-organismes à la surface d'un milieu gélosé en boîte de Pétri : cela permet d'obtenir des colonies bien distinctes. La méthode la plus utilisée est la méthode des quadrants : à partir d'un point de dépôt, les bactéries sont étalées sur les 4 quadrants successifs de la gélose [5].

A partir des milieux d'enrichissement présentant une croissance nous avonsensemencé plusieurs milieux de culture gélosés préalablement coulés dans des boîtes de pétri afin d'isoler le maximum des bactéries présentes sur les surfaces analysées. L'ensemencement a été effectuée par la méthode des stries transversales sur des boîtes de Pétri. Les boîtes sont mises à l'incubation à 37°C pendant 24 heures.

Les milieux d'isolement utilisés sont :

Gélose Nutritive

Une gélose nutritive ou gélose ordinaire est un milieu gélosé d'isolement qui permet la culture de toutes les espèces bactériennes de pouvoir pousser, à condition qu'elles soient non exigeantes, autrement dit que les souches peuvent pousser sur un milieu minimum, qui n'apporte que les éléments essentiels à leur développement (Guillaume, 2004).

Milieu d'isolement utilisé pour la recherche de FMAR (flore mésophile aérobie revivifiable). (Vincent ,2008).

Gélose Hektoen

Est un milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes comme des Salmonelles et des Shigelles. Bien que de nombreuses bactéries à Gram négatif puissent se développer sur ce milieu (Guillaume, 2004).

Gélose Chapman

Est un milieu sélectif, surtout utilisé en microbiologie médicale, pour l'isolement et la numération des staphylocoques. Permettant la croissance des genres halophiles. Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus*, mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, les *Bacillus*, et de rares bactéries à Gram négatif (Chringle, 2011).

Gélose Mac Conkey

C'est une gélose utilisée pour l'isolement des Entérobactéries, ainsi que la différenciation entre les bactéries qui fermentent le lactose Lac(+) en acide et celle qui ne le fermentent pas Lac(-) (joseph, 2003).

Gélose Sabouraud

La gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes. Dans le cas de prélèvements fortement contaminés, il est préférable d'utiliser la gélose Sabouraud + chloramphénicol (Guillaume, 2004).

2.3.3. Purification

La purification consiste à effectuer des repiquages successifs sur gélose nutritive, Chapman, Hektoen, Mac conkey jusqu'à l'obtention de colonies pures bien distinctes et homogènes.

La technique consiste à prélever quelques colonies à partir des géloses utilisées, à l'aide d'une anse de platine préalablement flambée et refroidie, qu'on dispose à la surface de la gélose et on ensemence par la méthode des stries. Les boîtes de Pétri et les tubes sont mis en incubation durant 37°C pendant 24 à 48 heures (Bousseboua, 2003).

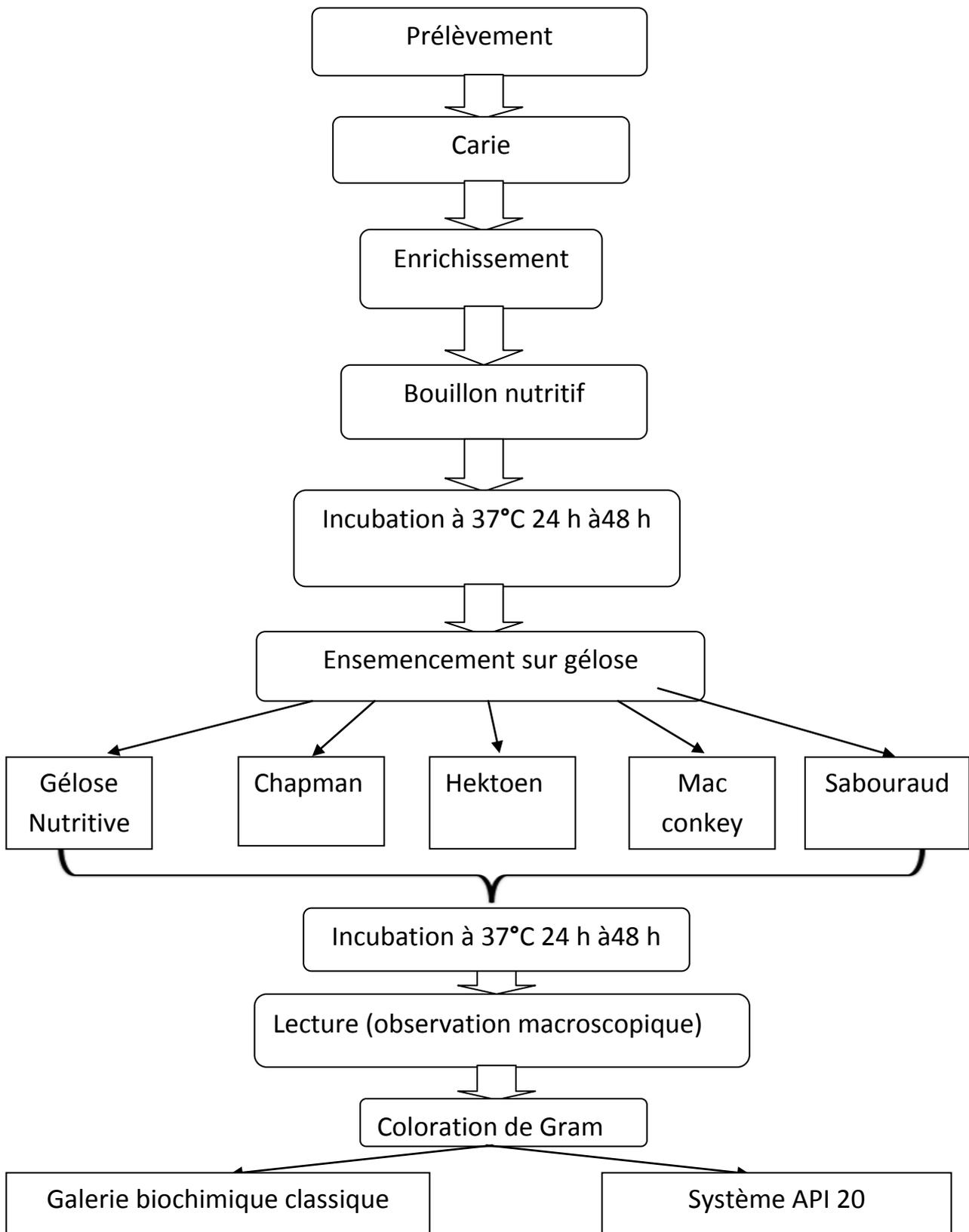


Figure 4: protocole d'isolement et d'identification des bactéries cariogène.

2.3.4. Identification

L'identification des souches a porté sur une série de tests préliminaires (examen macroscopique et examen microscopique), tests biochimiques et un antibiogramme.

2.3.4.1. Tests préliminaires

a- Examen macroscopique des caractères cultureux

L'identification des germes débute par sur l'observation de l'aspect macroscopique des colonies obtenues à partir des différents milieux d'isolement. Cette observation servira de moyen d'orientation pour une identification plus approfondie (Bousseboua, 2003).

La description des colonies doit mentionner plusieurs éléments :

- La taille
- La forme: bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé, irréguliers.
- L'aspect de la surface: lisse, rugueux.
- L'opacité : opaque, translucide, transparent.
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse.
- La couleur et/ou Pigmentation (in Rouaiguia, 2010).

b- Examen microscopique

Permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce microbienne elle comprend : Examen a l'état frais,

Examen après coloration de Gram.

Examen à l'état frais

Il permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de groupement, de leur mobilité éventuelle (Camille. 2007).

Examen après coloration de Gram

Le protocole de la coloration de Gram est comme suit :

- Préparer un frottis d'un produit pathologique ou d'une culture bactérienne pure ;
- Recouvrir le frottis de violet cristal oxalaté ; laisser agir 1 minute ; rincer à l'eau distillée ;
- Verser du Lugol et le laisser agir pendant 30 sec à 1 minute ; rincer à l'eau distillée ;
- Décolorer à l'alcool à 95°C, entre 15 et 30 secondes ; rincer à l'eau distillée ;

- Recolorer avec la fuchsine pendant 1 minutes ; rincer à l'eau distillée ;
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.
- Observer au microscope à l'objectif à immersion(X100), Cette coloration permet de différencier les bactéries selon deux critères :
- Leur forme (bacille, cocci,...etc.), leur affinité pour les colorants, en Gram positif et Gram négatif.

Avec cette coloration double, les bactéries Gram-positif apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries Gram-négatif sont colorées en rose.

2.4. Analyse microbiologique des bactéries pathogènes

L'inoculum est prélevé directement à partir de bouillon nutritif est déposé sur un point périphérique de la gélose puis disséminé par stries sur toute la surface. Les boîtes sont codées puis incubées à 37°C pendant 24 - 48 heures.

A- Recherche des staphylocoques

On entend par staphylocoques à coagulase positive, les bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques, isolées ou regroupées formant ainsi des grappes de raisin, ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs, possédant l'enzyme catalase et la coagulase .ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à $36 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sur un milieu sélectif Chapman au mannitol qui contient un inhibiteur : fortes concentrations en chlorure de sodium (75g/l) (Pechère *et al.*, 1982 ; Carbonnelle, 1988 ; Labres *et al.*, 2008).

Le milieu de Chapman ce qui permet un isolement sélectif des staphylocoques. La fermentation du mannitol est indiquée par le virage au jaune de l'indicateur coloré, « le rouge de phénol », autour des colonies (Rodier, 2009).

Mode opératoire

On prépare les boîtes pétries avec le milieu Chapman (Rodier ,1996). A partir de la solution mère, on porte aseptiquement 0. 1ml (2 gouttes) dans les boîtes de Pétri qu'on étale à l'aide d'une anse de platine stérile. L'incubation se fait à 37°C pendant 48 heures (Ait Kaci *et al.*, 2008).

Lecture et interprétation

Après la période d'incubation spécifiée, les Staphylocoques à coagulase positive ou plus particulièrement *Staphylococcus aureus*, apparaissent sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentées en jaune (fermentation du mannitol) ou en blanc (Ait Kaci *et al.*, 2008 ; Rodier ,2009).

Le tableau suivant résume quelques caractères biochimiques de différentes espèces de staphylocoques (**Tableau 8**).

Tableau 8: Les principaux staphylocoques isolés en microbiologie in (Sayad, 2008).

| Staphylococcus | <i>aureus</i> | <i>Intermedius</i> | <i>saprophyticus</i> | <i>epidermitis</i> |
|-----------------------|---------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| Catalase | + | + | + | + |
| Coagulase | + | + | - | - |
| Mannitol en aérobiose | + | - | + | - |

B- Recherche des Streptocoques

La famille des Streptococcaceae comprend sept genres. Parmi eux, *Streptococcus* et *Enterococcus* regroupent la plupart des espèces responsables d'infections humaines. Les caractéristiques communes à toutes ces espèces sont : cocci à Gram positif, non sporulés, immobiles, dépourvus de catalase et d'oxydase, ne réduisant pas les nitrates et résistants aux aminosides (Decoster, 2008).

Les streptocoques du groupe D

Ce groupe est caractérisé par la présence de l'antigène D, qui n'est pas un polyside mais qui est constitué par l'acide teichoïque de la paroi. Cet antigène D est également présent chez les entérocoques mais des études génétiques ont conduit à séparer le genre *Enterococcus* des streptocoques. Dans le groupe D des streptocoques, il reste *S. bovis*, *S. equinus* et *S. alactolyticus*, qui sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux (Decoster, 2008).

Tableau 9 : Les principaux streptocoques du groupe D isolées en microbiologie In (Decoster, 2008).

| | <i>Enterococcus</i> | | | <i>Streptococcus (D)</i> | |
|---------------|---------------------|----------------|---------------|--------------------------|----------------|
| | <i>faecalis</i> | <i>faecium</i> | <i>durans</i> | <i>bovis</i> | <i>equinus</i> |
| NACL(6.5) | + | + | + | - | - |
| Mannitol | + | + | - | + | - |
| Raffinose | - | - | - | + | - |
| Sorbitol | + | - | - | - | - |
| Culture a 45° | + | + | + | + | + |

C- Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*

On entend par *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie qui se présente sous forme de bacille à Gram négatif possédant l'enzyme oxydase. Elle est également une bactérie hautement pathogène et résistante à plusieurs antibiotiques (Pechère *et al.*, 1982; Pilet, 1987; Labres *et al.*, 2008).

L'isolement se fait par ensemencement d'un solide sur milieu sélectif King A et King B. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures (in Rouaiguia, 2010).

Recherche de la pyocyanine : pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* responsable de la teinte bleue intense des milieux de culture : sa production est favorisée sur milieu de King A.

Recherche de la pyoverdine : présente une teinte vert fluorescent est souvent masquée par la pyocyanine, sa production est maximale sur milieu de King B (Labres *et al.*, 2008).

D- Recherche des *Salmonella* et *Shigella*

Recherche de *Salmonella*

On entend par *Salmonella*, des bactéries qui se présentent sous forme de bacilles mobiles à Gram négatif (BGN), ne fermentant pas le lactose, mais fermentant le glucose avec production de gaz et de H₂S, et qui en se développant à température de 36 ± 2°C en 24 à 48 heures, sur milieu Hektoën, forment de petites colonies, lisses à contours réguliers, pigmentées en vert ou en bleu vert à centre noir (Pechère *et al.*, 1982 ; Carbonnelle, 1988 ; Labres *et al.*, 2008).

Culture

Jour 1 : Le pré-enrichissement

On a utilisé l'eau peptonée tamponnée (EPT), on peut le utiliser en double concentration pour faciliter l'incubation (Protais *et al.*, 2003). On prend colonie et on l'introduit dans 225 ml de milieu EPT. L'incubation se fait à 37°C ± 1°C pendant 24 heures in (Azizi, 2006).

Jour 2 : L'enrichissement

En vue de l'isolement et de l'identification, nous avons utilisé le bouillon au sélénite de Leifson (SFB ; S/C) on a prélevé 2 ml du milieu ETP (Solution pré-enrichie) et l'introduire dans le milieu SFB in (Azizi, 2006), on incube à 37°C pendant 24 heures (Guiraud, 1998).

Jour 3 : Enrichissement secondaire et isolement

Le bouillon sélénite cystéine incubé la veille fera l'objet :

- d'une part, d'un enrichissement secondaire sur bouillon sélénite – cystéine en tubes à raison de 0,1 ml par tube,
- d'autre part, d'un isolement sur gélose Hektoèn. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 h (Lebres *et al.*, 2002).

Jour 4 : Lecture des boîtes et Identification

D'une part, le tube de Selenite fera l'objet d'un isolement, d'autre part, les boîtes des géloses Hektoene, et Mac Conkey subiront une lecture (Lebres, 2004).

Recherche des Shigella

Les Shigelles (bactéries du genre *Shigella*), sont des Enterobacteriaceae, rencontrées exclusivement chez l'homme, elles ne font partie d'aucune flore commensale chez l'homme, elles sont toutes pathogènes et spécifiques du tube digestif ; éliminées par les selles et dispersées dans les sols et les eaux où elles ne survivent que peu de temps. Morphologiquement ce sont des bacilles Gram négatifs, immobiles ; dépourvus de spores et de capsules très proches du E coli. (Pechère *et al.*, 1982; Carbonnelle, 1988) .

Sur gélose ordinaire en 24 heures à 37°C, *Shigella* produit des colonies de taille moyenne (2 à 3 mm de diamètre), rondes, régulières et brillantes.

- Milieux ordinaire et électifs : Gélose ordinaire, Gélose BCP, Gélose CLED.
- Milieux sélectifs : Gélose Mac Conkey, Gélose lactosée au désoxycholate, Gélose Hynes, Gélose *Salmonella Shigella* ou *Gélose SS*, Gélose Héctoèn.

Caractères biochimiques

Ils se déterminent sur une galerie classique ou miniaturisée pour Enterobacteriaceae avec laquelle elles se différencient par un ensemble de caractères négatifs :

Absence d'uréase, de désaminase et de Lysine décarboxylase.

Absence de production de H₂S et d'acétoïne.

Pas d'utilisation du Citrate comme seule source de carbone sur milieu citrate de Simmons. Le caractère **ONPG**, mannitol, indole et **ODC** varient selon les biotypes.

NB. L'identification de ces deux bactéries (*Salmonella* et *Shigella*) se fait parfaitement par le système API20E in (**Tableau 10**) (Sayad, 2008 ; Labres *et al.*, 2008).

Tableau 10 : Caractères d'identification biochimique de *Shigella* in (Sayad, 2008).

| Milieu | tests | <i>Shigella</i> |
|--------------------|------------------|-----------------|
| TSI | Glucose | + |
| | Lactose | - |
| | Saccharose | - |
| | H ₂ S | - |
| | Gaz | - |
| Mannitol-mobilité | Mobilité | - |
| Urée-indole | Uréase | - |
| | TDA | - |
| Citrate de Simmons | Citrate | - |

2.5. Analyse biochimique

2.5.1. Galeries classiques

L'identification et la classification des espèces, sont basées essentiellement sur l'étude des caractères suivants:

-Recherche de l'ONPG ,recherche de l'oxydase, milieu TSI (Triple Sugar Iron Agar) , milieu Mannitol-Mobilité ,milieu au Citrate de Simmons, recherche des VP-RM, milieu Urée Indole, quelques acides aminés et quelques sucres (Lebres, 2004).

L'identification des souches est réalisée par l'étude de plusieurs tests biochimiques et métaboliques, nous utilisons trois milieux solide qui sont : milieu TSI, milieu mannitol-mobilité et milieu citrate de Simmons, et trois d'autre milieux liquide : Clark et lubs, bouillon nitrate et urée d'indole, qui regroupent dans le tableau.

Préparation de l'inoculum

Une colonie bactérienne est prélevée, à partir d'une culture jeune de 18-24 h.

Inoculation de la galerie

A l'aide d'une pipette pasteur, les tubes sont remplis par la suspension bactérienne déjà préparés en évitant d'introduire les bulles d'air.

La série des milieux utilisés est motionnée dans le tableau avec leurs modes d'ensemencement, les caractères recherchés et les résultats attendus .L'incubation se fait à 37° C pendant 24 h.

Tableau 11 : Indentification biochimique à l'aide de la galerie classique.

| Tests | Milieux de culture | Mode d'ensemencement | Caractère recherché | Résultat attendu |
|--|-------------------------------------|---|--|--|
| Test TSI Formation d'acide et gaz à partir d'hydrate de carbone | Le milieu TSI (Triple-Sugar-Iron.). | Ensemencement par piqûre profonde du culot au fil droit et la pente par des stries serrées à l'aide de la pipette pasteur. incubation à 37°C pendant 24 h. | Fermentation du glucose. fermentation du lactose. fermentation du saccharose. Production d'H ₂ S et de Gaz (Lebres, 2004). | -pente jaune : lactose/ saccharose (+). -pente rouge : lactose et saccharose (-). - Culôt jaune : glucose(+). -l'apparition des bulles dans le culot : Gaz (+). -présence de précipité noir : H ₂ S (+) |
| Test de Citrate de simmons | Le milieu citrate de Simmons | Ensemencement par stries le longitudinale de la pente à l'aide de la pipette pasteur à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile. Mettre à l'étuve 24 h à 37°C (Regam, 2010). | Utilisation du citrate comme seule source de carbone | Une culture avec une alcalinisation du milieu : virage de l'indicateur de pH au bleu. Bleu : citrate (+). Absence de couleur : citrate (-) (Carbonnelle, 1988). |
| Test de mannitol-mobilité | Milieu Le mannitol mobilité | Ensemencement par piqûre centrale à l'aide d'une pipette pasteur, chargé de culture en milieu solide, nous incubons 24 h à 37°C. | Fermentation de mannitol. mobilité de la bactérie. | -mannitol : Rouge : pas de fermentation de mannitol (-). Jaune : fermentation de mannitol (+). -mobilité : -diffusion : bactérie mobile développe le long de la pique. |

Chapitre III: matériel et méthodes

| | | | | |
|---|----------------------------------|---|--|---|
| | | | | -pas de diffusion : bactérie immobile développe seulement dans la trace de la piqûre qui demeure fine et nette (Carbonnelle, 1988 ; Sayad, 2008). |
| Recherche de l'uréase et l'indole | Le milieu urée indole | Ce milieu est inoculé avec quelques gouttes de la suspension bactérienne, incubation à 37°C pendant 24 h. après incubation nous l'avons ajouté 2 à 3 gouttes de réactifs de Kovacs. La lecture de l'indole est immédiate. | Capacité de la bactérie de produire l'indole. Présence d'une enzyme uréase qui libère l'ammonium à partir de l'urée. | <i>Test uréase :</i> Coloration rouge violacé ou rose rouge : uréase (+). Coloration orange : uréase (-). <i>Test indole :</i> Réaction indole positive : Anneau rouge ou rose. Réaction indole négative : Absence de coloration rouge ; anneau brunâtre (Carbonnelle, 1988). |
| Test VP et test RM (recherche de l'acétoïne) | Le milieu Clark et Lubs | Ensemence par l'ajout de quelques gouttes de la suspension bactérienne, incubation à 37°C pendant 24 h. <i>Test VP (Voges Proskauer):</i> Ajouter 2 à 3 gouttes de VPI et VP II. Incliner le tube pour permettre une bonne | Production de l'acétoïne. -la mise en évidence de la voie des fermentations acides mixtes par le teste RM. | <i>Test VP :</i> Le milieu Rose à rouge : (VP+) Jaune: (VP-). <i>Test RM:</i> Teinte rouge : (RM +), Teinte jaune : (RM-). (Lebres, 2004 ; Boukroune, 2008). |

Chapitre III: matériel et méthodes

| | | | | |
|--------------------------------------|-------------------------------|--|---|---|
| | | <p>oxygénation et attendre quelque minute (10 min) à une heure.</p> <p><i>Test RM</i> (Rouge de Méthyle):</p> <p>Ajouter 2 à 3 gouttes de réactifs rouge de méthyle.</p> <p>La lecture est immédiate</p> | | |
| Teste de réduction du nitrate | Bouillon nitrate | <p>-Ensemencer largement . -Incuber 24h à 37°C.</p> <p>Après l'incubation ajouter deux gouttes du réactif nitrate réductase 1 et 2 (Griess Ilosways) (NRI+NR II).</p> | Production d'enzyme nitrate réductase (réduction des nitrates en nitrites). | <p>-Coloration rose ou rouge : nitrate réductase positive.</p> <p>-Coloration jaune (reste incolore) : ajouter la poudre de zinc ; et la couleur apparaîtra rouge, la bactérie est dite nitrate réductase négative.</p> <p>Absence de coloration, la bactérie est nitrate réductase positive in (Boulkroune, 2008).</p> |
| Test ONPG | Eau distillée + disque d'ONPG | <p>Réaliser une suspension épaisse des bactéries testées en eau distillée dans un tube à essai.</p> <p>Ajouter avec une pince flambée et refroidie un disque imprégné d'ONPG. Incuber 30 minutes à 37°C.</p> | Présence de β -galactosidase | <p>Milieu jaune : test ONPG (+).</p> <p>Milieu incolore : test ONPG (-).</p> |

2.5.2. Test complémentaires

L'étude de quelques tests biochimiques dont : Test Oxydase, Catalase, Coagulase.

Test oxydase

L'oxydase ou Cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes.

La recherche de cette enzyme est utile dans le repérage des colonies de Neisseriaceae et dans le diagnostic des bacilles à Gram négatif (Camille, 2007).

La méthode :

La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce Déposer, sur une lame porte-objet propre, un disque « OX » et l'imbiber avec deux goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile.

Prélever une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.

Une réaction positive se traduit par un virage rapide du réactif de l'incolore au violet foncé apparaît immédiatement sur le disque ou en quelques secondes (Carbonnelle, 1988; Labres, 2004). puis vire au noir : test oxydase (+).

Disque incolore: test oxydase (-).

Test catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobie facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène gazeux qui se dégage. L'objectif de ce test est de reconnaître la présence de l'enzyme catalase.

La méthode qui permet de rechercher cette enzyme est :

Prendre une lame porte objet propre. Déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes au contact d'une colonie bien isolée (Joffin et Leylor, 2001).

Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase : test catalase (+).

Test de coagulase

Le test mettant en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma est le principal test caractérisant *S. aureus*, Le test de détection consiste à incuber pendant 4 heures à 37°C un mélange de plasma oxalaté de l'homme et de la souche à tester, de préférence à partir d'une culture en gélose Chapman.

L'apparition d'un caillot est observée en inclinant le tube à 90°C. Le test de la coagulase, il existe de très rares souches de *S. aureus* non sécrétrices de coagulase. (Figure 5) (In Rouaiguia ,2010).

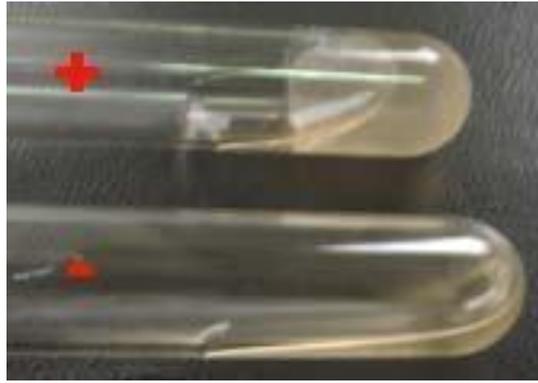


Figure 5 .Test de coagulase.

2.5.3. Galeries biochimique

La galerie API commercialisée, est un système standardisé pour l'identification de bactéries ; elle est composée d'un nombre variable de microtubes (10 ou 20 le plus souvent), contenant des substrats déshydratés qui permettent de réaliser des tests biochimiques (Camille, 2007).

La Galerie API 20 E

La Galerie API 20 E est un système pour l'identification des Entérobactéries et autres bacilles Gram négatif, utilisant 20 tests standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

Principe

La galerie API 20 E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Mode opératoire

Préparation de la galerie

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau dans les alvéoles avec pipette pour créer une atmosphère humide.

Déposer la galerie dans la boîte d'incubation [6].

Préparation de l'inoculum :

Ouvrir une ampoule de « Suspension Medium » ou introduire quelques ml d'eau distillée stérile (avec une pipette Pasteur) dans un tube à vis stérile.

Avec la pipette Pasteur, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé. Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu [6].

Inoculation de la galerie API 20 E

Avec la suspension bactérienne et la pipette ayant servi au prélèvement, remplir tubes et cupules des tests CIT, VP, GEL, avec la suspension bactérienne.

Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.

Créer une anaérobiose dans les tests ADH, LCD, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 35 - 37° C pendant 18 à 24 heures [6].

Lecture

Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées. Si le glucose est positif et/ou si 3 tests ou plus sont positif : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.

Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.

Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kowacks. Un anneau rouge obtenu en 2minutes indique une réaction positive.

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20E (**Figure 6**).

Elle se fait avec le tableau API 20 E [21].Et à l'aide du logiciel d'identification

Apiweb [6].



Figure 6: Galerie API 20 E.

Tableau 12: Galeries API bioMérieux SA et bactéries identifiables.

| Galeries API | Nombre de tests biochimiques | Temps d'incubation en heures | Bactéries identifiées |
|--------------|------------------------------|------------------------------|--|
| Api 20 E | 4 | 18 à 24 | Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram- non fastidieux |
| Api 20 NE | 3 | 24 | Bacilles Gram- non enterobactéries et non fastidieux |
| Api Staph | 10 | 24 | Staphylocoques, microcoques et germes apparentés |
| Api 20 Strep | 3 | 4 puis 24 | Streptococcaceae et germes apparentés |

6. Antibiogramme

Nous avons par la suite testé l'efficacité d'antibiotiques sur toutes les souches identifiées. Pour cela nous avons utilisé une gélose Mueller Hinton (MH) dans une boîte de Pétris ensemencée par l'utilisation de l'écouvillon la suspension obtenue (3 à 5 colonies sont prélevées et dissociées dans 5ml d'eau distillée stérile) On assure la disposition de culture sur toute la boîte.

On disposera alors des pastilles d'antibiotiques différents (5 ,4 ,3 pour une boîte de Pétris) suivant la disposition du (**figure 7**). Après étuvage à 37 °C pendant 24 heures nous pouvons obtenir des diamètres sans bactérie (zone d'inhibition) autour des pastilles d'antibiotique. Selon le logiciel **ATB Whonet 5,3** et les diamètres mesurés on a distingués des bactéries résistantes et d'autres sensibles ou intermédiaires.



Figure 7 : La disposition des disques d'antibiotiques.

Tableau 13 : Liste des antibiotiques utilisé.

| Entérobactéries | Streptococcus | Staphylococcus |
|--|--|---|
| Amoxicilline AMC. Chloramphénicol. Penicilline G Nitrofurantoine Ofloxacin Rifamycine | Erythromycine Penicilline G Chloramphenicol Amoxicilline AMC. Nitrofurantoine Ofloxacin | Amoxicilline AMC. Azithromycine Nitrofurantoine Vancomycine Ofloxacin Penicilline G Rifamycine Chloramphenicol Céfalexine |

Partie expérimentale

Chapitre IV

Résultats et Discussion

1. Résultat de l'enrichissement

Après incubation pendant 24h, un trouble a été observé dans les 15 tubes inoculés (figure 8).

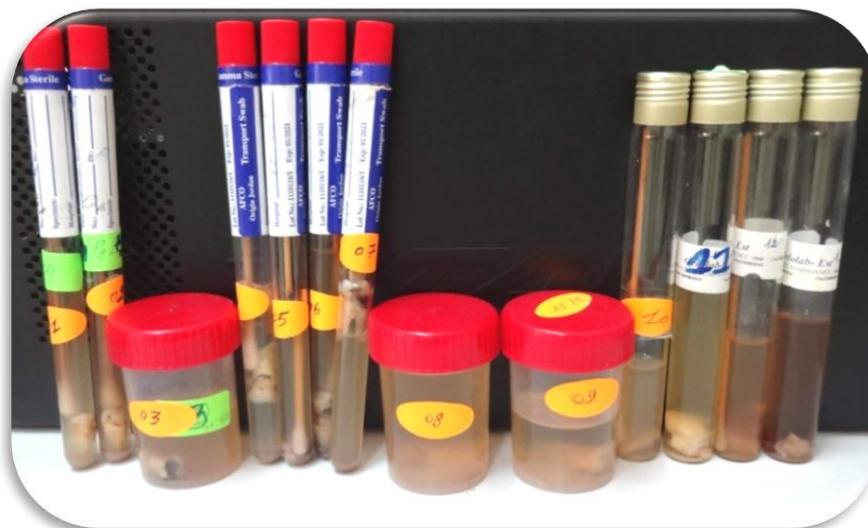


Figure 8 : Résultats de l'enrichissement (présence de troubles) (Photo personnelle).

2. Aspect macroscopique après l'isolement

La bactérie lors de l'ensemencement est invisible à l'œil nu. Toutefois, elle se divise à un rythme assez important pour former une colonie qui est visible à l'œil nu. Chacune de ces colonies est formée par des millions de bactéries identiques. Ces colonies possèdent des caractéristiques propres à l'espèce bactérienne.

Après isolement et purification des souches bactériennes sur les différents milieux utilisés, les principaux caractères culturels sont résumés dans le (tableau 14) suivant :

Tableau 14: Résultats de l'isolement des différents prélèvements effectués.

| prélèvement | Gélose nutritive | Gélose Chapman | Gélose Mac-Conkey | Gélose Hektoen | Gélose Sabouraud |
|--------------------|---|---|---|--|-------------------------|
| 1 | Colonies jaune de petites tailles, lisses bombées opaques présentant une forme irrégulière et/ou régulière. | Absence de colonies. | Absence de colonies. | Levure | Absence de Colonies. |
| 2 | Colonies jaunes d'une différente taille lisse opaque présentant d'une forme irrégulière et régulière. | Colonies jaunes d'une taille petite lisse opaque Crimée présentant d'une forme régulière. | Absence de colonies. | Absence de colonies. | Absence de colonies. |
| 3 | Absence de colonies. | Absence de colonies. | Colonies rond marron d'une différente taille lisse opaque présentant d'une forme régulière. | Colonies rond orangés verts d'une différente taille bombée lisse claire opaque présentant d'une forme régulière. | Absence de colonies. |
| 4 | Colonies beige d'une différente taille, présentant d'une forme | Colonies blanches d'une différente taille plate claire | Absence de colonies. | Levure | Absence de colonies. |

Chapitre IV: Résultats et discussion

| | | | | | |
|---|---|--|--|---|---|
| | irrégulière plate opaques | sèche présentant d'une forme irrégulière. | | | |
| 5 | Colonies jaune, doré orangé d'une différente taille plate bombée opaques présentant d'une forme régulière | Colonies jaunes d'une différente taille plate bombée opaque Crimée présentant d'une forme irrégulière. | Absence de colonies. | Colonies rond verts d'une différente taille bombée lisse opaque présentant d'une forme régulière. | Colonies blanches d'une différente taille lisse bombée clair présentant d'une forme irrégulière et régulière. |
| 6 | Colonies beige d'une différente taille, présentant d'une forme irrégulière plate opaques | Colonies blanches d'une taille petite bombée opaque Crimée présentant d'une forme régulière. | Absence de colonies. | blanches d'une différente taille bombée (levure) claire présentant d'une forme régulière. | Absence de colonies. |
| 7 | Absence de colonies. | Colonies jaunes d'une différente taille plate bombée opaque Crimée présentant d'une forme irrégulière. | Colonies rose pâle présentant d'une différente taille plate opaque, présentant d'une forme régulière | Colonies blanches présentant d'une taille petite bombée lisse claire opaque présentant d'une forme irrégulière. | Absence de colonies. |

Chapitre IV: Résultats et discussion

| | | | | | |
|-----------|--|--|--|---|----------------------|
| 8 | Nape | Colonies jaunes et blanches présentant d'une différente taille plate bombée opaque Crimée d'une forme régulière. | Colonies marron d'une différente taille lisse bombée opaques, présentant d'une forme régulière | Colonies vert blanche d'une différente taille bombée lisse opaque présentant d'une forme irrégulière. | Absence de colonies |
| 9 | Nape | Absence de colonies. | Colonies rose d'une taille petite plate claire, présentant d'une forme régulière | Absence de colonies. | Absence de colonies. |
| 10 | Nape | Colonies jaunes d'une différente taille lisse bombée opaque Crimée présentant d'une forme irrégulière. | Absence de colonies. | Absence de colonies. | Absence de colonies. |
| 11 | Colonies jaunes d'une taille petite bombée opaques. présentant d'une forme régulière | Colonies jaunes d'une taille petite lisse bombée | Absence de colonies. | Absence de colonies. | Absence de colonies. |

| | | | | | |
|-----------|---|---|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <p>12</p> | <p>Colonies jaunes d'une taille petite bombée lisse opaques. présentant d'une forme régulière</p> | <p>Colonies jaunes d'une taille petite lisse bombée opaque. présentant d'une forme régulière.</p> | <p>Absence de colonies.</p> | <p>Levure</p> | <p>Absence de colonies.</p> |
| <p>13</p> | <p>Nappe</p> | <p>Colonies blanchâtres jaunes dorés d'une différents taille lisse bombée Crimée opaque présentant d'une forme régulière.</p> | <p>Absence de colonies.</p> | <p>Absence de colonies.</p> | <p>Absence de colonies.</p> |
| <p>14</p> | <div data-bbox="592 1355 1211 1753" data-label="Image"> </div> <p data-bbox="644 1778 1257 1861">Milieu Gélose au sang : Colonies grises crémees Présentant d'une forme de nappe confluyente</p> | | | | |
| <p>15</p> | | | | | |

Chapitre IV: Résultats et discussion

La majorité des prélèvements sont poly-microbiens. Plusieurs colonies ont poussées sur les cinq milieux. Sue une même boîte de Pétri on peut trouver plusieurs colonies différentes. Les photos qui suivent montrent quelques aspects des colonies isolées sur les milieux de culture :

Tableau 15: Aspects macroscopiques des colonies isolées (des photos personnelles).

| | |
|---|--|
|  |  |
| Gélose Sabouraud de P1 (culture négative) | Gélose Hektoen de P3 |
|  |  |
| Gélose Hektoen de P4 | Gélose Mac de P5 (culture négative) |

| | |
|--|---|
|  |  |
| Gélose Sabouraud de P5 | Gélose Chapman de P11 |
|  |  |
| Gélose Nutritive de P 11 | Gélose Mac Conkey repiqué depuis GN13 |

3. Dénombrement sur milieu solide

A l'aide de la loupe nous avons effectué un dénombrement des colonies bactériennes sur les différents milieux de culture. Les résultats sont représentés dans le (tableau16) :

Tableau 16 : le dénombrement des colonies bactériennes

| P | Gélose nutritive | Gélose Chapman | Gélose Mac Conkey | Gélose Hektoen | Gélose Sabouraud |
|-----------|---|-----------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|
| 1 | >300 U.F.C | / | / | / | / |
| 2 | >300 U.F.C | 50 U.F.C | / | / | / |
| 3 | / | / | >300 U.F.C | >300 U.F.C | / |
| 4 | >300 U.F.C | >300 U.F.C | / | / | / |
| 5 | 158 U.F.C | Contamination | / | >300 U.F.C | / |
| 6 | >300 U.F.C | 192 U.F.C | / | / | / |
| 7 | / | >300 U.F.C | >300 U.F.C | / | / |
| 8 | >300 U.F.C | >300 U.F.C | >300 U.F.C | / | / |
| 9 | >300 U.F.C | / | >300 U.F.C | / | / |
| 10 | >300 U.F.C | 130 U.F.C | / | / | / |
| 11 | >300 U.F.C | >300 U.F.C | / | / | / |
| 12 | >300 U.F.C | >300 U.F.C | / | / | / |
| 13 | >300 U.F.C | >300 U.F.C | / | / | / |
| 14 | Sur Gélose au Sang >300 U.F.C (indénombrable) | | | | |
| 15 | | | | | |

U.F.C : Unité Formant Colonie.

P : Prélèvement.

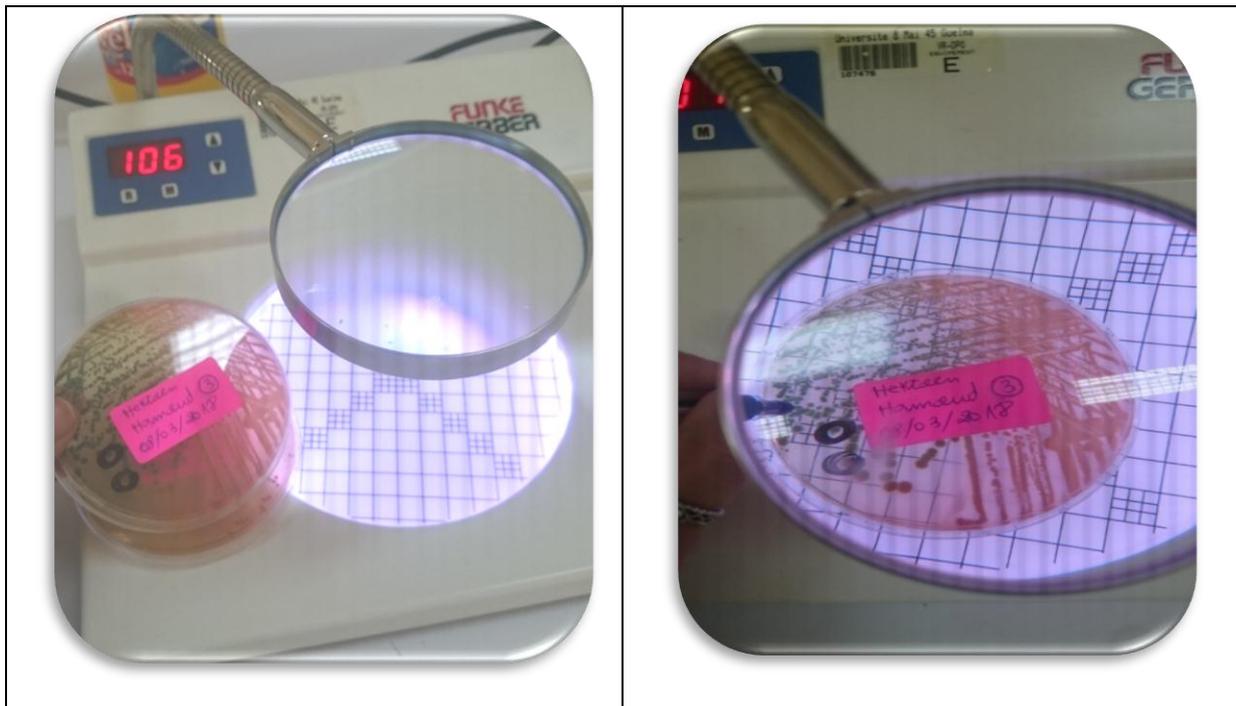


Figure 9: Dénombrement sur Gélose Hektoen (photo personnelle).

4. Examen microscopique

Aspect microscopique des cellules bactériennes (objectif X100)

Après coloration différentielle de Gram, nous avons isolé des cocci, des bâtonnets et des coccobacilles. Les photos qui suivent montrent l'aspect microscopique de quelques bactéries isolées sur les milieux utilisés. Tous les résultats sont résumés dans le (**Tableau17**).

Tableau 17: les résultats des observations microscopiques.

| prélèvement | Gélose nutritive | Gélose Chapman | Gélose Mac-Conkey | Gélose Hektoen | Gélose Sabouraud |
|--------------------|---|---|------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|
| 1 | Cocci Gram (-) de couleur rose | Absence de colonies. | Absence de colonies. | Levure | Absence de colonies. |
| 2 | Cocci Gram (-) de couleur rose | Cocci Gram (+) | Absence de colonies. | Absence de colonies. | Absence de colonies. |
| 3 | Absence de colonies | Absence de colonies | Coco Bacille Gram (-) | Coco Bacille cocci Gram (-) | Absence de colonies. |
| 4 | Cocci Gram (+) de couleur violette | Cocci Gram (+) de couleur violette | Absence de colonies. | levure | Absence de colonies. |
| 5 | Absence de colonies | Cocci Gram (+) | Absence de colonies. | Coco Bacille Gram (-) | Absence de colonies. |
| 6 | Grappe de raisin Gram (+) | Cocci Gram (+) | Absence de colonies. | levure | Absence de colonies. |
| 7 | Absence de colonies | Cocci Gram (+) | Absence de colonies. | Absence de colonies. | Absence de colonies. |
| 8 | Cocci en chaînette Gram (+) | Cocci Gram (+) | Bacille Gram(-) | levure | Cocci Gram (-) de couleur rose |
| 9 | Bacille cocci Gram (+) de | Absence de colonies. | Absence de colonies. | Absence de colonies. | Absence de colonies. |

| | | | | | |
|----|--|--|----------------------|----------------------|----------------------|
| 10 | Bacille Gram (+) | Cocci en amas Gram (+) | Absence de colonies. | Absence de colonies. | Absence de colonies. |
| 11 | Cocci Gram (+) | Cocci en amas Gram (+) | Absence de colonies. | Absence de colonies. | Absence de colonies. |
| 12 | Cocci en amas Bacilles Gram (+) | Grappe de raisin Gram (+) | Absence de colonies. | levure | levure |
| 13 | Cocci Gram (-) | Grappe de raisin Gram (+) | Absence de colonies. | levure | Absence de colonies. |
| 14 | Sur Gélose au sang ; la coloration de Gram apparaît des Cocci en chaînette Gram (+) . | | | | |
| 15 | | | | | |

Ces figures représentent quelques aspects des bactéries après coloration de Gram :

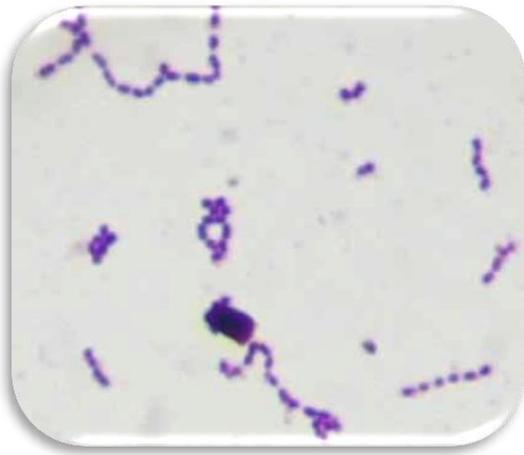


Figure 10: Cocci en chaînette Gram (+).

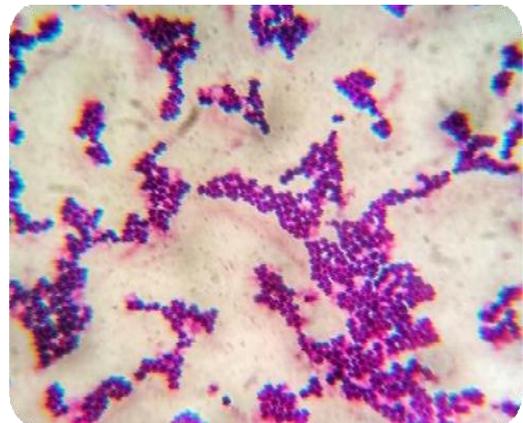


Figure 11: Cocci Gram (+)
(en grappe de raisin).

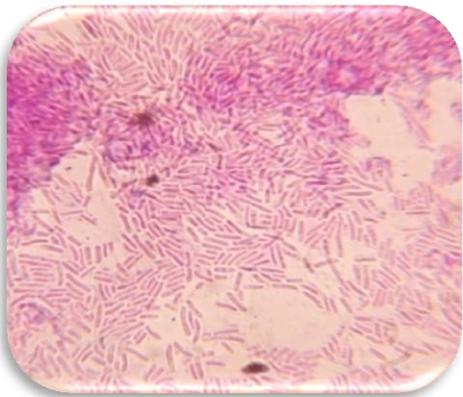


Figure 12: Bacille Gram (-).

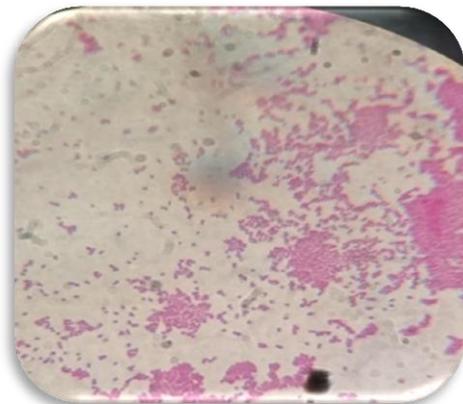


Figure 13: Cocobacille Gram (-)

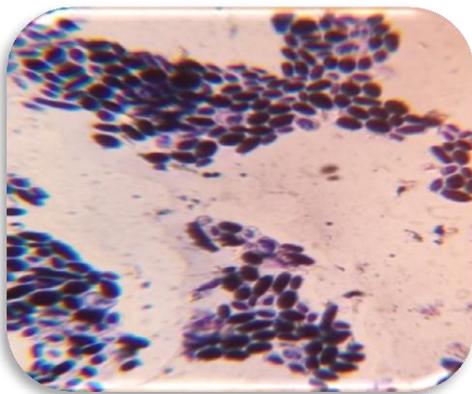


Figure 14: Aspect des levures

5. Tests biochimiques

On à effectuer les tests (Oxydase, Catalase, Coagulase) sur les souches, Ces **Figures** représentent les caractères Oxydase, Catalase chez les bactéries isolées.



Figure 15: Oxydase (+)



Figure 16: Oxydase (-)



Figure 17:Catalase (+)



Figure 18: Catalase (-).

Résultat de test Coagulase

Les staphylocoques à coagulase positive, sont les bactéries qui se présentent sous forme de Cocci à Gram positive, sphériques, isolées ou regroupées formant ainsi des grappes de raisin. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs, possédant l'enzyme catalase et la coagulase, La mise en évidence de la coagulase libre permet la différenciation des espèces du genre *Staphylococcus*. En effet, seule l'espèce *Staphylococcus aureus* peut posséder cette enzyme qui joue un rôle important dans le pouvoir pathogène de la bactérie, les résultats du test coagulase sont représentés dans le Tableau ci-dessus.

Tableau 18 : Résultats du test coagulase.

| Prélèvements | Milieu de culture | Observation |
|--------------|-------------------------|-------------|
| P 1 | Chapman | (+) |
| P 2 | Chapman | (-) |
| P 3 | Chapman | (-) |
| P 4 | Chapman | (+) |
| P 5 | Chapman (repiqué de GN) | (-) |
| P 6 | Chapman | (-) |
| P 8 | Chapman | (+) |
| P 9 | Chapman (repiqué de GN) | (-) |

| | | |
|-------------|---------|-----|
| P 10 | Chapman | (+) |
| P 11 | Chapman | (+) |
| P 12 | Chapman | (-) |
| P 13 | Chapman | (+) |



Figure 19: test coagulase positif correspondant aux P13 de Chapman (*S. aureus*).

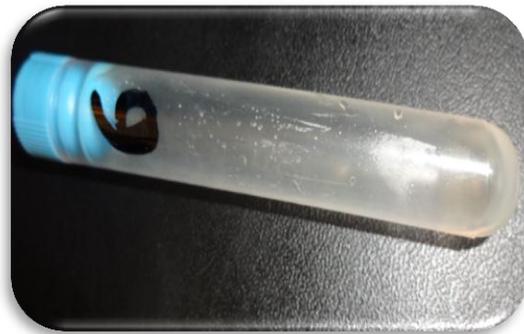


Figure 20: test coagulase négative correspondant aux P6 de Chapman (*S. xylosum*).

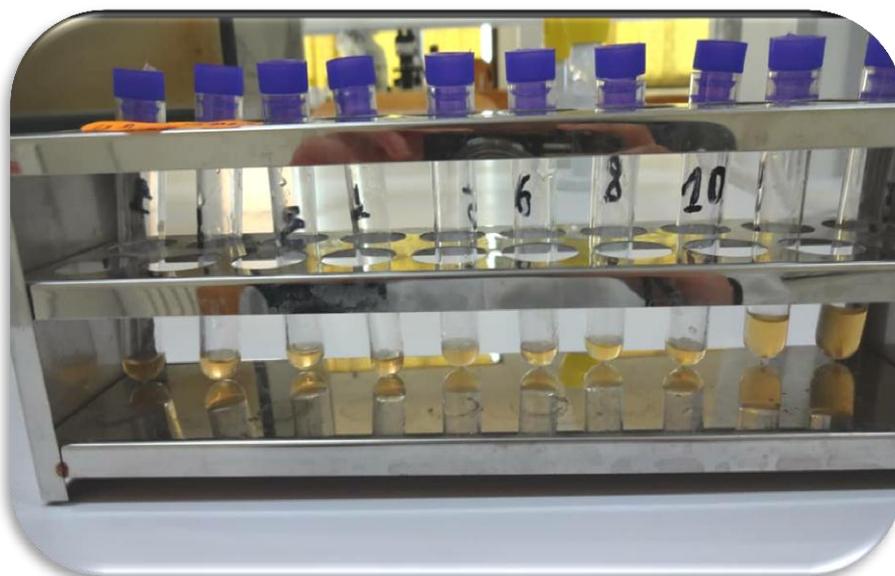


Figure 21: représentent les tests de coagulase.

6. Résultat de l'enrichissement et la purification (repiquage)

Dans le but d'obtenir des souches pure, car dans la plupart cas on trouve un mélange de bacille et de cocci et de Gram(+) et Gram(-), on fait une série de repiquage dans le même milieu pour les milieux sélectif et dans un autre milieu pour les milieux ordinaire. Aussi pour la réalisation de la galerie API ou la galerie classique il faut avoir une culture d'au moins de 24 h.

A- Les résultats d'enrichissement de l'Hektoen

Aspect macroscopique

- Virage de couleur de milieu vers l'orangé.
- Présentent différentes formes de colonies (grandes et petites).
- Indénombrable.
- Opaques Crémées bombées et plates.
- La couleur des colonies : jaune vers l'orangé.

Aspect microscopique

- Bacille Gram (-).

B- Le repiquage des souches

Les Grams négatif de GN dans le Mac Conkey et Gram positif dans le la Gélose Chapman.

- Dans la gélose Mac Conkey

Une culture négative à partir des GN 11 et 12. Une pousse dans la GN 13 : après la coloration de Gram on note une présence des bacilles à Gram négatif.

-Dans la gélose Chapman

A partir des GN 9, 11, 12 et 13 on note la présence de petites colonies rondes, jaunes et blanches. Après coloration de Gram on note la présence de cocci Gram positif entassées en amas.

L'observation microscopique des colonies isolées à partir de la gélose Sabauraud (prélèvement 8) a donnée des bacilles et des coccobacilles à Gram négatif.

Ci-joint quelques photos présentant les résultats du repiquage dans le tableau ci-dessus:

Tableau 19: les résultats des repiquages.

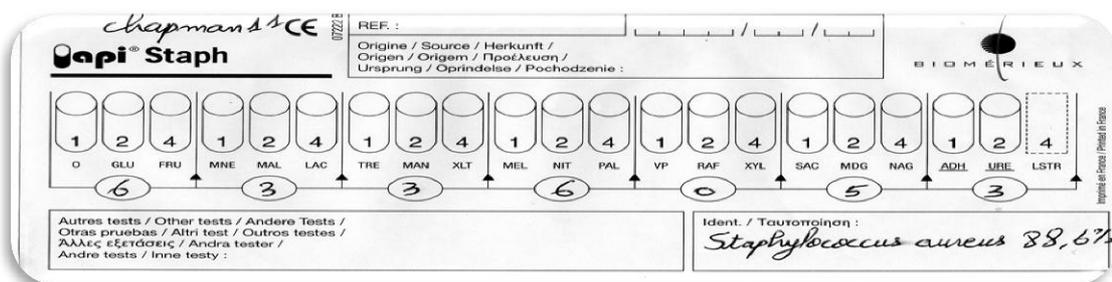
| | |
|--|---|
|  |  |
| GN 11 et 12 dans la Gélose Mac Conkey | |
|  |  |
| Hek 3 après enrichissement | GN dans la gélose Chapman |

7. Identification biochimique

Nous avons utilisés cinq types de galeries: API 20 E, API 20 NE, API Staph, API Strep et Galerie classique (**les Figures ci-dessus**). Après la préparation et l'incubation des galeries, nous avons observé plusieurs cellules bactériennes différentes.



Figure 22: Galerie API Staph avant et après incubation (depuis la gélose Chapman P 11: *S.aureus*)



| IDENTIFICATION ACCEPTABLE | | | |
|-----------------------------------|--|------------|----------------------|
| Galerie | API STAPH V4.1 | | |
| Profil | 6 3 3 6 0 5 3 | | |
| Note(s) | POSSIBILITE DE <i>S.intermedius</i> SI VÉTÉRINAIRE | | |
| Taxons significatif(s) | % ID | T | Test(s) à l'encontre |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 88.6 | 0.77 | LAC 88% VP 78% |
| Taxon suivant | % ID | T | Test(s) à l'encontre |
| <i>Staphylococcus hominis</i> | 5.2 | 0.75 | |
| Test(s) complémentaire(s) | JAUNE | TURANOSEac | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | +(-) | +(-) | |
| <i>Staphylococcus intermedius</i> | - | - | |

Figure 23 : Profil numérique de *Staphylococcus aureus*.

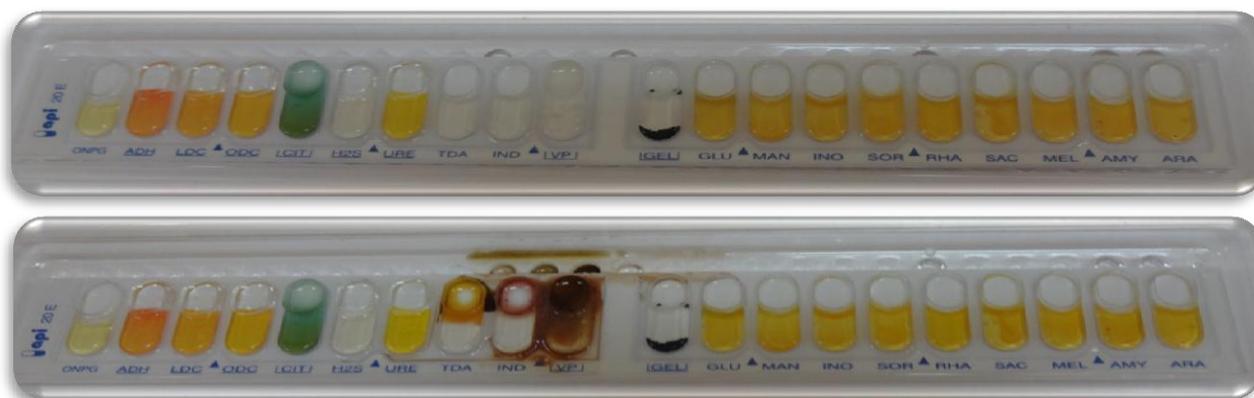


Figure 24: Galerie API 20 E après incubation (depuis Mac 8).

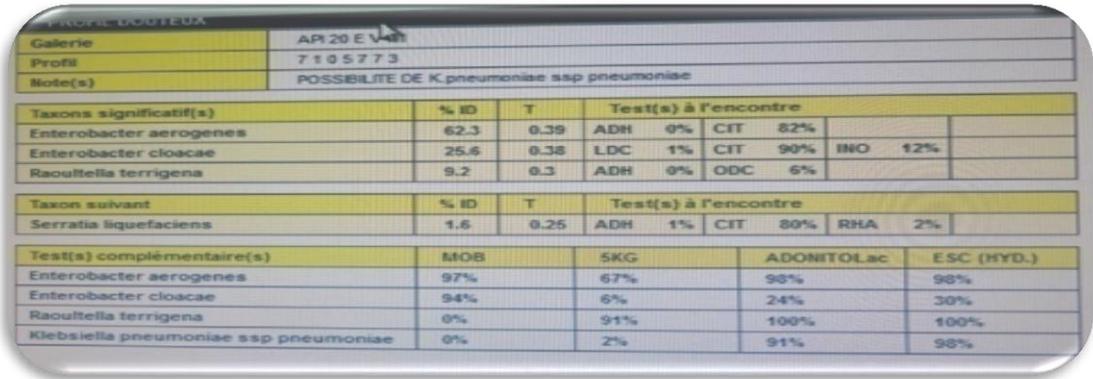
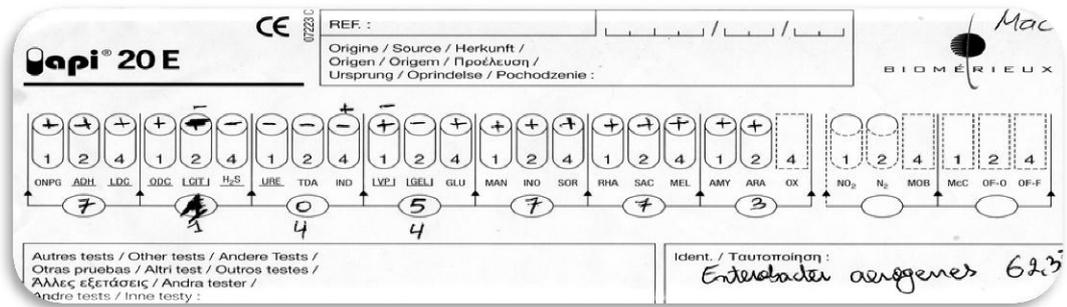


Figure 25 : Profil numérique d'Enterobacter aerogenes.



Figure 26: Galerie API Strep avant et après incubation :(depuis Gélose au sang 15).

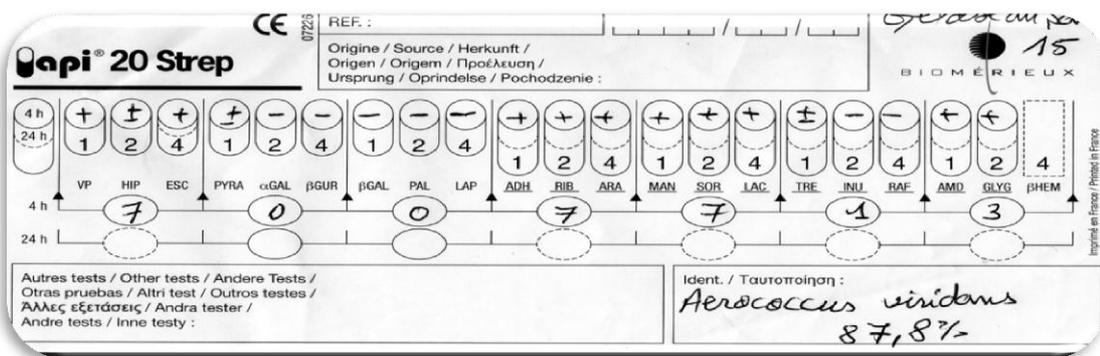


Figure 27 : Profil numérique d'Aerococcus viridans.



Figure 28 : Galerie API 20 NE après incubation depuis Hektoen 3.

API 20 NE

REF : _____

Origine / Source / Herkunft /
Origen / Orígen / Προέλευση /
Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

Hektoen 3
BIOMÉRIEUX

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|--|
| 24 h | + | - | - | + | - | + | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | | |
| 48 h | + | - | - | + | - | + | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | | |
| | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | |
| | NO ₃ | TRP | GLU | ADH | URE | ESC | GEL | PNP | [GLU] | [ARA] | [MNE] | [MAN] | [NAG] | [MAL] | [GNT] | [CAP] | [ADI] | [MLT] | [LIT] | [EAG] | OX | |
| 24 h | 1 | | | 3 | | | 3 | | | 1 | | | 0 | | | 0 | | | 0 | | | |
| 48 h | 1 | | | 3 | | | 3 | | | 1 | | | 0 | | | 0 | | | 0 | | | |

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
Pasteurella pneumotropica

API 20 NE V7.0

REFERENCE: _____ DATE: 10/05/18

COMMENTAIRE: _____

PROFIL INACCEPTABLE

| | | | | | | | | | | | |
|---------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| Galerie | API 20 NE V7.0 | | | | | | | | | | |
| Profil | 1 3 3 1 0 0 0 | | | | | | | | | | |
| Note(s) | ID. NON VALIDE AVANT 48 H D'INCUBATION ! | | | | | | | | | | |
| | ID NON VALIDE AVANT 48H/POSSIBILITE DE Eik corrodens | | | | | | | | | | |

| Taxons significatif(s) | % ID | T | Test(s) à l'encontre | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------|------|---|----------------------|----|-----|-----|------|----|------|-----|--|--|--|--|--|--|
| Pasteurella pneumotropica | | | ADH | 0% | GEL | 0% | ARAa | 1% | OX | 84% | | | | | | |
| Pasteurella spp | | | ADH | 2% | URE | 1% | GEL | 1% | PNPG | 4% | | | | | | |
| | | | ARAa | 1% | OX | 87% | | | | | | | | | | |

| Taxon suivant | % ID | T | Test(s) à l'encontre | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|------|---|----------------------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|--|
| Chryseobacterium indologenes | | | NO3 | 20% | TRP | 81% | ADH | 0% | ESC | 98% | | | | | |
| | | | PNPG | 22% | ARAa | 12% | OX | 99% | | | | | | | |

Figure 29 : Profil numérique de *Pasteurella pneumotropica*.

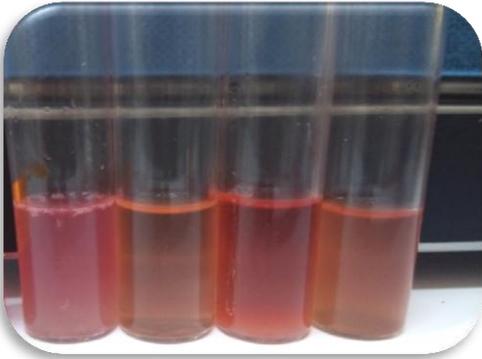
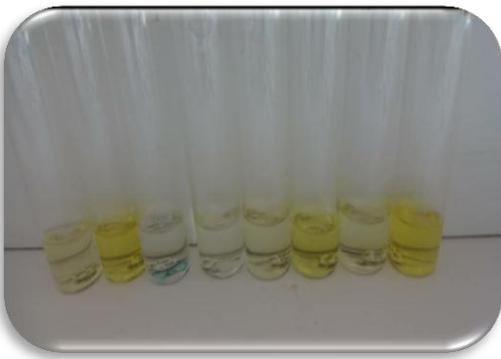
Les résultats de Galerie classique sont résumés dans le (tableau 20).

Tableau 20: les Résultat des Galerie classique

| Prelevement | Mannitol mobilité | | TSI | | | | | Uréase | Indole | Nitrate réductase | Citrate | Clark et lubs | | ONPG |
|--------------------|-------------------|----------|------------------|-----|--------|-----|-----|--------|--------|-------------------|---------|---------------|--------------------|------|
| | mannitol | mobilité | H ₂ S | Gaz | sucres | | | | | | | vp | RM | |
| | | | | | Lac | Sac | Glu | | | | | | | |
| P3 (Mac) | - | - | + | +/- | + | + | + | + | +/- | / | +/- | +/- | +/- | |
| P3(Hektoen) | - | - | + | +/- | + | + | + | + | +/- | / | +/- | +/- | +/- | |
| P5 (Hektoen) | - | - | +- | +/- | + | + | + | + | +/- | / | +/- | +/- | +/- | |
| P8 (Mac) | + | + | - | - | + | + | + | + | +/- | + | +/- | +/- | +/- | |
| P7(Mac) | + | + | - | - | - | + | + | - | +/- | + | +/- | - | + | |
| + : Positif | | | | | | | | | | | | | - : Négatif | |

Ci-joint quelques Figures présentent dans le tableau ci-dessus, correspondant aux résultats de la galerie classique (la plupart de réactifs VP, RM. Kovacs sont périmés, le zinc pour confirmation des nitrates réductases est déficient).

Tableau 21: les résultats macroscopiques de la galerie classique.

| | |
|---|--|
|  |  |
| <p>Résultat de l'indole</p> | <p>Résultat de l'ONPG</p> |
|  |  |
| <p>Résultat de la galerie classique isolée à partir de la gélose Hektoen 5 et de Mac Conkey 7</p> | |
|  |  |
| <p>Résultat de la galerie classique isolée à partir de la gélose Mac 8 et de Mac(GN13)</p> | |

- La recherche des Salmonelles et Shigelles dans leurs milieux sélectifs est négative.
- La recherche de *Pseudomonas* dans leur milieu sélectif est aussi **négative**.

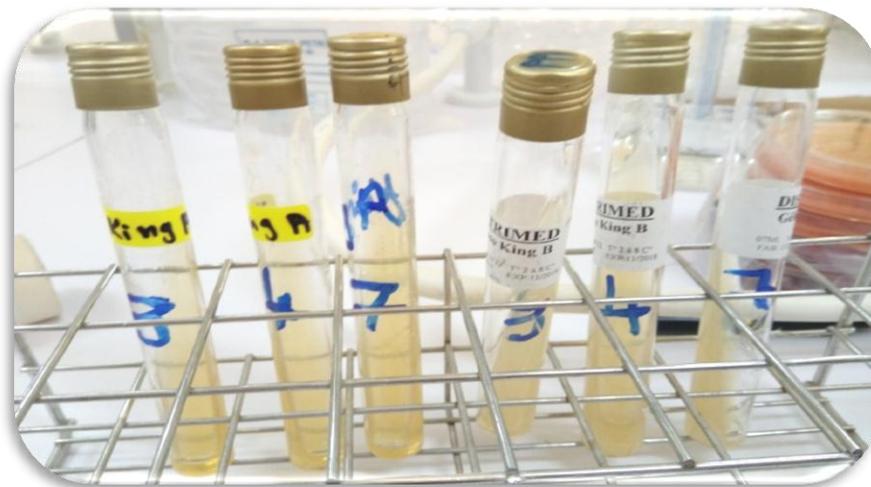


Figure 30 : Recherche de *Pseudomonas* dans leur milieu King A et King B

8. Antibiogramme

Après incubation sur milieu Muller-Hinton à 37C° pendant 24h, nous avons obtenus les résultats résumés dans le tableau suivant.

Tableau 22 : les résultats d'antibiogramme.

| Antibiotique Souches | AMC | VA | P | C | CN | AT | NO | OF | R | E |
|---------------------------------------|------------|-----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| <i>Enterobacter sakasakii</i> | 15 R | / | 11 R | 24 S | / | / | 22 S | 30 S | 30 S | / |
| <i>Serrastia liquefacious</i> | 19 I | / | 9 R | - | / | / | 17 S | 20 S | 16 I | / |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | 18 I | / | - | 20 R | / | / | 20 S | 36 S | 25 S | / |
| <i>Pasteurella pneumotropica</i> | 20 I | / | 10 R | - | / | / | 15 R | 25 | 16 I | / |
| <i>Enterococcus faeuim</i> | 18 I | 22 S | - | 23 S | 44 S | 40 S | - | 32 S | 20 S | / |
| <i>Aerococcus viridians</i> | 16 S | 21 S | - | / | / | / | / | / | / | 8 R |
| <i>Aerococcus viridians</i> | 17 I | 20 S | - | / | / | / | / | / | / | 11 S |

Chapitre IV: Résultats et discussion

| | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 20 I | 10 R | - | 29 S | - | 12 R | 40 S | 50 S | 9 R | / |
| <i>Staphylococcus chromogenes</i> | 14 R | 17 S | 6 R | 12 R | 15 | 7 R | - | 25 | - | / |
| <i>Staphylococcus hominis</i> | 18 I | 22 S | - | 22 I | 44 S | 40 S | - | 32 S | 20 S | / |
| <i>Staphylococcus xylosus</i> | 21 I | / | - | - | / | / | 8 R | 31 S | - | / |
| <i>Pasteurella pneumotropica</i> | 12 R | / | - | 20 I | / | / | 18 S | 52 S | 11 R | / |

R:Résistante.

S : Sensible.

I : Intermédiaire.

AMC: Amoxicilline

AT: Azithromysine

NO: Nitrofurantoine

VA: Vancomysine

OF: Ofloxacine

P: Penicillin (G)

C: Chloramphenicol

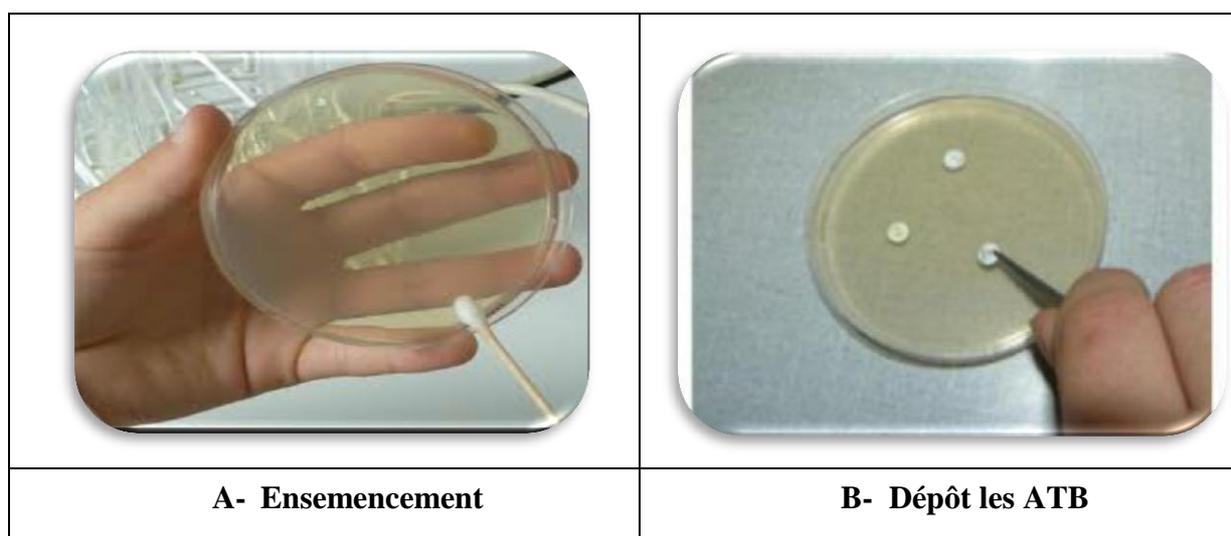
CN: Céfalexine

E: Erythromycine

R: Rifamycine.

- Ce tableau représente les résultats des antibiogrammes réalisés au niveau du laboratoire.

Tableau 23: Aspect macroscopique d'antibiogramme.



| | |
|--|--|
|  |  |
| <p>Chapman 10 (négative)</p> | <p>Chapman 8 (<i>S.hominis</i>)</p> |
|  <p>C-lecture les ATB</p> | |
|  |  |
| <p>Aspect sur gélose Chapman 10</p> | <p>Aspect sur gélose Hektoen 3</p> |

Tableau 24 : Résultats obtenus pendant notre étude pratique.

| Prélèvement | État frais | Coloration de Gram | Milieu d'isolement sélectif | Test biochimique | | | | Type respiratoire | Galerie utilisé | Identification biochimique |
|-------------|------------|--------------------|-----------------------------|------------------|----------|-----------|----------|----------------------------|-----------------|----------------------------------|
| | | | | Oxydase | Catalase | Coagulase | Mannitol | | | |
| (2) | Immobile | Cocci Gram+ | Chapman | (-) | (+) | (-) | (+) | Aero-anaérobie facultative | API Staph | <i>Staphylococcus warneri</i> |
| (3) | immobile | Coccobacille Gram+ | MacConkey | (+) | (+) | / | / | Anaérobie Strict | API 20NE | <i>Pasteurella pneumotropica</i> |
| | | Coccobacille Gram+ | Hektoen | (+) | (+) | / | / | Anaérobie Strict | API 20 E | <i>Pasteurella pneumotropica</i> |
| (5) | Immobile | Bacille Gram (-) | Chapman (repiqué de GN) | (-) | (+) | / | / | Aérobie strict | API Staph | <i>Micrococcus spp</i> |
| | | Coccobacille Gram- | Hektoen | (+) | (+) | / | / | Anaérobie Strict | API 20 NE | <i>Pasteurella pneumotropica</i> |
| (6) | Immobile | Cocci Gram+ | Chapman | (-) | (+) | (-) | (+) | Aero-anaérobie facultative | API Staph | <i>Staphylococcus xylosum</i> |
| (7) | Mobile | Bacille Gram (-) | MacConkey | (-) | (+) | / | / | Aero-anaérobie facultative | API 20 E | <i>Serratia liquefaciens</i> |
| (8) | Mobile | Bacille Gram (-) | Mac (repiqué de Sabouraud) | (-) | (+) | / | / | anaérobie facultative | API 20 E | <i>Enterobacter aerogenes</i> |
| | Immobile | Cocci Gram+ | | (-) | (+) | (-) | (+) | Aero-anaérobie facultative | API Staph | <i>Staphylococcus hominis</i> |
| (8) | immobile | Cocci Gram+ | Gélose au Sang | (-) | (-) | / | / | Aéro-anaérobie facultative | API Strep | <i>Enterococcus faecium</i> |

Chapitre IV: Résultats et discussion

| | | | | | | | | | | |
|------|----------|-------------|----------------|-----|-----|-----|-----|----------------------------|-----------|-----------------------------------|
| (9) | Immuable | Cocci Gram+ | Chapman | (-) | (+) | (-) | (+) | Aéro-anaérobie facultative | API Staph | <i>Staphylococcus hominis</i> |
| (10) | Immuable | Cocci Gram+ | | (-) | (+) | (+) | (+) | | | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| (11) | Immuable | Cocci Gram+ | | (-) | (+) | (+) | (+) | | | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| (12) | Immuable | Cocci Gram+ | | (-) | (+) | (-) | (-) | | | <i>Staphylococcus chromogenes</i> |
| (13) | Immuable | Cocci Gram+ | | (-) | (+) | (+) | (+) | | | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| (14) | immuable | Cocci Gram+ | Gélose au Sang | (-) | (-) | / | / | Aéro-anaérobie facultative | API Strep | <i>Aerococcus viridans</i> |
| (15) | immuable | Cocci Gram+ | | (-) | (-) | / | / | | | <i>Aerococcus viridans</i> |

Note : le prélèvement **(1)** est négatif.

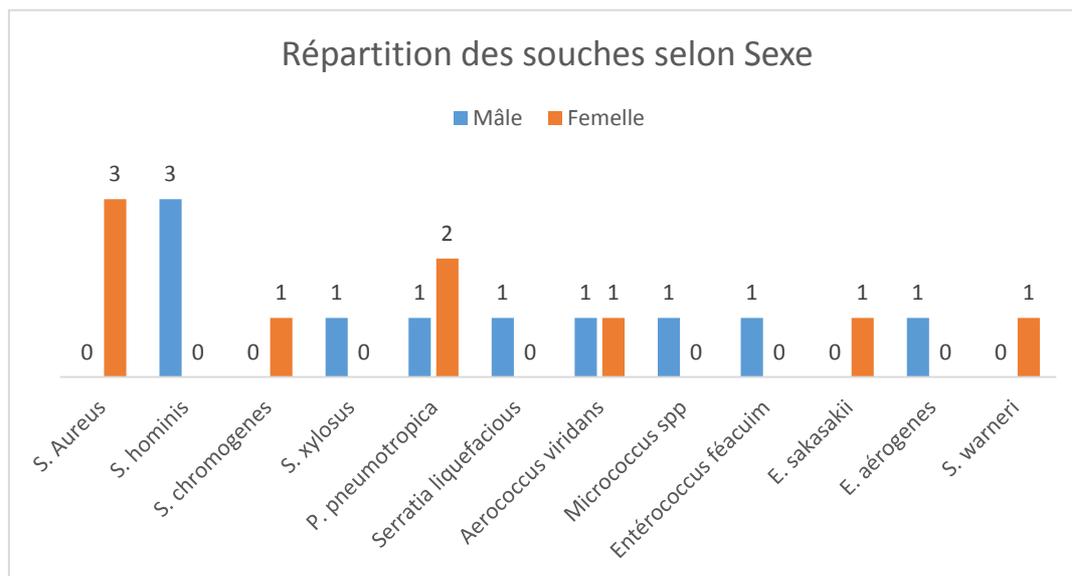
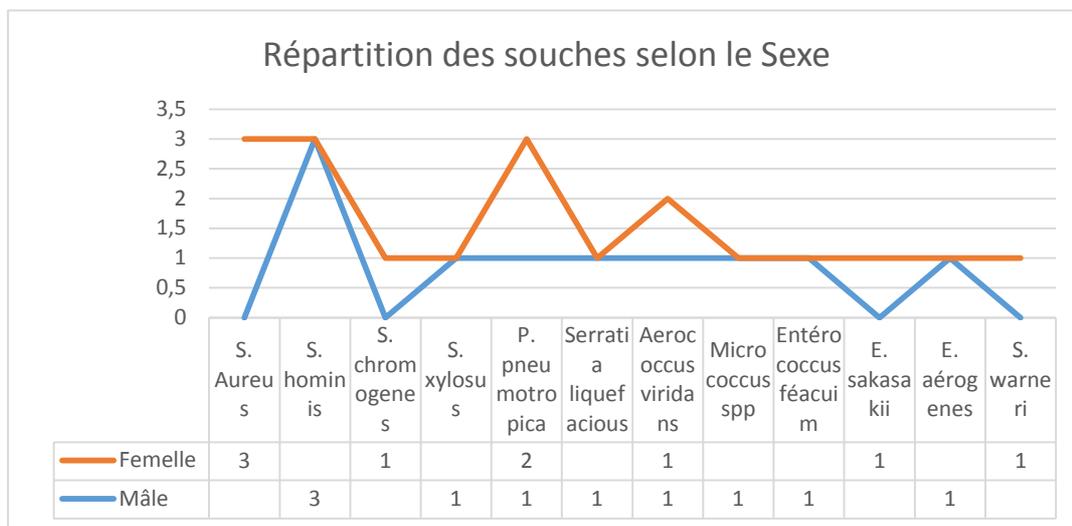


Figure 31 : Répartition des souches selon le Sexe.

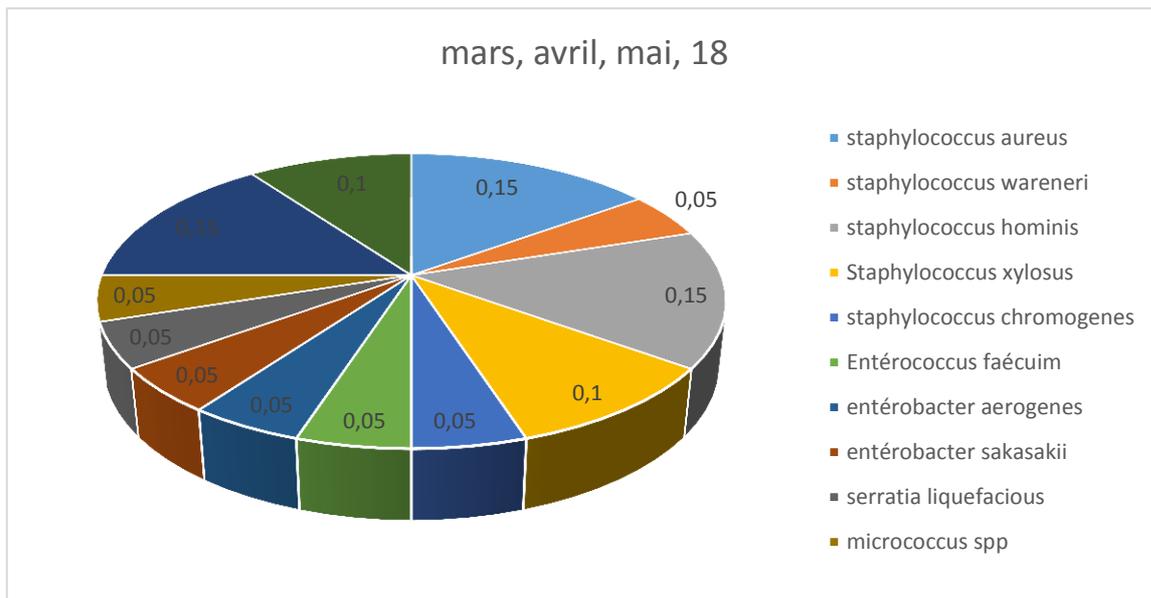


Figure 32: Pourcentage des Souches identifiées

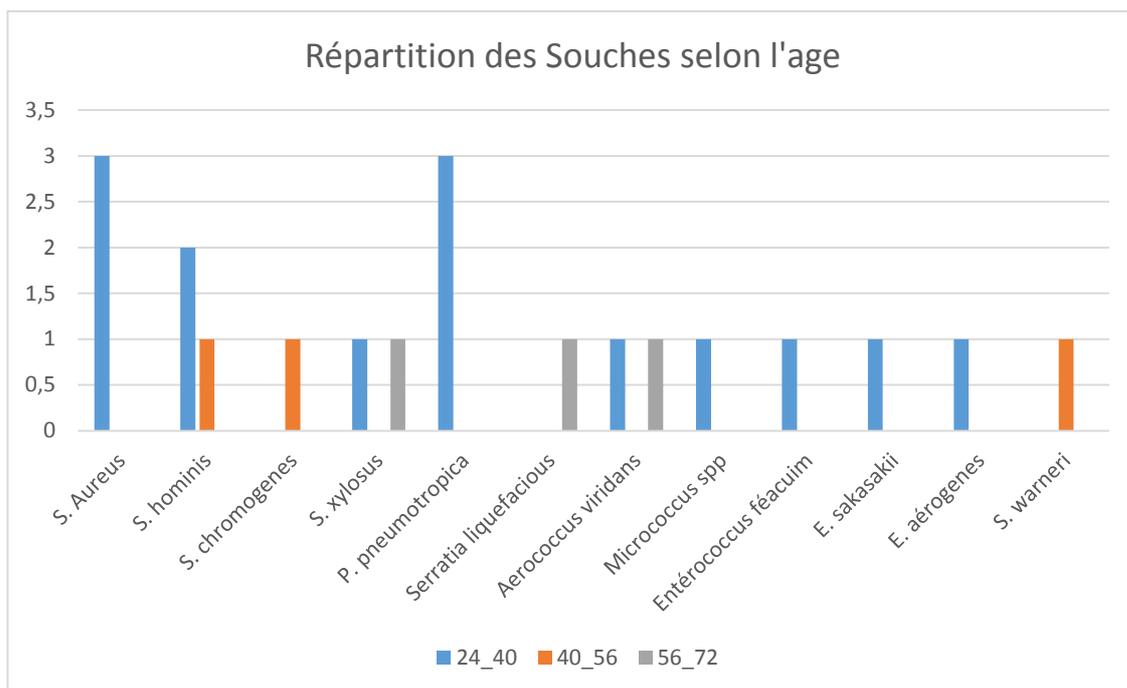


Figure 33: Répartition des Souches selon l'âge

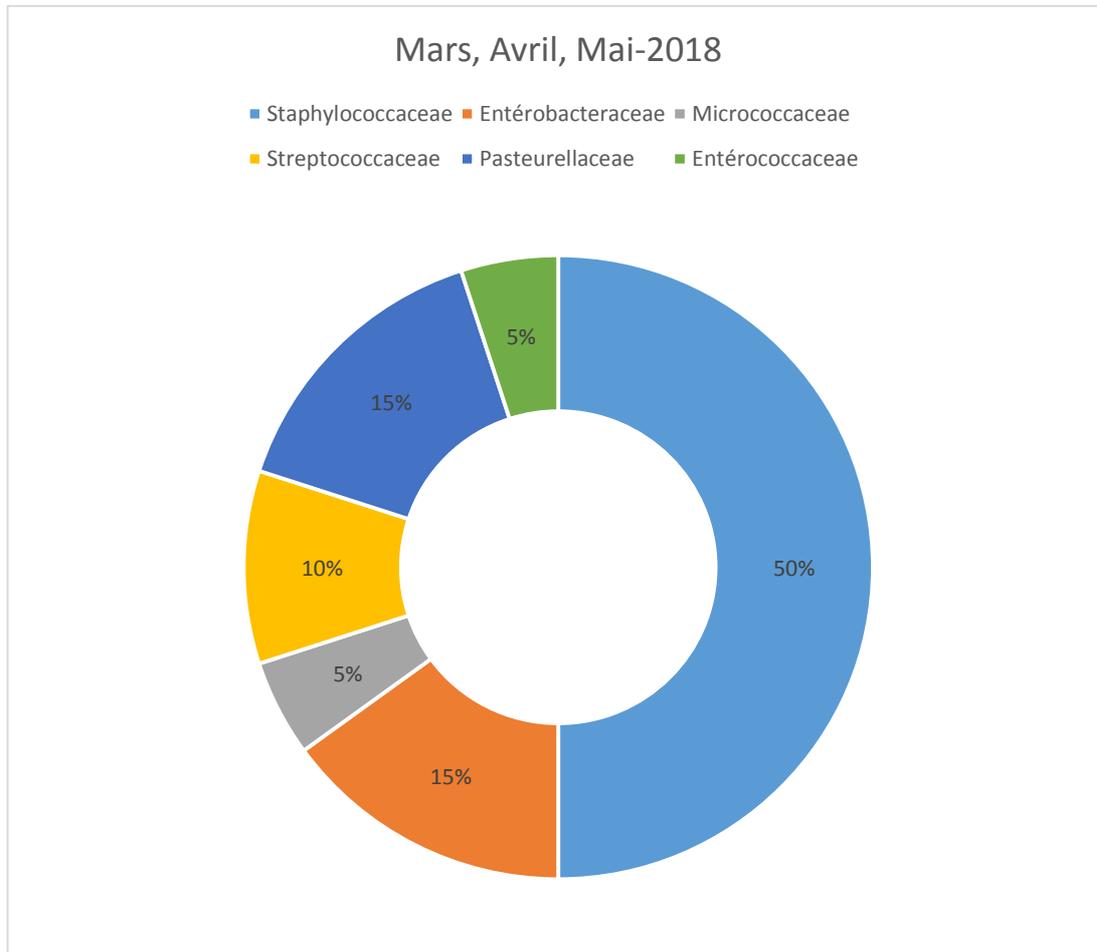


Figure 34 : Pourcentage des Familles identifiées

Discussion

Notre étude basée sur l'isolement et l'identification des microorganismes responsables des maladies buccodentaires notamment de la carie dentaire est effectuée dans les cabinets de chirurgiens dentaires privés de la ville de Guelma.

Ce travail a concerné 15 adultes (8 hommes soit 53% et 7 femmes, soit 47%) âgés de 24 à 66 ans. 7 personnes (46%) appartiennent à la tranche d'âge 24-40 ans et 4 personnes (27%) sujets sont âgés de 40-56 ans et 4 personnes (27%) appartiennent à la tranche d'âges 56-72. La tranche d'âge de 24-40 ans est la plus représentée dans cette étude. Elle constitue 47% pour la population indemne de caries. L'explication plausible de la haute prévalence des caries chez cette tranche d'âge réside dans le fait que les habitudes alimentaires ont été modifiées. Les gens qu'au lieu de consommer équilibré, préfèrent beaucoup plus les produits riches en colorants et de ce fait, modifient constamment l'équilibre basique du milieu buccal et engendrent la déminéralisation des dents.

L'analyse macroscopique des bactéries isolée a montré une grande variété de formes et d'aspects des colonies qui ont poussés sur les cinq géloses utilisées pour l'isolement (la gélose nutritive, la gélose Chapman, la gélose Mac-Conkey, la gélose Hektoen et Sabouraud). Ce dernier n'a permis la pousse que d'une seule souche *Enterobacter aerogenes*.

L'analyse microscopique de tous les prélèvements des caries dentaires révèle aussi un polymorphisme de la flore bactérienne. La coloration de Gram a montré la présence des Gram négatifs et des Gram positifs et de multiples formes allant des cocci aux bacilles et passant par les cocobacilles et même des fois des levures qui apparaissent principalement sur le milieu Hektoen (à partir de prélèvement 1, 4, 6, 8, 12 et 13). Ceci est dû soit à des contaminations suite aux conditions d'asepsie dans le site d'isolement et d'incubation de notre prélèvement ou au développement des mécanismes d'adaptation des différents germes sur les milieux sélectif.

Les bactéries ont été cultivées, repiquées et identifiées grâce à l'étude de leurs arsenaux enzymatiques et biochimiques. Au total 12 espèces ont été isolées appartenant cinq familles. L'étude de leurs sensibilités aux différents antibiotiques utilisés est considérée comme un critère ultime d'identification pour les bactéries anaérobies et anaérobies facultatives. Les résultats des études microscopiques par coloration de Gram, des tests biochimiques (catalase, oxydase, des plaques API et Galerie biochimique classique).

Les Cocci Gram positif aérobies et aéro-anaérobies facultatifs ont été isolés après mise en culture des prélèvements en aérobiose sur gélose au sang et sur gélose Chapman (pour les staphylocoques) à 37°C pendant 24 heures. Les bactéries ont subi un test de catalase. Les cocci Gram(+) à catalase (+) ont été identifiés par le biais des mini-galeries API 20 Staph et les cocci Gram (+) à catalase (-) ont été identifiés à l'aide des mini-galeries API 20 Strep.

L'identification biochimique par l'utilisation des galeries classiques et des tests complémentaires a pour but de confirmer certains cas surtout *Pasteurella pneumotropica* et *Serratia liquifasciens*

Les résultats de notre étude nous montrent l'abondance des cocci Gram positif aéroanaérobie facultatif dans la carie dentaire avec une prédominance du genre *Staphylococcus* qui a isolé plusieurs espèces telles *S. aureus* qui a été trouvé avec un pourcentage de 15% parmi les souches identifiées surtout chez les femmes appartenant à la tranche d'âge 24-40. Les autres *Staphylococcus* isolés sont : *S. hominis*, *S. chromogenes*, *S. xylosus* et *S. warneri*.

Les Streptocoques buccaux sont souvent organisés en quatre groupe : les mutans, les salivaires, les angmcesus et les mutis (Cuillaume et Marc, 2011). Nous avons trouvé seulement 2 espèces appartenant à la famille de Streptococcaceae, *Aerococcus viridans* isolé à partir des prélèvements 14 et 15 sur le milieu gélose au sang. *Enterococcus faecium* qui est anciennement appelé *Streptococcus faecium* fait partie de la flore normale de la cavité buccale. *E. faecium* est connu par son pouvoir acidogène et acidurique et il n'est généralement pas visible dans la cavité buccale humaine (Tanzer *et al.*, 2001) jusqu'à ce que les études de Reyes *et al.*, en 2012 qui a rapporté son isolement dans la cavité buccale des personnes cariées. A citer, néanmoins des travaux algériens très récents ont aussi rapportés la présence de cette bactérie chez les sujets cariées (Hoceini *et al.*, 2016). Les *Pseudomonas* ont été isolés et les *Salmonella* et les *Shigella* n'ont pas été rencontrés.

D'une manière générale, nous avons isolés 12 espèces bactériennes dont la majorité appartient à la famille des Staphylococaceae qui dominent avec un taux de 50%. Elles sont suivies des Enterobacteraceae avec 15%, des Pasteurellaceae avec 15% et des Streptococcaceae avec 10% et enfin des Enterococcaceae et des Micrococcaceae avec des pourcentages faibles avoisinant les 5% chacune.

Les antibiotiques testés dans notre étude sont au nombre 10. Ils sont classés selon les familles pharmacologiques suivantes : les Béta-lactamine : pénicilline G, Amoxilline, acide

clavulatrique(AMC). Les Fluoroquinolones : Ofloxacin(OF), les Phénicolés : chloramphénicol (C), les Céphalosporines : céfalexine (CN), les Monobactams : vancomycine (VA), les Macrolides : azithromycine (AT) et les Nitrofuranes : nitrofurantoin (NO). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques nous a confirmé que parmi les espèces bactériennes isolées, certaines exhibent une sensibilité aux différents antibiotiques utilisés, tels *Enterobacter faecium*. Cette bactérie a été isolée à partir des canines d'un homme de 25 ans.

Nous pouvons aussi constater la présence de nombreux germes dans tous les prélèvements que nous avons effectués. Cette caractéristique peut être expliquée par les contaminations directes ou indirectes dans le laboratoire. Le manque de réactifs et de produits nous a pas permis de pousser la recherche et l'identification plus loin des microorganismes. Il serait préférable de continuer ce travail tout en mettant l'accent sur une recherche poussée en microbiologie et étudier les facteurs de risques pouvant causer cette maladie.

Conclusion

Et

Perspectives

Dans notre travail réalisé au niveau des laboratoires de microbiologie du département de Biologie à l'Université 8 Mai 1945 de Guelma, nous avons isolé et identifié les principales bactéries de la cavité buccale responsables des maladies dentaires dans notre région. Les prélèvements réalisés sur 15 personnes présentant des caries dentaires. Quinze échantillons de dents ont été collectés chez 4 chirurgiens dentistes privés exerçant à Guelma.

Les souches trouvées sont en effet citées depuis longtemps par la littérature scientifique comme des germes responsables de la carie dentaire. L'étude de leurs sensibilités aux antibiotiques a montré que la majorité de ces bactéries isolées ont une résistance importante aux différents antibiotiques utilisés.

D'une manière générale, les souches bactériennes isolées et identifiées appartiennent aux familles des Staphylococcaceae, Micrococcaceae, Enterobacteriaceae, Enterococaceae, Streptococcaceae et Pasteurellaceae. La souche de *Staphylococcus aureus* exhibe les taux de résistances les plus importants ce qui nous montre que le risque des caries dentaire est toujours présent et il constitue un problème énorme de santé publique dans notre région.

Les principales bactéries isolées de ces caries dentaires sont *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus xylosum*, *Micrococcus* spp, *Enterobacter sakasaki*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia liquefaciens*, *Enterococcus faecium*, *Aerococcus viridans* et *Pasteurella pneumotropica*.

Aucun médicament n'existe pour prévenir les caries dentaires. De ce fait, la prévention est en effet le seul moyen de lutter contre ce fléau. Il est donc indispensable de suivre une stratégie efficace de lutte et de prévention contre cette maladie. Elle consiste à une ingestion minimale de saccharose, un brossage quotidien, des rinçages de bouche et des nettoyages des dents au moins deux fois par jour pour enlever les plaques dentaires. L'addition de fluorures dans les pâtes de dentifrice et dans les solutions de rinçage des bouches protègent bien les dents contre les acides lactiques et les acides acétiques réduisant ainsi la cariogénèse.

Il serait préférable de continuer ce travail tout en poussant les investigations microbiologiques et d'étudier les relations entre les différentes espèces de la flore buccale.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

1. Aas, J.A., Griffen, A.L., Dardis, S.R., Lee, A.M., Olsen, I., Dewhirst, F.E., Leys, E.J. and Paster, B.J. (2008). Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *J. Clin. Microbiol.* 46:1407–1417.
2. Afssaps. (2001). *Microbiologie des infections bucco-dentaires*. Edition Dunod.
3. Ait Kaci, S. and Hamdi, M.S., (2008). *Contribution à l'étude des paramètres physico-chimiques et bactériologiques de l'embouchure de l'oued "Béni-Messous"*. Mémoire de DEUA en science de la mer. (I.N.S.M.A.L).
4. André Luiz Barbagallo. (2012). *Etude de la diversité microbienne sous gingivale chez des patients diabétiques*. Faculté De Médecine Dentaire Université Laval Québec.
5. Axelsson, P. (2000). *Prediction of caries risk and risk profiles in Diagnosis and risk prediction of dental caries*. Quintessence Books vol. 2.
6. Azizi, D. (2006). *Cours national de microbiologie des eaux et des aliments*. Institut Pasteur d'Algérie.
7. Bass, W.M. (2005). *Human osteology - A laboratory and field manual*. Missouri Archaeological Society, 5th edition.
8. Bauer, T.T., Torres A., Ferrer R., Heyer C.M., Schultze-Werninghaus G. and Rasche K. (2002). *Biofilm Formation in Endotracheal Tubes*. Association between Pneumonia and the Persistence of Pathogens. *Monaldi Archives for Chest Disease*. 57: 84-87.
9. Beauthier, J.P. (2007). *Traité de médecine légale*. Bruxelles. Editions De Boeck Université.
10. Bouchard, P. (2015). *Odontologie Parodontologie Dentisterie implantaire*. Vol.1. médecine parodontale, Lavoisier Paris.
11. Boulkroune, H. (2008). *Contribution à l'étude biologique du pouvoir auto-épurateur de l'eau : cas du marais d'El-Kennar*. Mémoire de Magister. Université de Jijel. 119p.
12. Bousseboua, H. (2003). *Cours de microbiologie générale*. Université Mentouri Constantine. page:28-12 ISSN : 9947-0-0192-3
13. Bowden, G.H.W. and Li, Y.H. (1997). Nutritional influences on biofilm development. *Adv Dent Res.*, 11: 81-89.
14. Burne, R.A., Zeng, L., Ahn, S.J., Palmer S.R., Liu Y and Lefebure T. (2012). Progress dissecting the oral microbiome in caries and health. *Advances in Dental Research* 2012, 24:77–80.
15. Carbonnelle, D. and Kouyoumdjian, S. (1988). Bactériologie médicale techniques usuelles. *Méd. Mal. Inf.* 251 p.
16. Carlsson, P., Olsson, B and Bratthall, D. (1985). The relationship between the bacterium *Streptococcus mutans* in the saliva and dental caries in children in Mozambique. *Arch Oral Biol* 30:265-268.

Références bibliographiques

17. Cavézian, R., Pasquet, G., Bel, G. and Baller, G. (2006). *Imagerie dento-maxillaire, approche radioclinique*. Elsevier Masson, Paris, 3e édition.
18. Chardin, H., Barsotti, O., and Bonnaure-Mallet, M. (2006) *Microbiologie en odontostomatologie*. Paris: éditions Maloine.
19. Chringle. (2011). *Les milieux de culture en bactériologie* Flammarion
20. De La Dure-molla, M., Naulin-ifi, C and Eid-blanchot, C.(2012). "Carie et ses complications chez l'enfant".[Article 28-260-P-10]. *EMC-Médecine buccale*. 7 (5) :1-11.
21. Decoster. (2008). *Les streptocoques* - Cours de Anne Decoster, FLM, page : 1 ; 6. Delarras C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire*. Lavoisier. Editions TEC and DOC.
22. Devals, A. (2003). *Le conseil du pharmacien d'officine dans le domaine bucco dentaire*. Thèse de Docteur en Pharmacie. Toulouse : Université Paul Sabatier.
23. Djossou, D., Nancy, J., Houinato, D and Lanchoessi, D. (2015). Prevalence of dental caries in school in the city of Ouidah in 2013. *Odontostomatol Trop*. 15-22.
24. Eaton, A.D., Clesceri, L.S. et Greenberg, A.E. (1995). *Méthodes normalisées d'examen des eaux et eaux usées*. 19 e éd. Association américaine de santé publique, Washington, D.C.
25. Fioretti, F and Haïkel, L. (1960). "Caries et sucres." *Médecine des maladies métaboliques*.
26. Fitzgerald, R.J and Keyes, P.H. (1960). Demonstration of the étiologic role of streptococci in experimental caries in hamster. *J Am Dent Assoc.*, 61: 9-19.
27. Foster J.S and Kolenbrander P.E. (2004). Development of a multispecies oral bacterial community in a saliva-conditioned flow cell. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:4340–4348.
28. Frias-Lopez, J., and Duran-Pinedo, A. (2012). Effect of periodontal pathogens on the metatranscriptome of a healthy multispecies biofilm model. *J. Bacteriol.*, 194:2082–2095.
29. Fronty, P., Sapanet, M., Georget, C and Collet, G. (2005). L'identification estimative - Première partie, L'avis de recherche, l'Odontogramme numérique. *Les cahiers d'Odontologie Médico-Légale*, Editions Atlantique.
30. Galmiche, F. (2011). *Le rôle de l'alimentation dans la santé buccodentaire*.
31. Garcia-godoy, FandHicks, M.J. (2011). Maintaining the integrity of the enamel surface: The role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc.*, 139 : 25S-34S.
32. Gendron, R., Grenier, D and Maheu-Robert, L.F. (2000). La cavité buccale: une source de bactéries pathogènes pour les infections à distance. *Journal dentaire du Québec* 37:257-266.
33. Grara Nedjoud, (2001/2002). *Isolement, identification des lactobacilles de la cavité buccale et étude de leur sensibilité aux antibiotiques et à l'hexitidine*. Mémoire de MAGISTER; Page 23, 24, 29, 34

34. Guillaume, G. N. et Marc, C. L.(2011). *Streptococcus mutans et les streptocoques buccaux dans la plaque dentaire*. Rev. can. microbiol. 57 : 1–20.
35. Guillaume, P.Y. (2004). *Les milieux decultures* 32.
36. Guiraud, J. P. (1998). Microbiologie alimentaire. DUNOD. France. 652p.
37. Gunepin, M., Derache, F and .MedArmees, (2015).*Impact du xylitol sur le risque carieux- implications militaires*.
38. Hall-Stoodley, L., Costerton, J.W and Stoodley, P. (2004). *Bacterial biofilms: from the natural world to infectious disease*. Nat. Rev. Microbiol., 2 (2): 95–108.
39. Hess, J.C. (1970). Endodontie : *Notions fondamentales, pathologie* : Edition Maloine S.A., 413 p. 83
40. Hoceini, A., KloucheKhelil, N., Ben-Yelles, I., Mesli, A., Ziouani, S., Ghellai, L., Aissaoui.N., Nas, F and Arab, M. (2016). *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, P720-726
41. Hojo, k., Nagaoka, S., Ohshima, T., and Maeda, N. (2009). *Bacterial interactions in dental biofilm development*. J Dent Res, 88: 982-990.
42. Ingle, NA., Dubey, HV, Kaur, N and Gupta, R. (2014).*Prevalence of dental caries among school children of Bharatpur city, India*. J IntSocPrev Community Dent. 4(1):52-5. doi:10.4103/2231-0762.131267.
43. Jenkinson, H. F., and Lamont, R. J. (2005). *Oral microbial communities in sickness and in health*.Trends in Microbiology, 13:589-595.
44. Joffin, J., J N and Leylor, G. (2001). *Microbiologie technique 1* : dictionnaire des techniques. 3eme éditions ; CRDP d'aquitaine ; page 320.
45. Joseph, P.G., (2003). *Microbiologie alimentaire*, 3^{ème} éditiondunob, paris p 678.
46. Kaqueler, J.C and Lemay, O. (1998). *Anatomie pathologique bucco-dentaire*, 2^{ème}édition.Paris : Masson.
47. Keijser, B.J., Zaura, E., Huse, S.M., van der Vossen, J.M., Schuren, F.H., Montijn, R.C., Ten Cate.JM and Crielaard,W.(2008). *Journal of dental research*.
48. Kerner, S. (2005). *Microbiologie et maladies parodontales*. Le "point de vue" des bactéries.*Information Dentaire* 16:943-946.
49. Kleinberg, I. (2002). A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: An alternative to Streptococcus mutans and the specific-plaque hypothesis. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 13: 108-125.
50. Kohler, B., Pettersson, B., M. and Bratthall, D. (1981). *Streptococcus mutans*in plaque andsaliva and the development of caries. Scand J Dent Res., 89: 19–25.

Références bibliographiques

51. Kolenbrander, P.E., Andersen, R.N., Blehert, D.S., Eglund, P.G., Foster, J.S and Palmer, R.J.Jr. (2002). *Communication among oral bacteria*. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 66:486–505
52. Lakhssassi, N., Elhajoui, N., Lodter, J.P., Pineill, J.L and Sixou, M. (2005). Antimicrobialsusceptibility variation of 50 anaerobic periopathogens in aggressive periodontitis: an interindividual variability study. *Oral microbiolimmunol*. 20 : 244-252
53. Lasfargues, J. et Colon, P. (2009). *Odontologie conservatrice et restauratrice*. Une approche médicale globale. Tome 1. Éd. CdP. Paris. (XXIII-480 p.).
54. Lautrou, A. (1998). *Anatomie dentaire*. Paris, Milan, Barcelone, Editions Masson, 2ⁿ édition.
55. Lebres, E., Azizi, D., Hamza, A., Taleb, F., et Taouchichet, B. (2002). *Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments microbiologie des eaux, des boissons et des produits de la mer*. Institut Pasteur d'Algérie.
56. Lebres, E. (2004a). Entérocoques et Streptocoques. Institut Pasteur d'Algérie.
57. Lebres, E. (2004b). Les *Salmonella*. Institut Pasteur d'Algérie.
58. Lebres, E. (2004c). Identification biochimique des micro-organismes, Institut Pasteur d'Algérie.
59. Lebres et Mouffok F. (2008). Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. *Institut Pasteur d'Algérie*. 53p.
60. Li J., Helmerhorst, E.J., Leone, C.W., Troxler, R.F., Yaskell, T., Haffajee, A.D., Socransky, S.S and Oppenheim, F.G. (2004). *Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm*. J Appl Microbiol. 97: 1311-1318.
61. Lindhe, J. (1986). *Manuel de parodontologie clinique*. CdP Editions.
62. Loesch, W.J., Gusberti, F., Mettraux, T and Higgins, T. (1983). *Relationship between oxygen tension and subgingival bacterial flora in untreated human periodontal pockets*. Infect Immun., 42(2):659-67.
63. Marquis, R. E. (1995). "Oxygen metabolism, oxidative stress and acid-base physiology of dental plaque biofilms. *Journal of Industrial Microbiology*, 15: 198-207.
64. Marsh, P.D. (1999). *Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries*. Dent Clin North Am 43:599–614.
65. Marsh, P.D. (2004). *Dental plaque as a microbial biofilm*. Caries Res., 38:204–21.
66. Mazmanian, S.K and Kasper, D.L. (2006). *The love-hate relationship between bacterial polysaccharides and the host immune system*. Nat Rev Immunol. , 6:849-858.
67. Mouton, C. et Robert, J.C. (1994). *Bactériologie bucco-dentaire*. Collection Abrégés d'Odontologie et Stomatologie. Paris: Masson, 184.
68. Noskin, G.A., Stosor, V., Coope, I. and Peterson, L.R. (1995). Recovery of vancomycin-resistant enterococci on fingertips and environmental surfaces. *Infect Control Hosp Epidemiol*; p16- 57.

69. Nyvad, B and Fejerskov, O. (1987). Scanning electron microscopy of early microbial colonization of human enamel and root surfaces *in vivo*. J. Dent. Res., 95: 287-296.
Octobre 2010, Vol. 4, 5, pp. 543-549.
Oral Biol., 30(3): 265-8.
70. PaesLeme, A.F., Koo, H., Bellato, C.M., Bedi, G and Cury, J.A. (2006). *The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation—new insight*. J. Dent. Res., 85:878–887
71. Pechère, J. C., Acar, J., Grenier, B. et Nihoul, E. (1982). Reconnaître, comprendre et traité les infections. 4^{ème} édition. *Edisem ST-Hyacinthe. Québec*. 509p.
72. Philip, D. Marsh and Michael, V. Martin. (2009). *Oral Microbiology, fifth edition*. s.l.: Churchill Livingstone Elsevier, Elsevier limited.
73. Piette, E and Goldberg, M. (2001). *La dent normale et pathologique*. Bruxelles, Editions De Boeck Université.
74. Pilet, C. (1987). *Bactériologie médicale et vétérinaire*. Systématique bactérienne. Doin. 371p.
75. Prabhakar, A R., Shubha, A.B and Mahantesh, T. (2008). *Estimation of Calcium, Phosphate and Alpha Amylase Concentrations in Stimulated Whole Saliva of Children with Different Caries Status: A Comparative Study*. Mal Dent J. 29:6–13.
76. Protais, J., Nagard, B., Boscher, E., Queguiner, S., Beaumont, C et Salvat, G. (2003). Evolution d'une contamination par salmonella enteritidis chez deux lignées de poules vaccinées en période d'élevage. *Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole. Cneva*. 1-4.
77. Reggam, A. (2010). *Evaluation de la Qualité Physico – Chimique et Bactériologiques des Eaux Potables : Cas de la Station de Traitement de Hammam Debagh–Guelma*, Mémoire de Master. Université de 08 Mai 1945 Guelma, 75p.
78. Reiker, J., Van Der Velden, U., Barendregt, D.S and Loos, B.G. (2000). *Root caries in patients in periodontal follow-up care. Prevalence and risk factors*. Ned Tijdschr Tandheelkd, 107: 402–405.
79. Rodier, J. (1996). L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer, chimie, physicochimie, microbiologie, biologie, interprétation des résultats. 8^{ème} édition *DUNOD*. 1384p.
80. Rodier, J. (2009). L'analyse de l'eau. 9^{ème} édition, *DUNOD*. Paris. 1579p.
81. Rosan, B. et Lamont, R.J. (2000). *Dental plaque formation*. Microbes and Infection 2 : 1599-1607.
82. Rouaiguia, M. (2010). *Qualité microbiologique de l'eau d'Oued Messida*. Mémoire de master 2. Université 8 mai 1945 Guelma. 78p. 64
83. Rudney, J.D. (2000). *Saliva and dental plaque*. Adv Dent Res. 14:29-39.
84. Salonen, L., Allander, L., Bratthall, D. and Hellden, L. (1990). *Mutans streptococci, oral hygiene and caries in an adult Swedish population*. J Dent Res., 69:1469-1475.

85. Sayad, L. (2008). *Qualité physico-chimique et bactériologie des eaux de l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux (wilaya de Taraf)*. Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. 125p.
86. Scannapieco and Frank, A. (2013). "The oral microbiome: its role in health and in oral and systemic infections". *Clinical Microbiology Newsletter*. Elsevier , Vol. 35, 20, pp.163-169
87. Secci, G. (2006). *Manuel d'hygiène bucco-dentaire, Destiné à la formation de prophylaxistes, SDI 2006 / 2007*, Ed. n°1
88. Selwitz, R.H., Ismail .A.I and Pitts .N.B. (2007). *Dental caries*. Lancet, 369:51–59.
89. Siqueira, J. F. Jr and Rocas, I. N. (2008). *Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures*. J Endod., 34: 1291–1301.
90. Sixou, M., Kone, D., Duffaut-Lagarrigue, D., Lodter, J.P and Berdoulat, C. (1993). Etude invitro de la sensibilité aux antibiotiques des principales bactéries impliquées dans l'étiologie des parodontites chez l'homme. *Journal de Parodontologie*, p. 257 – 263.
91. Slinger, R., Chan, F., Ferris, W., Yeung, S.W., St-Denis, M., Gaboury, I. and Aaron, S.D. (2006). Multiple Combination Antibiotic Susceptibility Testing of Non-Typeable Haemophilus Influenzae Biofilms. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 56: 247-253.
92. Socransky, S.S and Haffajee, A.D. (2005). *Periodontal microbial ecology*. *Periodontol*, 38:135-187.
93. Takahashi, N. (2005). *Microbial ecosystem in the oral cavity: Metabolic diversity in an ecological niche and its relationship with oral diseases*. International Congress Series, 1284:103 – 112.
94. Tanzer, J.M., Livingston. J and Thompson.A. (2001). The Microbiology of Primary Dental Caries in Humans. *Journal of Dental Education*, 65(10): 1028-1038.
95. Trisha, E. (2011). *How Subgingival Plaque Biofilm Gets Started*, O'Hehir, RDH, MS, Hygiene town Editorial Director.
96. Van Houte, J., Jordan, H.V., Laraway, R., Kent, R., Soparkar, P and De Paola, P.F. (1990). Association of the Microbial Flora of Dental Plaque and Saliva with Human Root-surface Caries. *Journal of Dental Research*, 69(8):1463-8.
97. VanRuyven, F.O., Lingstrom, P., Van Houte, J and Kent, R. (2000). Relationship among mutans streptococci, "low pH " bacteria, and iodophilic polysaccharide-producing bacteria in dental plaque and early enamel caries in humans. *Journal of Dental Research*, 79: 778-784.
98. Vincent, A. (2008). *Infection associées aux soins définition, fréquences et facteurs de risque*. Laprugne-GARCIA E, Saint genislaval. CCLIN sud-est. CCLIN, p5.

Références bibliographiques

99. Virtanen, E., Söder, B., Andersson, L.C., Meurman, J.H and Söder, P.O. (2014). History of Dental Infections Associates with Cancer in Periodontally Healthy Subjects: A 24-Year Follow-Up Study from Sweden. *Journal of Cancer*. 2; 5Suppl 2:79-85.
100. Woelfel, J.B etScheid, R.C. (2007). *Anatomie dentaire*. Application à la pratique de la chirurgie dentaire. Paris, Editions Maloine.
101. Zambon, J. J.and Kasprzak, S. A. (1995). *The microbiology and histopathology of human root caries*. Am J Dent., 8:323-8.
102. <https://www.cliniquedentairelucvillemaire.com/carie-dentaire/>(consulter le 22-5-2018).
103. https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=carie_pm(consulter le 23-5-2018).
104. <http://www.unsof.org/media/bacterio/html/cours-N111AA-1.html>(consulter 27.5.2018).
105. <http://dietons.com/tels-que-les-bactries-qui-causent-la-carie.html>(consulter 28.5.2018)..
106. [www.gric.univ-lyon2.fr /contamination/surfaces/sant_bacteries](http://www.gric.univ-lyon2.fr/contamination/surfaces/sant_bacteries)(Consulter le 30/05/2018).
107. <http://www.bio-top.net/Microbio/TP/Api.htm> (consulter le 03/06/2018).

Résumé

Résumé

La cavité buccale de l'organisme humain abrite une diversité microbienne très complexe. Plus de 700 espèces bactériennes différentes colonisent les divers sites de la cavité buccale tels que les streptocoques, les staphylocoques, les Actinomyces, les lactobacilles et on y trouve même des levures. Ces bactéries dont l'origine peut être endogène ou exogène peuvent provoquer des maladies buccales telles les caries dentaires qui constitue un fléau de santé public.

Le but de notre travail est d'isoler et identifier des bactéries responsables de ces infections carieuses (bactéries cariogènes) de la cavité buccale de l'homme à partir des prélèvements effectués dans les cabinets dentaires privés de la ville de Guelma. Il en ressort que les Staphylococcaceae, les Micrococcaceae, les Enterobacteriaceae, les Enterococcaceae, les Streptococcaceae et les Pasteurellaceae sont les familles les plus représentées dans nos prélèvements. Nous avons aussi constaté que la composition de la microflore buccale diffère d'un site à un autre et ceci est en fonction de l'âge et du sexe des patients. Les tests de sensibilité aux antibiotiques appliqués à ces microorganismes ont montré que ces souches (*Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Enterococcus*, *Aerococcus* et *Pasteurella*) ont une résistance confirmée. Aucun traitement n'est totalement efficace contre cette maladie et la prévention reste en effet le seul moyen de lutte pour éviter la formation des plaques dentaires.

Mots clés : Carie dentaire, isolement, identification, bactéries cariogènes, test de sensibilité aux antibiotiques.

Abstract

The oral cavity of the human body is home to a very complex microbial diversity. More than 700 different bacterial species colonize the various sites of the oral cavity such as streptococci, staphylococci, Actinomyces, lactobacilli and even yeasts. These bacteria, which may be endogenous or exogenous, can cause oral diseases such as tooth decay, which is a public health scourge.

The purpose of our work is to isolate and identify bacteria responsible for these carious infections (cariogenic bacteria) of the oral cavity of humans from samples taken in the private dental offices of the city of Guelma. It appears that Staphylococcaceae, Micrococcaceae, Enterobacteriaceae, Enterococcaceae, Aerococaceae and Pasteurellaceae are the families most represented in our samples. We also found that the composition of the oral microflora differs from one site to another and this is according to the age and sex of the patients. The antibiotic sensitivity tests applied to these microorganisms have shown that these strains (*Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Enterococcus*, *Aerococcus* and *Pasteurella*) have a confirmed resistance. No treatment is totally effective against this disease and prevention is indeed the only way to fight to prevent the formation of dental plaque.

Key words: dental caries, isolation, identification, cariogenic bacteria, antibiotic sensitivity test.

ملخص

التجويف الفموي للإنسان هو ملجأ لتنوع ميكروبي جد معقد، أكثر من 700 صنف بكتيري مختلف يحتل مختلف الأماكن في التجويف الفموي مثل: العقديات، العنقوديات، البكتيريا الخيطية والبكتيريا المحمضة ووجدنا حتى الخمائر. هذه البكتيريا يمكن أن تكون ذات مصدر داخلي أو خارجي، يمكن أن تسبب عدة أمراض فموية كتسوس الأسنان، وهو آفة الصحة العامة.

الهدف من عملنا هو عزل وتعريف البكتيريا المسؤولة عن هذه العدوى الغريبة (البكتيريا المسببة للسرطان) للتجويف الفموي للإنسان من العينات المأخوذة في عيادات الأسنان الخاصة في مدينة قلمة. وقد تحصلنا على أن مكورات عنقودية المكيرات، الأمعائية، المعوية، ، سبحيات وباستوريالات هي العائلات الأكثر تمثيلاً في عيناتنا.

كما وجدنا أيضاً أن تركيب البكتيريا الفموية يختلف من موقع لآخر وهذا بحسب عمر وجنس المريض. وقد أظهرت إختبارات الحساسية للمضادات الحيوية المطبقة على هذه الكائنات الدقيقة أن هذه السلالات (المكورات العنقودية ،المكورات الدقيقة الأمعائية، السراتية، المعوية، الأيرومونات والباستوريلا) لديها مقاومة مؤكدة.

لايوجد علاج فعال كلياً ضد هذا المرض والوقاية تبقى الوسيلة الوحيدة للدفاع وتجنب تشكل لوحة الأسنان.

الكلمات الرئيسية: تسوس الأسنان ، العزلة ، تحديد الهوية ، البكتيريا المسكنة ، اختبار حساسية المضادات الحيوية.

Annexes

Les principaux réactifs utilisés dans l'identification bactérienne

| Réactifs généraux | Réactifs Api bioMérieux SA | Tests biochimiques |
|---|--|------------------------|
| Perchlorure de fer | TDA pour la recherche de tryptophane désaminase | TDA |
| Réactif de Kovacs | Réactif de Kovacs | Indole |
| | JAMES | Indole |
| Réactif IND | IND | Indole |
| KOH | VP 1 (KOH 40 g) ou VP A (KOH 20 g) | VP (Voges-Proskauer) |
| Alpha- naphtol | VP 2 (Alpha-naphtol 6g) ou VP B (Alpha-naphtol 12g) | / |
| Rouge de methyl | | RM (rouge de méthyle) |
| N, N, N, N-tétraméthyl-1,4-Phénylènediamine | Oxydase reagent | Oxydase |
| H2O2 (eau oxygénée) | ID color catalase | Catalase |

| | | |
|---------------------------|--|--|
| Réactif de Griess-Ilosvay | NIT 1 (acide sulfanilique) + NIT2 (N, N-diméthyl-1-naphtylamine) | Test nitrate-réductases (formation des nitrites) |
| Poudre de zinc | Zinc | Test nitrate-réductases (formation du diazote N2) |
| | Zym A (tris-hydroxyméthyl-aminométhane) + Zym B (fast bleu BB) | Phosphatase alcaline Alpha-galactosidase Béta-glucuronidase Béta-galactosidase Pyrrolidonyl arylamidase, Leucine arylamidase ... |
| | FB (Fast bleu BB) | Phosphatase alcaline, Gamma Glutamyl Transferase... |
| | NIN (Ninhydrine) | Hippurate |

Tableau de Lecture de l'API 20E

| Tests | Composants | QTE (mg/cup.) | Réactifs / Enzymes | Résultats | |
|-----------------------|-------------------------------------|------------------|--|-------------------------------|------------------------------|
| | | | | Négatif | Positif |
| ONPG | 2-nitrophényl-β-D-galactopyranoside | 0,223 | β-galactosidase (Ortho-NitroPhényl-β-D-Galactopyranosidase) | incoloré | jaune |
| ADH | L-arginine | 1,9 | Arginine Dihydrolase | Jaune | rouge / orangé |
| LDC | L-lysine | 1,9 | Lysine Décarboxylase | Jaune | rouge / orangé |
| ODC | L-ornithine | 1,9 | Ornithine Décarboxylase | Jaune | rouge / orangé |
| CIT | trisodium citrate | 0,756 | utilisation du Citrate | vert pâle / jaune | bleu-vert / bleu |
| H₂S | sodium thiosulfate | 0,075 | production d'H ₂ S | incoloré / grisâtre | dépôt noir / fin liseré |
| URE | Urée | 0,76 | Uréase | Jaune | rouge / orangé |
| TDA | L-tryptophane | 0,38 | Tryptophane Désaminase | TDA / immédiat | |
| | | | | Jaune | marron- rougeâtre |
| IND | L-tryptophane | 0,19 | production d'Indole | JAMES / immédiat | |
| | | | | incoloré vert pâle / jaune | rose |
| VP | sodium pyruvate | 1,9 | production d'acétoïne (Voges Proskauer) | VP 1 + VP 2 / 10 min | |
| | | | | incoloré / rose pâle | rose / rouge |
| GEL | Gélatine (origine bovine) | 0,6 | Gélatinase (Gelatine) | non diffusion | diffusion du pigment noir |
| GLU | D-glucose | 1,9 | Fermentation oxydation(Glucose) | bleu / bleu-vert | jaune / jaune gris |
| MAN | D-mannitol | 1,9 | fermentation / oxydation (Mannitol) | bleu / bleu-vert | jaune |
| INO | Inositol | 1,9 | fermentation / oxydation (Inositol) | bleu / bleu-vert | jaune |
| SOR | D-sorbitol | 1,9 | fermentation / oxydation (Sorbitol) | bleu / bleu-vert | jaune |
| RHA | L-rhamnose | 1,9 | fermentation / oxydation (Rhamnose) | bleu / bleu-vert | jaune |
| SAC | D-saccharose | 1,9 | fermentation / oxydation (Saccharose) | bleu / bleu-vert | jaune |
| MEL | D-melibiose | 1,9 | fermentation / oxydation (Melibiose) | bleu / bleu-vert | jaune |
| AMY | amygdaline | 0,57 | fermentation / oxydation (Amygdaline) | bleu / bleu-vert | jaune |
| ARA | L-arabinose | 1,9 | fermentation / oxydation (Arabinose) | bleu / bleu-vert | jaune |
| OX | (voir notice du test oxydase) | | cytochrome-Oxydase | (voir notice du test oxydase) | |

Tableau de Lecture de l'API NE.

| Tests | Substrat | Enzymes/Réactions | Résultats | |
|-----------------|--------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| | | | Négatif | Positif |
| NO ₃ | Nitrate de potassium | Réduction des nitrates en nitrites | NIT 1 + NIT 2 / 5 mn | |
| | | | Incolore | Rose-rouge |
| | | Réduction des nitrates en azote | ZN / 5 mn | |
| | | | Rose | Incolore |
| TRP | Tryptophane | Formation d'indole | TRP / 3-5 mn | |
| | | | Incolore | Goutte rouge |
| GLU | Glucose Fermentation | Fermentation | Bleu à vert | Jaune |
| ADH | Arginine | Arginine dihydrolase | Jaune | Orange/rose/ Rouge |
| URE | Urée | Uréase | Jaune | Orange/rose/ Rouge |
| ESC | Esculine | Hydrolyse | Jaune | Gris/marron/ Noir |
| GEL | Gélatine | Hydrolyse | Pas de diffusion du Pigment | Diffusion du pigment noir |
| PNPG | p-nitro-phényl-β-D-galactopyranoside | β-galactosidase | Incolore | Jaune |
| GLU | Glucose | Assimilation | Transparence | Trouble |
| ARA | Arabinose | | | |
| MNE | Mannose | | | |
| MAN | Mannitol | | | |
| NAG | N-acétylglucosamine | | | |
| MAL | Maltose | | | |
| GNT | Gluconate | | | |
| CAP | Caprate | | | |
| ADI | Adipate | | | |
| MLT | Malate | | | |
| CIT | Citrate | | | |
| PAC | Phényl-acétate | | | |
| OX | Tetraméthyl-p-phenylène diamine | | | |

Tableau de Lecture de l'API staph

| TESTS | COMPOSANTS ACTIFS | QTE (mg/cup.) | REACTIONS / ENZYMES | RESULTAT | |
|---|---|---|--|--|--------------|
| | | | | NEGATIF | POSITIF |
| 0 | Aucun | | Témoin négatif | rouge | jaune |
| GL U FRU MN E MA L LAC TRE MA N XLT MEL | D- glucose D- fructose D- mannose D-maltose D-lactose (origine bovine) D- tréhalose D- mannitol D-mélibiose | 1,56 1,4 1,4 1,4 1,4 1,32 1,36 1,4 1,32 | (Témoin positif) (D- GLUcose) acidification (D- FRUctose) acidification (D- ManNosE) acidification (MALtose) acidification (LACtose) acidification (D- TREhalose) acidification (D-MANnitol) acidification (XyLiTol) acidification (D-MELibiose) | rouge | jaune |
| NIT | nitrate de potassium | 0,08 | Réduction des NITrates en nitrites | <u>NIT 1 + NIT 2 / 10 min</u> incoloro-rose pâle rouge | |
| PAL | β-naphtyl phosphate | 0,0244 | Phosphatase ALcaline | <u>ZYM A + ZYM B / 10 min</u> jaune violet | |
| VP | sodium pyruvate | 1,904 | production d'acétyl méthyl- carbinol (Voges Proskauer) | <u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u> incoloro-rose pâle violet-rose | |
| RA F XY L SA C MDG NAG | D- raffinose D-xylose D-saccharose méthyl-β-D- glucopyranosi de N-acétyl- glucosamine | 1,56 1,4 1,32 1,28 1,28 | acidification (RAFFinose) acidification (XYLose) acidification (SACcharose) acidification (Méthyl- β-D- Glucopyranoside) acidification (N-Acétyl-Glucosamine) | rouge | jaune |
| <u>ADH</u> | L-arginine | 1,904 | Arginine DiHydrolase | jaune | orange-rouge |
| <u>URE</u> | urée | 0,76 | UREase | jaune | rouge-violet |

Tableau de Lecture de l'API Strep

| TESTS | COMPOSANTS ACTIFS | QTE (mg/cup.) | REACTIONS/ENZYMES | RESULTATS | | | |
|-------------|--|---------------|---|--|--------------------------------------|-------------------|-------|
| | | | | NEGATIF | | POSITIF | |
| VP | sodium pyruvate | 1,9 | production d'acétoïne (Voges Proskauer) | VP 1 + VP 2 / jusqu'à 10 min | | | |
| | | | | Incolore | | Rose-Rouge | |
| HIP | acide hippurique | 0,4 | hydrolyse (acide HIPpurique) | NIN / jusqu'à 10 min | | | |
| | | | | Incolore/Bleu pâle Gris-bleuté | | Bleu foncé/Violet | |
| ESC | esculine citrate de fer | 1,16 0,152 | hydrolyse β-glucosidase (ESCuline) | 4 h | 24 h | 4 h | 24 h |
| | | | | Incolore Jaune pâle | Incolore Jaune pâle Gris clair | Noir Gris | Noir |
| PYRA | acide pyroglutamique-β-naphtylamide | 0,0256 | PYRrolidonyl Arylamidase | ZYM A + ZYM B / 10 min (PYRA à LAP) au besoin décoloré par éclaircissement intense | | | |
| DGAL | 6-bromo-2-naphtyl-DD-galactopyranoside | 0,0376 | D-GALactosidase | Incolore ou Orange très pâle | | Orange | |
| βGUR | acide naphthol-ASBI-glucuronique | 0,0537 | β-GIUcRonidase | Incolore | | Violet | |
| βGAL | 2-naphtyl-βD-galactopyranoside | 0,0306 | β-GALactosidase | Incolore | | Bleu | |
| PAL | 2-naphtyl phosphate | 0,0244 | Phosphatase ALcaline | Incolore ou Violet très pâle | | Violet | |
| LAP | L-leucine-β-naphtylamide | 0,0256 | Leucine AminoPeptidase | Violet très pâle | | Violet | |
| ADH | L-arginine | 1,9 | Arginine DiHydrolase | Incolore | | Orange | |
| <u>RIB</u> | D-ribose | 1,4 | acidification (RIBose) | Jaune | | Rouge | |
| <u>ARA</u> | L-arabinose | 1,4 | acidification (ARABinose) | 4 h | 24 h | 4 h | 24 h |
| <u>MAN</u> | D-mannitol | 1,36 | acidification (MANnitol) | Rouge | Orange/ Rouge | Orange/ Jaune | Jaune |
| <u>SOR</u> | D-sorbitol | 1,36 | acidification (SORbitol) | Rouge | Orange/ Rouge | Orange/ Jaune | Jaune |
| <u>LAC</u> | D-lactose (origine bovine) | 1,4 | acidification (LACTose) | Rouge | Orange/ Rouge | Orange/ Jaune | Jaune |
| <u>TRE</u> | D-tréhalose | 1,32 | acidification (TREhalose) | Rouge | Orange/ Rouge | Orange/ Jaune | Jaune |
| <u>INU</u> | Inuline | 5,12 | acidification (INUline) | Rouge | Orange/ Rouge | Orange/ Jaune | Jaune |
| <u>RAF</u> | D-raffinose | 3,12 | acidification (RAFFinose) | Rouge | Orange/ Rouge | Orange/ Jaune | Jaune |
| <u>AMD</u> | amidon (2) | 2,56 | acidification (AMiDon) | Rouge | Orange/ Rouge | Orange/ Jaune | Jaune |
| <u>GLYG</u> | Glycogène | 1,28 | acidification (GLYcoGène) | Rouge ou Orange | | Jaune franc | |

Annexes

Tableau de Classification des souches identifiées

| Domaine | Bactérie | | | | | | |
|-------------|--|------------------------|-------------------------|---------------------|--------------------|--|------------------------|
| Phylum | Protéobactéries | | | Firmicutes | | | Actinobacteria |
| Classe | Gamma Proteobacteria | | | Bacilli | | | Actinobacteria |
| Ordre | Enterobacteriales | | Pasteurellales | Lactobacillales | | Bacillales | Actinomycetales |
| Famille | Enterobacteriaceae | | Pasteurellaceae | Enterococcaceae | Aerococcaceae | Staphylococcaceae | Micrococcaceae |
| Genre | <i>Enterobacter</i> | <i>Serratia</i> | <i>Pasteurella</i> | <i>Enterococcus</i> | <i>Aerococcus</i> | <i>Staphylococcus</i> | <i>Micrococcus</i> |
| Espèce | <i>E. sakasakii</i> <i>E. aerogenes</i> | <i>S. liquefacious</i> | <i>P. pneumotropica</i> | <i>E. faecuim</i> | <i>A. viridans</i> | <i>S. saureus</i> <i>S. chromogenes</i> <i>S. hominis</i> <i>S. xylosus</i> <i>S. wernerii</i> | <i>Micrococcus spp</i> |
| Échantillon | (13) (08) | (16) | (03) | (08) | (14-15) | (10-11)(12)(05-08-09)(06-10)(02) | (12) |

Les fiches de renseignements pour un prélèvement bucco-dentaire

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة 8ماي 1945 قلمنة
كلية علوم الطبيعة والحياة
و علوم الأرض والكون

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة 8ماي 1945 قلمنة
كلية علوم الطبيعة والحياة
و علوم الأرض والكون

Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Le numéro : 01

la date : 06/03/2018

Age : 53 ans

le service : cabinet dentaire

Sexe : Homme

Nature de prélèvement : Mèche supérieure gauche

Heure de prélèvement : 09:28

Les maladies antécédentes : pas des maladies

Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Le numéro : 02

la date : 06/03/2018

Age : 53ans

le service : cabinet dentaire

Sexe : Femme

Nature de prélèvement : Mèche inférieure gauche

Heure de prélèvement : 09:30

Les maladies antécédentes : pas des maladies

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة 8ماي 1945 قلمنة
كلية علوم الطبيعة والحياة
و علوم الأرض والكون

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة 8ماي 1945 قلمنة
كلية علوم الطبيعة والحياة
و علوم الأرض والكون

Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Le numéro : 03

la date : 06/03/2018

Age : 35 ans

le service : cabinet dentaire

Sexe : Femme

Nature de prélèvement : Mèche supérieure droite

Heure de prélèvement : 10:05

Les maladies antécédentes : pas des maladies

Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Le numéro : 04

la date : 06/03/2018

Age : 57ans

le service : cabinet dentaire

Sexe : Homme

Nature de prélèvement : Mèche supérieure droite

Heure de prélèvement : 10:30

Les maladies antécédentes : Absé dentaire

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة 8ماي 1945 قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Le numéro : 05 la date : 06/03/2018
Age : 32 ans le service : cabinet dentaire
Sexe : Homme
Nature de prélèvement : Mèche inférieure gauche
Heure de prélèvement : 10:40
Les maladies antécédentes : pas des maladies

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة 8ماي 1945 قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Le numéro : 07 la date : 06/03/2018
Age : 66 ans le service : cabinet dentaire
Sexe : Homme
Nature de prélèvement : mèche supérieure droite
Heure de prélèvement : 10:50
Les maladies antécédentes : pas des maladies

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة 8ماي 1945 قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Le numéro : 06 la date : 06/03/2018
Age : 66 ans le service : cabinet dentaire
Sexe : Homme
Nature de prélèvement : mèche supérieure gauche
Heure de prélèvement : 10:45
Les maladies antécédentes : pas des maladies

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة 8ماي 1945 قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Le numéro : 08 la date : 11/03/2018
Age : 25 ans le service : cabinet dentaire
Sexe : Homme
Nature de prélèvement : Mèche supérieure gauche
Heure de prélèvement : 10:15
Les maladies antécédentes : pas des maladies

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة 8 ماي 1945 - قلمنة
كلية علوم الطبيعة والحياة
و علوم الأرض والكون

UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Le numéro : 09 la date : 11/03/2018
Age : 54 ans le service : cabinet dentaire
Sexe : Homme
Nature de prélèvement : Mècheire supérieure gauche
Heure de prélèvement : 10:35
Les maladies antécédentes : pas des maladies

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة 8 ماي 1945 - قلمنة
كلية علوم الطبيعة والحياة
و علوم الأرض والكون

UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Le numéro : 10 la date : 11/03/2018
Age : 30 ans le service : cabinet dentaire
Sexe : Femme
Nature de prélèvement : Mècheire inférieure gauche
Heure de prélèvement : 11:30
Les maladies antécédentes : pas des maladies

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة 8 ماي 1945 - قلمنة
كلية علوم الطبيعة والحياة
و علوم الأرض والكون

UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Le numéro : 11 la date : 25/03/2018
Age : 34 ans le service : cabinet dentaire
Sexe : Femme
Nature de prélèvement : mècheire inférieure droite
Heure de prélèvement : 10:15
Les maladies antécédentes : pas des maladies

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة 8 ماي 1945 - قلمنة
كلية علوم الطبيعة والحياة
و علوم الأرض والكون

UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Le numéro : 12 la date : 01/04/2018
Age : 55 ans le service : cabinet dentaire
Sexe : Femme
Nature de prélèvement : Mècheire inférieure gauche
Heure de prélèvement : 10:25
Les maladies antécédentes : pas des maladies

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة 8 ماي 1945 قلمة
كلية علوم الطبيعة والحياة
و علوم الأرض والكون

UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة 8 ماي 1945 قلمة
كلية علوم الطبيعة والحياة
و علوم الأرض والكون

UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

Fiche de renseignement pour un prélèvement
bucco-dentaire

Le numéro : 13 la date : 15/04/2018
Age : 24 ans le service : cabinet dentaire
Sexe : Femme
Nature de prélèvement : Mèche supérieure droite
Heure de prélèvement : 11:11
Les maladies antécédentes : pas des maladies

Fiche de renseignement pour un prélèvement
bucco-dentaire

Le numéro : 14 la date : 14/05/2018
Age : 60 ans le service : cabinet dentaire
Sexe : Femme
Nature de prélèvement : Mèche inférieure droite
Heure de prélèvement : 10:40
Les maladies antécédentes : pas des maladies

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE 8Mai1945 de Guelma
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة 8 ماي 1945 قلمة
كلية علوم الطبيعة والحياة
و علوم الأرض والكون

Fiche de renseignement pour un prélèvement
bucco-dentaire

Le numéro : 15 la date : 14/05/2018
Age : 36 ans le service : cabinet dentaire
Sexe : Homme
Nature de prélèvement : Mèche supérieure gauche
Heure de prélèvement : 10:50
Les maladies antécédentes : pas des maladies