

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Abou Bekr Belkaïd -Tlemcen-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



Laboratoire de recherche

« Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème :

**Contribution à l'étude des bactéries à Gram négatif isolées
de la cavité buccale des enfants sains (ville de Tlemcen)**

Présenté par : M^{me} BEKKAL BRIKCI Ismahen

Le : 30 /09 /2023

Soutenu devant le jury :

Pr. BOUCHERIT Z.	Professeur	Présidente	Université de Tlemcen
Dr. SEGHIR A.	MCA	Examineur	Université de Tlemcen
Dr. KAZI TANI Z.Z.	MCA	Encadrante	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2022-2023

Remerciements

Cette réalisation n'aurait pas été possible sans l'aide le soutien inestimable de plusieurs personnes, à qui j'adresse toute ma gratitude.

M^{me} BABA AHMED-KAZI TANI Zahira Zakia, Maître de conférences de classe A au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour avoir accepté de diriger ce travail et pour son aide précieuse.

M^{me} BOUCHERIT-OTMANI Zahia, Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance et pour l'ensemble des enseignements que vous m'avez apporté.

Monsieur **SEGHIR Abdelfattah**, Maître de conférences de classe A au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

M^{lle} LAKHAL Hafsa, doctorante en biochimie, pour son aide, ses conseils et encouragements.

À l'ensemble du personnel du laboratoire "Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, synthèse et activité biologique (LapSab)".

À tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce travail

Dédicaces

Je remercie tout d'abord Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.

C'est avec une fierté et une gratitude infinie que je dédie mon travail

À mes précieux parents qui m'ont soutenue et qui ont été mes piliers toute au long de mon existence.

Mes parents, merci infiniment, c'est grâce à vous que je suis là aujourd'hui ! grâce à vous j'ai appris le sens de travail et la responsabilité, je vous aime du fond du cœur

À mon cher mari, abidou, ta présence à mes côtés et l'amour que m'as offert ont toujours été ma source de force et de joie

À ma belle-mère, la plus aimable, douce et honorable

À mon petit frère,

À mes chères sœurs et belles-sœurs,

À mes chères grandes mères

À mes chers oncles, tantes, leurs époux et épouses

À tous les cousins et cousines

À tous les membres de ma famille et ma belle-famille,

À toutes mes amis racim, hadjer, lilia, chaimaa, je les remercie pour le courage qu'ils m'ont donné et tous les moments qu'on a passés ensemble

À ma chère encadrante, Mme kazi pour leur soutien et encouragements

Bekkal brikci ismahen

ملخص

دراسة علم الأحياء الدقيقة للفم تظهر تعقيداً شديداً. فعلى الواقع، من المهم أن نذكر أن التكاثر البيولوجي الفموي يضم ما يزيد عن 50 مليار بكتيريا، موزعة على أكثر من 700 نوع مختلف وأكثر من 20 جنساً متبايناً، يتعايشون داخل النظام البيئي للفم. لذا، من الضروري التفريق داخل هذا التكاثر البيولوجي بين البكتيريا المعتمدة والمرتبطة بالأسطح المختلفة داخل تجويف الفم، بما في ذلك الأسطح السنية.

هدف هذه الدراسة هو توضيح الملامح الميكروبيولوجية لتجويف الفم لدى الأطفال الأصحاء الذين تتراوح أعمارهم بين 1 و 16 عامًا، ودراسة قدرة الجراثيم ذات الجرام السالب المعزولة على تكوين أفلام بكتيرية. تعتمد هذه التحديدات على اختبارات تي.إس.آي وجاليري أبي

أظهرت اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية المجراة على هذه الميكروبات أن جميع السلالات كانت حساسة للمضادات الحيوية المستخدمة (الأمينوغليكوزيدات، فلوروكينولونات)، ولكنها مقاومة للبيتا لاكتام والكاربابينيم. أشارت نتائج الدراسة حول تكوين الأفلام البيولوجية إلى أن جميع السلالات كانت لديها القدرة على تكوين الأفلام.

تؤكد هذه الدراسة أن بعض البكتيريا تظهر مقاومة للمضادات الحيوية، مما يبرز أنه لا يوجد علاج فعال تمامًا للأمراض الفموية، وبالتالي، تبقى الوقاية هي الوسيلة الوحيدة لمكافحة تكوين التسوس والحفاظ على الصحة الفموية.

الكلمات المفتاحية: تجويف الفم، البكتيريا، السلالة، المضاد الحيوي، klebsiella, pasteurella, biofilm

Résumé

L'étude de la microbiologie buccale présente une complexité extrême. En effet, il est important de rappeler que la flore bucco-dentaire abrite une grande variété de bactéries (50 milliards), réparties en plus de 700 espèces différentes et plus de 20 genres distincts, cohabitant au sein de l'écosystème buccal. Il est important de faire une distinction au sein de cette flore entre les bactéries adhérentes fixées sur les diverses surfaces de la cavité buccale, notamment les surfaces dentaires. L'objectif de cette étude est de caractériser le profil microbiologique de la cavité buccale chez des enfants en bonne santé âgés de 1 à 16 ans, et d'analyser la capacité des germes à Gram négatif isolés à former des biofilms bactériens. Cette identification repose sur les tests de TSI, la galerie API 20 E et les tests de sensibilité aux antibiotiques. Ces démarches nous ont permis d'identifier 4 souches bactériennes de la cavité buccale *klebsiella oxytoca* 50%, *klebsiella pneumoniae* 25%, *pasteurella* 25% pouvant devenir pathogènes en provoquant des infections buccales. Les tests de sensibilité aux antibiotiques réalisés sur ces microorganismes ont démontré que toutes les souches étaient sensibles aux antibiotiques utilisés (aminosides, fluoroquinolones), mais résistantes aux bêta-lactamines et aux carbapénèmes. Les résultats de l'étude sur la formation de biofilm ont indiqué que toutes les souches avaient la capacité de former des biofilms.

Mots clés : cavité buccale, bactéries, souche, antibiotique, *klebsiella*, *pasteurella*, biofilm

Abstract

Studying oral microbiology proves to be extremely complex. It's important to emphasize that the oral flora hosts a vast variety of bacteria (over 50 billion), distributed across more than 700 different species and over 20 distinct genera, coexisting within the oral ecosystem. Therefore, it's crucial to differentiate within this flora the adherent bacteria attached to various surfaces of the oral cavity, particularly dental surfaces. The aim of this study is to characterize the microbiological profile of the oral cavity in healthy children aged 1 to 16 years and to analyze the ability of isolated Gram-negative germs to form bacterial biofilms. This identification is based on TSI tests, API 20 E gallery, and antibiotic sensitivity tests. These steps allowed us to identify 4 bacterial strains from the oral cavity that can become pathogenic and cause oral infections. The antibiotic sensitivity tests conducted on these microorganisms demonstrated that all strains were sensitive to the antibiotics used (aminoglycosides, fluoroquinolones), but resistant to beta-lactams and carbapenems. The results of the biofilm formation study indicated that all strains had the ability to form biofilms.

Key words: oral cavity, bacteria, strain, antibiotic, klebsiella, pasteurilla, biofilm

Liste des abréviations

BHIB : Brain Heart Infusion Broth

TSI : Triple Sugar Iron Agar

DO : Densité optique

K : Klebsiella

P : Pasteurella

Liste des figures

Figure n°1 : Distribution en pourcentage des bactéries à Gram négatif dans la cavité buccale des prélèvements des enfants sains	6
Figure n°2 : Répartition des enfants en fonction des pathologies bucco-dentaires	7
Figure n°3 : Répartition des enfants présentant des caries en fonction de leur âge.	8
Figure n°4 : distribution des enfants en fonction de la fréquence du brossage	9
Figure n°5 : Répartition des souches selon la concentration minimale inhibitrice CMI.....	13
Figure n°6 : Répartition des souches selon la densité optique.	14

Liste des tableaux

Tableau n°01 : Répartition des prélèvements positifs en fonction du sexe.....7

Tableau n°02 : Types et marques des dentifrices utilisés par les enfants.....10

Tableau n°03 : Antibiogramme des souches bactériennes isolées de la cavité buccale12

Sommaire

INTRODUCTION	1
--------------------	---

MATERIEL ET METHODES

1. Prélèvement	4
2. Isolement.....	4
3. Identification.....	4
4. Antibiogramme (EUCAST, 2019).....	4
5. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CLSI M7-A10, 2016).....	5
6. Formation de biofilm	5
7. Quantification de la biomasse de biofilm par le cristal violet	5

RESULTATS ET DISCUSSION

1.Prélèvements.....	Erreur ! Signet non défini.
1.1. Classifications des prélèvements positifs en fonction du sexe	Erreur ! Signet non défini.
1.2. Répartition des enfants en fonction des affections buccales....	Erreur ! Signet non défini.
1.3. Répartition des enfants en fonction des tranches d'âges	Erreur ! Signet non défini.
1.4. Répartition des enfants en fonction de la fréquence de leur brossage dentaire	Erreur ! Signet non défini.
1.5. Répartition des enfants en fonction de la nature des dentifrices utilisés	Erreur ! Signet non défini.
2. Identification	Erreur ! Signet non défini.
3. Antibiogramme	Erreur ! Signet non défini.
4. Concentration minimale inhibitrice	Erreur ! Signet non défini.
5. Formation des biofilms bactériens sur milieu BHIB.....	Erreur ! Signet non défini.
CONCLUSION.....	14
Références bibliographiques.....	16
Annexe.....	21

INTRODUCTION

La cavité buccale héberge un écosystème microbien complexe, constitué de plus de 700 espèces qui coexistent et interagissent les unes avec les autres (**Lignon et coll., 2015**). Elle est colonisée par une grande variété de micro-organismes, tels que des bactéries, des champignons, des virus et des protozoaires qui constituent sa flore résidente commensale (**Philip et coll., 2009 ; Scannapieco et Frank, 2013**).

La composition de la flore microbienne varie en fonction des paramètres intrinsèques : l'humidité, la température, le pH, la capacité redox, la disponibilité en nutriments, la surface et le débit salivaire dans la cavité buccale ainsi que des paramètres extrinsèques : l'hygiène buccodentaire, la fréquence de consommation de sucres ou l'exposition au fluor. Ces paramètres sont influencés par l'individu lui-même. La composition de la flore microbienne est également fonction de l'âge, du site de prélèvement et de la situation clinique de l'individu (**Chardin et coll., 2006 ; Philip et coll., 2009**).

Les bactéries à Gram négatif revêtent une importance capitale au sein de la cavité buccale. Elles contribuent de manière significative à l'équilibre microbiologique. En coexistant avec d'autres microorganismes, elles participent activement à la régulation de la composition de la microflore buccale. Elles constituent des éléments essentiels pour la préservation d'une santé buccale optimale. Certaines de ces bactéries à Gram négatif s'investissent dans la dégradation des sucres et des résidus alimentaires (**Belkhirat & Touati, 2018**).

Leurs activités métaboliques favorisent également un pH buccal équilibré, un paramètre critique pour maintenir un environnement buccal sain. Un autre aspect crucial de leur rôle est leur capacité à offrir une protection contre les pathogènes potentiels (**Keller, 1991**).

Les bactéries à Gram négatif agissent comme une première ligne de défense, empêchant la colonisation de la cavité buccale par des microorganismes nuisibles. Ainsi, l'importance des bactéries à Gram négatif dans la cavité buccale est indéniable, tant pour le bien-être oral que pour la santé générale (**Barsotti & Exbrayat, 2006**).

Cependant, les bactéries à Gram négatif peuvent être responsables d'infections buccodentaires (**Bouzidi, 2020**). Elles peuvent développer divers mécanismes de résistance aux antibiotiques, créant ainsi des difficultés pour le traitement des infections buccales. Cette résistance est favorisée par l'utilisation fréquente d'antibiotiques parfois de manière inappropriée (**Kerbouci et coll., 2022**).

Les mutations génétiques spontanées peuvent également produire des variants moins sensibles aux médicaments, compliquant la lutte contre ces infections. La capacité des bactéries à Gram négatif à échanger des gènes de résistance renforce cette dissémination. De plus, la formation des biofilms, des agrégats de bactéries protégées dans une matrice, permet aux bactéries à Gram négatif de résister aux antibiotiques. **(Keller & Barsotti, 2010)**.

La formation de biofilm est désormais identifiée comme une propriété microbienne universelle **(Tremblay et coll., 2014)**. Sa structure et sa composition varient en fonction des microorganismes qui le composent et des conditions environnementales **(Roux & Ghigo, 2006)**.

Dans la cavité buccale, la salive, les protéines de la salive et les glucides présents dans les aliments favorisent l'adhésion des bactéries. Une fois attachées, les bactéries commencent à produire une matrice extracellulaire composée de polysaccharides, de protéines et d'ADN. Cette matrice forme une structure tridimensionnelle qui maintient les bactéries ensemble et les protège des agressions extérieures **(Nicolas & Lavoie, 2011)**.

Les bactéries à Gram négatif sont connues pour leur capacité à former des biofilms complexes sur diverses surfaces, y compris les dents, les gencives, les prothèses dentaires et les implants **(Sixou et coll., 2007)**.

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), les infections bucco-dentaires font parties des maladies les plus courantes dans le monde, elles posent un ensemble de problèmes liés à la santé publique y compris la carie dentaire **(OMS, 2014)**.

Cette dernière est placée en quatrième position immédiatement après le cancer, les maladies cardiovasculaires et le SIDA car elle touche tous les niveaux d'âge (plus de 80% de la population mondiale) et ce dès l'enfance **(Djossou et coll., 2015)**.

La carie dentaire est une maladie d'origine microbienne. Elle vise à détruire la substance la plus dure du corps humain, l'émail, avant d'atteindre tous les autres tissus de la dent **(Muller, 2015)**. Les infections dentaires conduisent généralement à des extractions de dents et peuvent causer des douleurs de diverses intensités, des déformations et parfois même la mort **(Virtanen et coll., 2014)**. Les maladies bucco dentaires en particulier la carie sont souvent plus fréquente chez l'enfant que chez l'adulte. La prévention et l'accès aux soins sont d'autant plus importants dès l'enfance **(Baillon et coll., 2012)**.

L'objectif de cette étude est dans un premier temps d'évaluer la présence des bactéries à Gram négatif dans la cavité buccale des enfants saints dans la région de Tlemcen ville, et dans un second temps d'étudier la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques ainsi que leurs capacités de former des biofilms *in vitro*.

MATERIEL ET METHODES

Ce travail est réalisé au niveau du laboratoire de recherche : Antibiotiques, Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique de l'université Aboubekr Belkaid, Tlemcen.

1. Prélèvement

Les prélèvements sont réalisés par écouvillonnage de la cavité buccale d'enfants sains au niveau de Tlemcen ville. Les écouvillons sont placés dans des tubes à vis stériles et acheminés au laboratoire dans un délai de moins de 2 heures après les prélèvements. Une fiche de renseignement (Annexe 1) est dûment remplie pour chaque enfant.

2. Isolement

Trois ml d'eau physiologique sont ajoutés à chaque prélèvement et agités pendant 2 minutes à l'aide d'un vortex. Ensuite, 100 microlitres de l'inoculum obtenu sont déposés dans un tube eppendorf contenant 900 microlitres de bouillon BHIB et incubé à 37°C pendant 24 à 48 heures. À partir des cultures présentant un trouble, la recherche de bactéries à Gram négatif est réalisée par un ensemencement sur gélose Mac Conkey.

3. Identification

L'identification des souches est réalisée par test TSI et galerie API 20E.

➤ La gélose TSI (Triple SugarIron) permet d'étudier la fermentation du glucose, l'utilisation du lactose et du saccharose et la production d'H₂S. L'ensemencement est réalisé par des stries serrées au niveau de la pente et par piqûre centrale au niveau du culot. La lecture se fait après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C.

➤ La Galerie API 20E est un système de diagnostic utilisant 20 tests standardisés et miniaturisés pour identifier les entérobactéries et autres bacilles Gram négatif. L'ensemencement des 20 micro-tubes de la galerie est réalisé par une suspension bactérienne équivalente à 0,5 Mc Farland. La lecture des réactions produites pendant la période d'incubation est réalisée en se référant au tableau de lecture (Annexe 2) et d'identification (Annexe 3).

4. Antibiogramme (EUCAST, 2019)

L'activité de 5 antibiotiques est déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Pour chacune des souches à tester, un inoculum équivalent à 0.5 Mc Farland est ensemencé par écouvillonnage à la surface du milieu Mueller-Hinton. Après 18 à 24 heures d'incubation,

les diamètres d'inhibition sont mesurés afin de déterminer les catégories cliniques (Annexe4).

5. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CLSI M7-A10, 2016)

Les concentrations minimales inhibitrices de la gentamicine sont déterminées par la méthode de micro-dilution en microplaque 96 puits. Les inocula de 10^6 UFC/MI est mis au contact de concentrations croissantes de gentamicine Les solutions mères gentamicine sont préparées par la solubilisation de la gentamicine dans l'eau distillée stérile. Cent microlitre de la solution mère de l'antibiotique à tester sont déposés dans le premier puits de chaque colonne. Des dilutions de $\frac{1}{2}$ sont réalisées par le transfert de 100 microlitres d'un puits à l'autre à partir du premier. Les concentrations finales en antibiotique sont comprises entre 1 et 512 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Après une incubation de 18 à 24 heures à 37°C , la CMI est définie comme étant la plus petite concentration d'antibiotique inhibant toute croissance bactérienne visible à l'œil nu.

6. Formation de biofilm

Une pré-culture est réalisée dans des eppendorfs contenant 1 ml du milieu BHIB. Après 24heures d'incubation à 37°C , la suspension est centrifugée à 1000 g pendant 15 minutes à 4°C . Le culot est lavé deux fois avec du PBS (tampon phosphate salé) à pH 7,4 0,1M, puis suspendu dans le milieu de culture à raison de 10^7 cellules/ml. Dans chaque puits d'une microplaque à 96 puits, 100 μL de la suspension bactérienne sont ajoutés, la plaque est scellée puis mise à incuber à 37°C pendant 24 heures.

7. Quantification de la biomasse de biofilm par le cristal violet

Après la formation de biofilms, le milieu BHIB est aspiré et les puits sont lavés 1 fois avec du PBS. Puis, 100 μL de méthanol sont ajoutés aux puits de la microplaque et laisser pendant 15 min. Les puits sont ensuite lavés et 100 μL de crystal violet sont ajoutés. Après une incubation de 20 minutes, l'ajout de l'acide acétique (150 μL , 33%) permet la libération du crystal violet lié. La lecture des densités optiques est réalisée à 570 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques. Les souches sont classées selon leur capacité d'adhésion aux puits des microplaques selon les recommandations de **Christensen et ses collaborateurs (1985)**.

RESULTATS ET DISCUSSION

Notre étude vise à évaluer la prévalence des bactéries à Gram négatif dans la cavité buccale des enfants en bonne santé de la ville de Tlemcen. Elle examine également la sensibilité de ces souches bactériennes à différents antibiotiques, ainsi que leur capacité à former des biofilms *in vitro*.

1. Prélèvements

La recherche des bactéries à Gram négatif a été réalisée par culture sur milieu sélectif, la gélose MacConkey.

Les résultats obtenus sont : 4 se sont révélés positifs sur les 12 prélèvements réalisés.

La présence de bactéries à Gram négatif aéro-anaérobies chez la population étudiée souligne la richesse de la diversité microbienne dans la cavité buccale. Ce résultat est en accord avec ceux de **Chardin et coll. (2006)** et de **Philip et coll. (2009)** qui ont mis en évidence la présence de bactéries à Gram négatif aéro-anaérobies au niveau de la cavité buccale.

1.1. Classifications des prélèvements positifs en fonction du sexe

Les résultats concernant la classification des prélèvements positifs en fonction du sexe sont présentés dans le **Tableau N°1**.

Tableau N°1 : Répartition des prélèvements positifs en fonction du sexe

Prélèvements		Résultats positifs Selon le sexe	
Garçon n=7	58%	2	29%
Fille n=5	42%	2	40%
Total n=12	100%	4	33%

Le Tableau N°1 révèle que le pourcentage de résultats positifs chez les filles est légèrement plus élevé que chez les garçons, cependant, cela ne démontre pas de manière significative qu'il existe une distinction notable entre les garçons et les filles.

Ce résultat semble concorder avec ceux d'une étude menée par des étudiants en master (**Benkacher et Hamoud, 2018**). Cette étude portait sur 15 prélèvements effectués dans les cabinets de chirurgiens-dentistes privés de la ville de Guelma, auprès de volontaires sains comprenant 8 hommes et 7 femmes. L'analyse des prélèvements mis en culture sur milieu MacConkey a révélé que trois d'entre eux

étaient positifs : un chez les hommes et deux chez les femmes.

1.2. Répartition des enfants en fonction des affections buccales

Les résultats de la répartition des enfants en fonction des affections bucco-dentaires sont représentés sur **la figure N°2**.

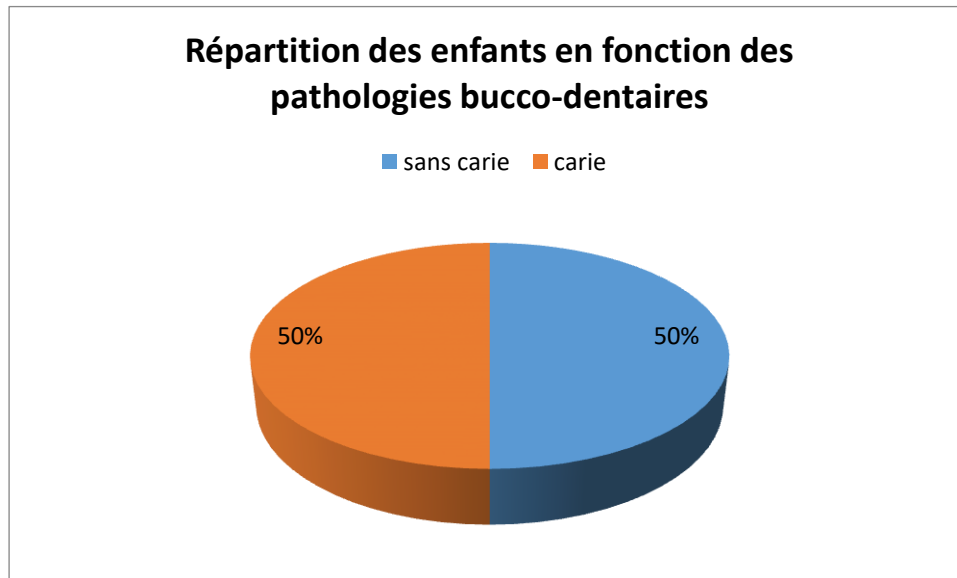


Figure N°2 : Répartition des enfants en fonction des pathologies bucco-dentaires

Nous avons constaté que la carie dentaire est présente chez 50% des enfants faisant partie de notre étude. En effet La carie dentaire est la pathologie bucco-dentaire la plus fréquente à l'échelle mondiale. Elle touche 60 à 90% des enfants en âge scolaire à travers le monde (**OMS ;2014**).

Les résultats obtenus soulignent une fréquence élevée de la carie dentaire chez les enfants.

Au niveau régional, une étude réalisée à Oran, en 2016, dans le cadre d'une thèse de doctorat a identifié une prévalence de 67,43% chez des enfants de 7 ans (**Oulhaci, 2016**).

Au niveau national, une étude épidémiologique réalisée en 2013 sur la santé bucco-dentaire des enfants algériens âgés de 6, 12 et 15 ans a mis en évidence une prévalence de 74,1% de la carie dentaire pour l'ensemble des élèves (**Institut National de Santé Publique, 2014**).

1.3. Répartition des enfants en fonction de la fréquence de leur brossage dentaire

Les données concernant l'état de l'hygiène bucco-dentaire des enfants sont exposées dans **la figure N°4**.

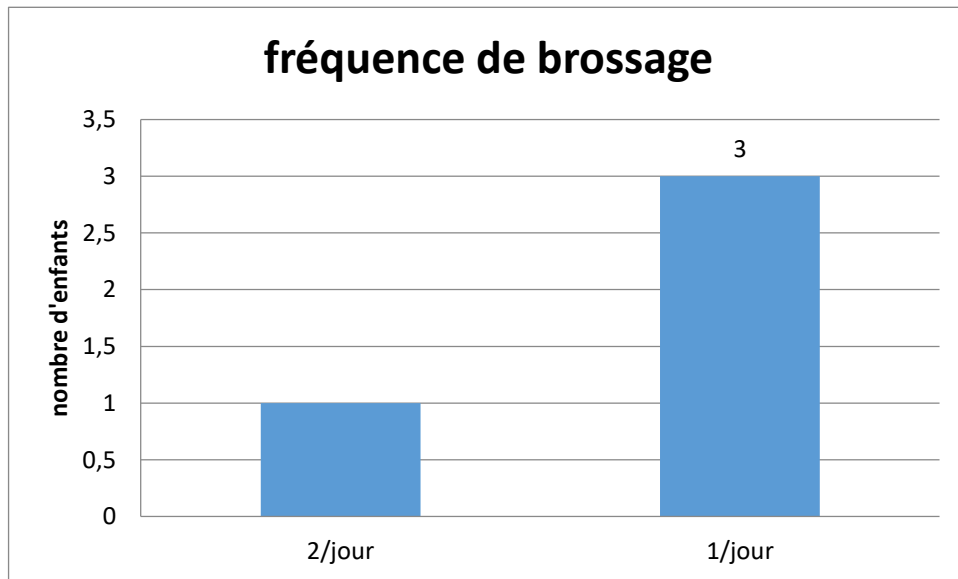


Figure N°4 : distribution des enfants en fonction de leurs fréquences de brossage

Notre échantillon a révélé plus que 50% des enfants présentaient une mauvaise hygiène buccodentaire, Parmi eux la majorité consiste en ceux qui se brossent les dents une fois par jour, et une minorité est représentée par ceux qui se brossent les dents deux fois par jour.

Une autre étude nationale réalisée par l'INSP a révélé que 56,6% des enfants âgés de 6 ans présentaient une hygiène bucco-dentaire insatisfaisante (**Institut National de Santé Publique ; 2014**)

1.4. Répartition des enfants en fonction de la nature des dentifrices utilisés

Tableau N°2 : Types et marques des dentifrices utilisés par les enfants

Marque de dentifrice	Fluoré	Non Fluoré	Nombre des enfants
Signal®	X		03
Colegette®	X		01

Ces résultats mettent en évidence que tous les enfants inclus dans notre étude utilisent un dentifrice contenant du fluor. En effet, il apparaît que maintenir une bonne hygiène bucco-dentaire et recourir régulièrement à des dentifrices fluorés constitue la méthode la plus efficace pour encourager le processus de prévention. Plus spécifiquement,

l'application locale de dentifrices contenant du fluor permet de réduire l'impact de l'alimentation sur la formation des caries dentaires, comme l'ont souligné les études de **Minnig (2005) et de Shetty et coll., (2016)**.

2. Identification

A partir des 12 prélèvements réalisés, 04 souches sont isolées après incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures sur le milieu de culture Mac Conkey et identifiées en utilisant le test TSI et les galeries Api 20 E.

Les résultats obtenus ont permis d'assigner une souche au genre espèce *Pasteurella multocida*, 2 au genre espèce *Klebsiella oxytoca* et 1 au genre espèce *klebsiella pneumoniae*.

Pasteurella multocida est une bactérie à Gram négatif zoonotique appartenant à la famille des Pasteurellaceae (**Miyoshi et coll., 2012**). Elle fait partie de la flore microbienne normale des voies respiratoires supérieures de nombreuses espèces animales, mais elle peut aussi être un pathogène potentiel pour de nombreux animaux domestiques et d'importance agricole tels que les chiens, les chats, le bétail, les porcs et les oiseaux (**Ewers et coll., 2006**).

Pasteurella multocida est un pathogène humain important après une inoculation directe dans les tissus sous-cutanés tels que les morsures (**Giordano et coll., 2015 ; Muhairwa et coll., 2000**). Elle a également été isolée des gencives (**Piette et Mahy., 2005**).

Les bacilles entériques, notamment *Klebsiella*, ont été détectés dans nos prélèvements. Il a été noté que la fréquence des bacilles entériques dans la cavité buccale est liée à la santé bucco-dentaire (**Sedgley et Samaranayake, 1994**).

3. Antibiogramme

Nous avons évalué la sensibilité des souches isolées à l'ampicilline, à l'ertapénème, à l'amikacine, à la tobramycine et à la ciprofloxacine par la méthode des disques (antibiogramme). Les résultats obtenus sont regroupés dans **le tableau N°3**.

Tableau N°3 : Antibiogramme des souches bactériennes isolées de la cavité buccale

	Ampicilline (10µg)		Ertapénème (10µg)		Amikacine (30µg)		Tobramycine (10µg)		Ciprofloxacine (05µg)	
	S≥ 14	R<14	S≥ 25	R<22	S≥ 17	R<13	S≥ 17	R<14	S≥ 26	R<24
	Profil de résistance	Diamètre (mm)	Profil de résistance	Diamètre (mm)	Profil de résistance	Diamètre (mm)	Profil de résistance	Diamètre (mm)	Profil de résistance	Diamètre (mm)
<i>P. multocida</i>	R	/	R	19	S	2	S	20	S	31
K. oxytoca 1	R	/	R	15	S	18	S	19	S	30
K. oxytoca 2	R	/	R	14	S	18	S	18	S	31
K. pneumoniae	R	/	R	14	S	18	S	18	S	30

Les résultats obtenus indiquent que les 4 souches présentent une résistance à l'ampicilline et à l'ertapénème et une sensibilité à l'amikacine, la tobramycine et la ciprofloxacine. La résistance à l'ertapénème chez des souches isolées de la cavité buccale a déjà été rapportée lors d'une étude menée à Béjaia où 58/64 souches d'entérobactéries étaient résistantes à cet antibiotique (**Galloul, 2014**). La détection de souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes, notamment à l'ertapénème, constitue un problème majeur. Cette résistance peut être due à la production de BLSE ou à une céphalosporinase associée à une imperméabilité membranaire (**Robin et coll., 2012**).

4. Concentration minimale inhibitrice

Les résultats relatifs aux concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la gentamicine vis-à-vis des quatre souches isolées de la cavité buccale après 24h d'incubation sont présentés sur **la figure N° 5**.

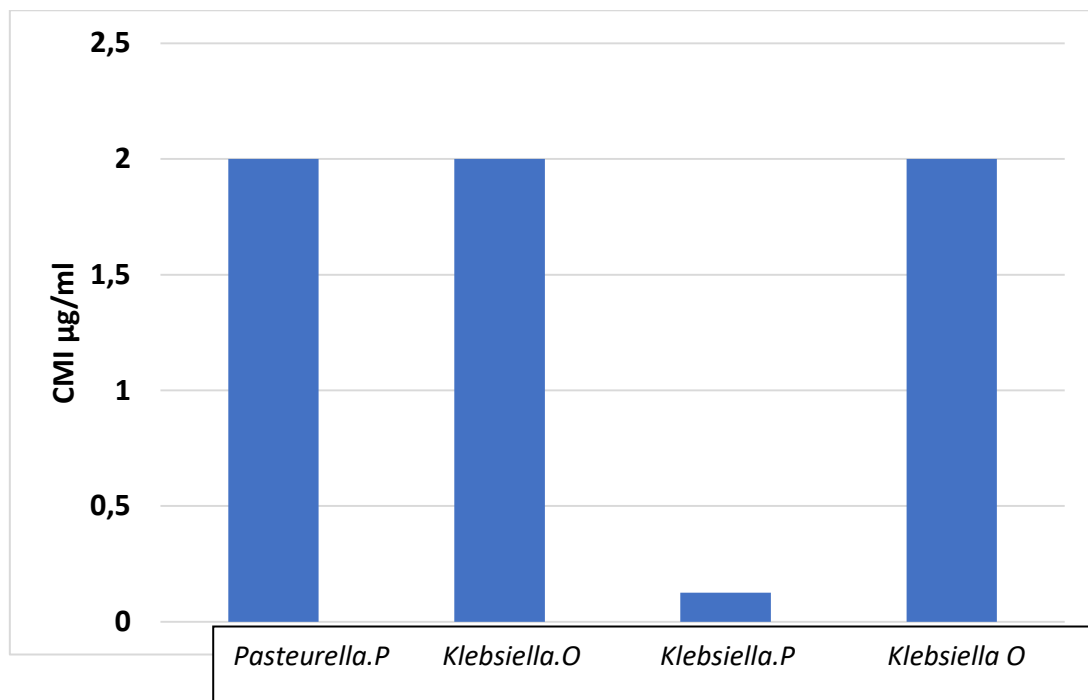


Figure N° 5 : concentrations minimales inhibitrices des souches isolées

Les résultats que nous avons obtenus montrent que toutes les souches isolées sont sensibles à la gentamicine (CMI ≤ 2 µg/ml).

5. Formation des biofilms bactériens sur milieu BHIB

Nous avons observé que toutes les souches isolées ont la capacité de former des biofilms, bien que la quantité de biomasse produite varie d'une souche à l'autre (**Figure N°6**).

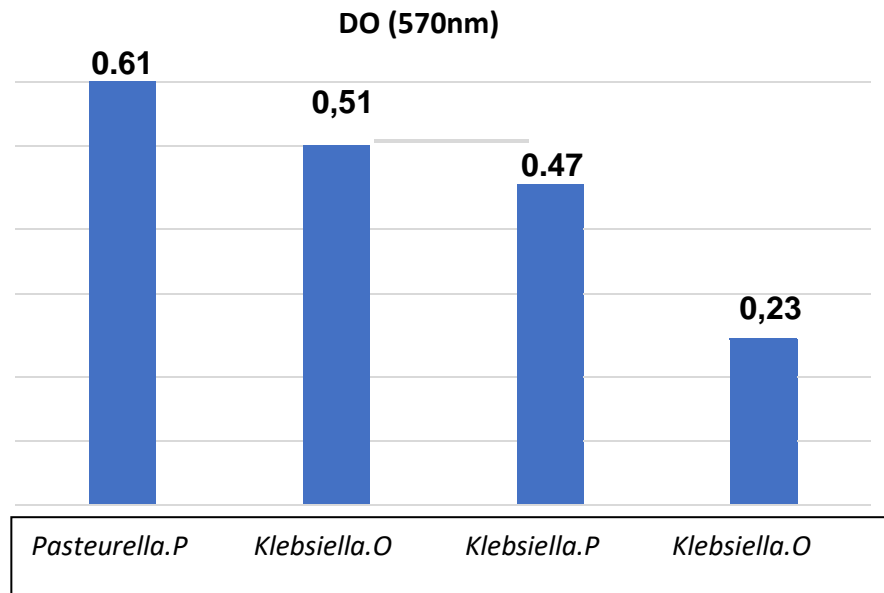


Figure N° 6 : Répartition des souches selon la densité optique

En fonction de la biomasse, les souches sont classées en 2 groupes. Le premier groupe comprenant les souches *P. multocida*, *K. oxytoca* 1 et *K. pneumoniae* qui ont un potentiel relativement élevé pour former des biofilms, avec une densité optique comprise entre 0,4 et 0,7. Ces souches peuvent être considérées comme étant de bonnes formatrices de biofilm.

Le deuxième groupe comprend la *K. oxytoca* 2, qui présente un potentiel moyen pour former de biofilms avec une densité optique de 0,23. En effet, nos résultats sont en accord avec les études de **Kuhn et ses collègues (2002)** ainsi que de **Li et coll., (2003)**, qui mettent en évidence que la quantité de biofilm varie à la fois entre les espèces étudiées, entre différentes souches d'une même espèce, et en fonction du milieu de culture.

CONCLUSION

Les affections bucco-dentaires, telles que les caries dentaires et les maladies parodontales sont souvent provoquées par une diversité importante de microorganismes

Il ressort de notre travail que :

- 33% des bactéries isolées de la cavité buccale des enfants en bonne santé sont de nature bacilles à Gram négatif

- L'identification a permis de mettre en évidence une souche de *Pasteurella multocida*, 2 souches de *Klebsiella oxytoca* et 1 souche *klebsiella pneumoniae*.

- L'étude du profil de résistance aux antibiotiques a révélé que les 4 souches étaient résistantes à l'ampicilline et à l'ertapénème et une sensibilité à l'amikacine, à la tobramycine et à la ciprofloxacine.

- Les concentrations minimales inhibitrices de la gentamycine vis-à-vis des souches isolées étaient $\leq 2\mu\text{g/mL}$

- Toutes les souches avaient la capacité de former des biofilms.

Il serait intéressant de compléter ce travail par une étude approfondie de la résistance aux antibiotiques ; une meilleure compréhension des facteurs qui influent sur la formation des biofilms ; une recherche sur la santé bucco-dentaire des enfants (inclure d'autres facteurs tel que les habitudes alimentaires) ; Mettre en place des campagnes de sensibilisation pour informer le publique, en particulier les parents et les soignants, sur l'importance de l'hygiène bucco-dentaire des enfants et des mesures de prévention des infections buccales.

Aas J. A., Paster B. J., Stokes L. N., Olsen I., Dewhirst F. E. (2005). Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journa of Cincinal Microbiology* 43, 5721-5732.

Baillon-Javon, E., Cohen, F., Heiwy, C. (2012). Principes généraux de prévention en santé bucco-dentaire. *La santé de l'homme*, 417, 912.

Barsotti & Exbrayat, (2006). Implants et bactéries buccales, dans *Microbiologie en Odonto-Stomatologie*, Chardin, Barsotti, Bonnaure-Mallet – édition Maloine.

BELKHIRAT, M., & TOUATI, H. S. (2018). Etude des cas des infections de la cavité buccale dans la région de Tiaret (Doctoral dissertation, université ibn khaldoun-tiaret).

BENGUERRAH A, La cavité orale. Faculté de médecine d'Alger laboratoire d'anatomie médico-chirurgicale.

Benkacher et hamoud 2018, Université 8 Mai 1945 Guelma Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers

Characteristics of pathogens causing urinary tract infections in hospitals in North America: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997 *Diagn Microbiol Infect Dis*, 35 (1999), pp. 55-63

Chardin H., Barsotti O., Bonnaure-Mallet M. (2006). *Microbiologie en odonto-stomatologie*. Paris : éditions Maloine.

CHARDIN H., Immunité de la cavité buccale, *Encyclopédie Médico-chirurgicale* 22-009-T-10, Odontologie/Stomatologie.

Communiqué du comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie. *Bull Soc Fr Microbiol* 1996.

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.

Ewers C, Lübke-Becker A, Bethe A, Kiebling S, Filter M, Wieler LH. 2006. Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status. *Vet Microbiol* 114:304–317. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.12.012>.

Galloul kahina étudiante en master 2, 2014 Université Abderrahmane Mira Bejaïa Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Microbiologie

Garret TR. 2008. Bacterial adhesion and biofilm on surface. *Sci direct*

Giordano A, Dincman T, Clyburn BE, Steed LL, Rockey DC. 2015. Clinical features and outcomes of *Pasteurella multocida* infection. *Medicine* 94: e1285. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000001285>

Guzek A, Tomaszewski D, Rybicki Z, Truszczyński A, Mariusz Barański M, Korzeniewski K. (2013). Comparison of in vitro efficacy of ertapenem, imipenem and meropenem by the Enterobacteriaceae strains family. ORIGINAL AND CLINICAL ARTICLES. *Anaesthesiol Intensive Ther*, vol. 45, no 2, 67–72

Husain FM, Ahmad I, Khan MS, Ahmad E, Tahseen Q, Khan MS, Alshabib NA. 2015. Les sous-CMI de l'huile essentielle de *Mentha piperita* et du menthol inhibent la détection de quorum médiée par AHL et le biofilm des bactéries Gram négatives. *Front Microbiol.* 6, pp 420.

Institut National de Santé Publique. Etat de Santé Buccodentaire de l'Enfant Algérien 6 ans, 12 ans et 15 ans. Alger Impression Anep Rouiba 2014;(11-73)

KELLER, J. F. & BARSOTTI, O. (2010). La microbiologie des implants dentaires.

KELLER, J. F. (1991). La microbiologie.

Kerbouci, N. E. H. K., Bouchenafa, M., Esselimani, H., & Belkacem, I. (2022). Isolation, identification et étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries de la cavité buccale (Doctoral dissertation).

Kuhn D.M., Chandra J., Mukherjee P. K., & Ghannoum, M. A. (2002). Comparison of biofilms formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on bioprosthetic surfaces. *Infection and immunity*, 70(2), 878-888.

Li X., Yan Z., Xu J. (2003). Quantitative variation of biofilms among strains in natural populations of *Candida albicans*. *Microbiology*, 149(2), 353-362.

Lignon G, Dure-Molla MD La, Dessombz A, Berdal A, Babajko S. l'émail : un auto-assemblage unique dans le monde du minéral. *Médecine/Sciences*. 2015;31(5):515-21;

Löe H., Theilade E. et Jensen S.B. (1965). Experimental gingivitis in man. *J Periodontol.* 36(3):177-187.

Magnet. S, B. J. (2005). Molecular insights into aminoglycoside action and resistance *Chem Rev*, 105, 477-498.

Med Mal Infect, 27 (1997), pp. 888-892

Minnig P. (2005). CARIES: PREVENTION SSP–SGP, *paediatrica*, 12(2).

Miyoshi S, Hamada H, Miyoshi A, Ito R, Hamaguchi N, Murakami S, Miyamoto H, Takeuchi T, Okura T, Higaki J. 2012. *Pasteurella multocida* pneumonia: zoonotic transmission confirmed by molecular epidemiological analysis. *Geriatr Gerontol Int* 12:159 – 163. <https://doi.org/10.1111/j.1447-0594.2011.00721.x>.

Monroe D. (2007). Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms. *PLoS Biol*:5 (11):e307.

Muhairwa AP, Christensen JP, Bisgaard M. 2000. Investigations on the carrier rate of *Pasteurella multocida* in healthy commercial poultry flocks and flocks affected by fowl cholera. *Avian Pathol* 29:133–142. <https://doi.org/10.1080/03079450094162>

Muller M., Lupi L., Medioni E. et Bolla M., 1997. *Epidémiologie de la carie dentaire* Encyclopédie Médico-Chirurgicale (Elsevier, Paris), Odontologie, 23-010-A-20, 8 p.

Muller-Bolla M. *Épidémiologie de la carie et indicateurs de carie.* *Clinic.* 2015;338:S4-8.)

Nicolas, G. G., & Lavoie, M. C. (2011). *Streptococcus mutans* et les streptocoques buccaux dans la plaque dentaire. *Canadian journal of microbiology*, 57(1), 1-20

Nordmann P and Carrer A. (2010). *Les bapénèmases des enterobacteries.* Elsevier Masson. *Archives de Pédiatrie*;17:154-162

Obregón-Rodríguez N, Fernández-Riveiro P, Piñeiro M, Smyth E, Montes A, Suarez-Cunqueiro M. Prevalence and caries-related risk factors in schoolchildren of 12- and 15-year-old: a cross-sectional study. *BMC Oral Health.* 18 juin 2019;19.

Oulhaci JSM. *Approche contributive à l'évaluation du risque carieux individuel chez 700 enfants âgés de 7 et 13 ans de la ville d'Oran.* [Thèse de doctorat]. [Oran] : Université ORAN 1 Ahmed Ben Bella Faculté de Médecine ; 2016.

Philippe J. M. (1999). *Le guide de l'apiculteur.* Troisième Edition EDISUD. P1087

PIETTE. E et MAHY. P. (2005), *Stomatites bactériennes « non spécifiques »,* Elsevier SAS. N° 22-045-A-10. Page 1, 2, 3.

R.N. Das, T.S. Chandrashekhar, H.S. Joshi, M. Gurung, N. Shrestha, P.G. Shivananda Frequency and susceptibility profile of pathogens causing urinary tract infections at a tertiary care hospital in Western Nepal Singapore Med J, 47 (4) (2006), pp. 281-285

Robin F, Gibold L, Bonnet R. (2012). Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries :comment les identifier en pratique quotidienne ?. REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES N° 445 //.

Roux A, Ghigo J. 2006. Bacterial biofilms, Académie-vétérinaire- de France. 159(3), pp 261-268.

Santé bucco-dentaire – Aide- mémoire 2012. Genève.

Sedgley C.M. et Samaranayake L.P., 1994. The oral prevalence of aerobic and facultatively anaerobic gram-negative rods and yeasts in Hong Kong Chinese. Arch. Oral. Biol., 39(6):459-66.

Shetty K.P., Satish S.V., Gouda V., Badade A.R., Gouda B., Patil S. (2016). Comparative evaluation and effect of organic and inorganic fluoride dentifrices on enamel microhardness: An in vitro study. J Int Soc Prev Community Dent: 6(2):130-3.

Sixou, M., Diouf, A., & Alvares, D. (2007). Biofilm buccal et pathologies buccodentaires. Antibiotiques, 9(3), 181-188

Takane VV., Jatti R., Bhat K., Keshan D., Keluskar K., et al. (2018). Microbiological Evaluation of Biofilm Formation on the Fixed Twin Block Appliance: A Clinical Trial International Journal of Oral and Dental Health, 4:1-2.

Tanner A. C. R., Mathney J. M. J., Kent R. L., Chalmers N. I., Hughes C. V., Loo C.Y., Pradhan N., Kanasi E., Hwang J., Dahlan M. A., Papadopolou E. et Dewhirst F. E.,2011. Cultivable Anaerobic Microbiota of Severe Early Childhood Caries. J. Clin.Microbiol., 49(4) : 1464-1474.

Tremblay S. (2007) Étude moléculaire du recrutement des genes de resistance aux antibiotiques. Doctoral dissertation. Université Laval.

Tremblay YD, Hathroubi S, Jacques M. 2014. Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. Canadian J. Vet Res. 78(2), pp 110- 116.

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.

WEISEN JP .2020. La stratégie de la lutte anti-mammite. La prophylaxie des mammites. Ed. Vigot Frère, Paris, 43-79

Wright, Engin. H. Özen, Can, Edward. (2008). Studies of enzymes that cause resistance to aminoglycosides antibiotics *New Antibiotic Targets*: Springer. P 261-271

Annexe1 : Nature et période de prélèvement

P	Age	Sexe	Site de prélèvement	Date et l'heure	Lieu de prélèvement et pathologies
01	11	G	Surfaces dentaires et cavité buccale	19.02.2022 à 08 :00.	Chetouane, Tlemcen Caries dentaires
02	5	G	Surfaces dentaires et cavité buccale	19.02.2022 à 07 :00	Boudjlida, Tlemcen Caries dentaires
03	12	F	Surfaces dentaires et cavité buccale	19.02.2022 à 09 :00	400, Tlemcen Aucune pathologie
04	12	G	Surfaces dentaires et cavité buccale	26.02.2022 à 07 :00	Chetouane, Tlemcen Caries dentaires
05	10	F	Surfaces dentaires et cavité buccale	26.02.2022 à 08 :00	Makhoukh, Tlemcen Caries dentaires
06	11	G	Surfaces dentaires et cavité buccale	26.02.2022 à 08:30	400, Tlemcen Caries dentaires
07	1	F	Surfaces dentaires et cavité buccale	02.03.2022 à 09 :00	Beni snous, Tlemcen Aucune pathologie
08	11	G	Surfaces dentaires et cavité buccale	05.03.2022 à 08 :30	Chetouane, Tlemcen Caries dentaires
09	5	G	Surfaces dentaires et cavité buccale	05.03.2022 à 07 :00	Makhoukh, Tlemcen Caries dentaires
10	9	F	Surfaces dentaires et cavité buccale	05.03.2022 à 07 :15	Makhoukh, Tlemcen Aucune pathologie
11	13	G	Surfaces dentaires et cavité buccale	05.03.2022 à 07 :30	Makhoukh, Tlemcen Caries dentaires
12	8	F	Surfaces dentaires et cavité buccale	05.03.2022 à 08 :00	Maghnia, Tlemcen Caries dentaires

Annexe 2 : Résultat des prélèvements

Patients	Sexe	Fréquence de brossage	Bactéries à Gram négative	Pathologie bucco dentaire
1	Garçon	Irrégulière	-	carie
2	Garçon	Irrégulière	-	carie
3	Fille	1/jour	+	Non carie
4	Garçon	Irrégulière	-	carie
5	Fille	Irrégulière	-	carie
6	Garçon	1/jour	-	carie
7	Fille	/	-	/
8	Garçon	1/jour	+	carie
9	Garçon	1/jour	+	carie
10	Fille	2/jour	+	Non carie
11	Garçon	Irrégulière	-	carie
12	Fille	Irrégulière	-	carie

Annexe 3 : Tableau de lecture de la galerie API 20 E

Tests	Composants actifs	Réaction enzymatique	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl- β -Galactoside	β -galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
ODC	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Trisodium citrate	Utilisation citrate	Vert pale/Jaune	Bleu-vert / Bleu
H₂S	Sodium thiosulfate	Production de H ₂ S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge-orangé
TDA	L-tryptophane	Tryphtophane Désaminase	Jaune	Marron- rougeâtre ^(*)
IND	Production d'indole	Production d'indole	Incolore-vert pale/jaune	Rose ^(*)
VP	Sodium pyruvate	Production d'acétoine	Incolore-rose pale	Rose/rouge ^(**)
GEL	Gélatine (origine bovine)	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation -oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune/jaune gris
MAN	D-mannitol	Fermentation- Oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation- Oxydation	Bleu /bleu vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation- Oxydation	Bleu / bleu vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	Fermentation- Oxydation	Bleu / bleu vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation-	Bleu / bleu vert	Jaune

		Oxydation		
MEL	D-mélobiose	Fermentation- Oxydation	Bleu / bleu vert	Jaune
AMY	Amygladine	Fermentation- Oxydation	Bleu / bleu vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation- Oxydation	Bleu / bleu vert	Jaune

(*) : Réaction immédiat ; (**) : VP1 + VP2 / 10 minutes

Annexe 4 : Tableau d'identification du catalogue analytique API 20 E

api® 20 E TM

07584J - xl - 2010/05

TABLEAU D'IDENTIFICATION / IDENTIFICATION TABLE / PROZENTABELLE / TABLA DE IDENTIFICACION / TABELLA DI IDENTIFICAZIONE / QUADRO DE IDENTIFICAÇÃO
ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗΣ / IDENTIFIKATIONSTABEL / IDENTIFIERINGSTABELL / TABELA IDENTYFIKACYJNA

% de reações positivas após 18-24 / 48 h à 36°C ± 2°C / % of positive reactions after 18-24 / 48 hrs. at 36°C ± 2°C / % der positiven Reaktionen nach 18-24 / 48 h bei 36°C ± 2°C /
% de las reacciones positivas después de 18-24 / 48 h a 36°C ± 2°C / % di reazioni positive dopo 18-24 / 48 ore a 36°C ± 2°C / % de reacções positivas após 18-24 / 48 h a 36°C ± 2°C /
% θετικών αντιδράσεων μετά από 18-24 / 48 ώρες στους 36°C ± 2°C / % positiva reaktioner efter 18-24 / 48 timmar vid 36°C ± 2°C / % af positive reaktioner efter 18-24 / 48 timer ved 36°C ± 2°C /
% pozytywnych reakcji po 18-24 / 48 godzinach w 36°C ± 2°C

API 20 E	V4.1	CNPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NC2	N2	MOB	McC	OF10	OFF	
<i>Bifidobacterium agrestis</i>		100	0	0	85	25	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	99	0	92	99	100	0	100	0	100	100	100	100	
<i>Cedoeba daviseae</i>		99	89	0	99	75	0	0	0	0	89	0	100	100	10	0	0	100	0	100	1	0	99	0	87	100	100	100	
<i>Cedoeba lapagei</i>		99	99	0	0	75	0	0	0	0	90	0	100	99	0	0	0	0	1	100	1	0	100	0	87	100	100	100	
<i>Citrobacter braaki</i>		50	45	0	99	75	81	1	0	4	0	0	100	100	1	100	100	1	91	99	99	0	100	0	95	100	100	100	
<i>Citrobacter freundii</i>		90	24	0	0	75	75	1	0	1	0	0	100	99	25	99	99	99	82	40	99	0	100	0	95	100	100	100	
<i>Citrobacter koseri</i>		89	75	0	100	97	0	1	0	0	98	0	100	100	25	99	99	99	99	98	99	0	100	0	95	100	100	100	
<i>Citrobacter koseri</i>		99	72	0	100	25	0	1	0	0	99	0	100	100	1	99	99	99	80	99	99	0	100	0	95	100	100	100	
<i>Citrobacter youngiae</i>		100	50	0	1	80	80	0	0	1	0	0	100	100	0	95	100	1	0	25	100	0	100	0	85	100	100	100	
<i>Edwardsiella hoshinae</i>		0	0	100	99	50	94	0	0	0	99	0	100	100	0	0	1	100	0	0	1	0	100	0	100	100	100	100	
<i>Edwardsiella tarda</i>		0	0	100	99	1	75	0	0	0	99	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	98	100	100	100	
<i>Enterobacter aerogenes</i>		99	0	99	98	82	0	1	0	0	85	0	99	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	97	100	100	100	
<i>Enterobacter amnigenus</i> 1		99	25	0	99	40	0	0	0	0	75	0	100	100	0	1	100	99	99	99	99	0	100	0	92	100	100	100	
<i>Enterobacter amnigenus</i> 2		99	80	0	99	80	0	0	0	0	75	0	100	100	0	99	100	1	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100	
<i>Enterobacter asburiae</i>		100	25	0	99	80	0	0	0	0	10	0	100	99	25	100	0	99	0	100	100	0	100	0	95	100	100	100	
<i>Enterobacter cancerogenus</i>		100	75	0	99	99	0	0	0	0	89	0	100	100	0	1	100	1	1	100	100	0	100	0	99	100	100	100	
<i>Enterobacter cloacae</i>		98	82	1	92	90	0	1	0	0	85	0	99	99	12	90	85	96	90	99	99	0	100	0	95	100	100	100	
<i>Enterobacter gergoviae</i>		99	0	32	100	75	0	0	0	0	90	0	100	99	23	1	100	99	100	99	100	0	100	0	90	100	100	100	
<i>Enterobacter intermedius</i>		99	0	0	99	1	0	0	0	0	2	0	100	97	0	88	99	40	100	99	99	0	100	0	92	100	100	100	
<i>Enterobacter sakazakii</i>		100	96	0	91	94	0	1	0	25	91	10	100	100	75	8	99	99	99	99	99	0	100	0	96	100	100	100	
<i>Escherichia coli</i> 1		90	1	74	70	0	1	3	0	0	89	0	99	98	1	91	82	36	75	3	99	0	100	0	95	100	100	100	
<i>Escherichia coli</i> 2		26	1	45	20	0	1	1	0	0	50	0	99	90	1	42	30	3	3	1	70	0	100	0	98	100	100	100	
<i>Escherichia fergusonii</i>		96	1	99	100	1	0	0	0	0	98	0	100	99	1	0	87	0	1	99	99	0	100	0	93	100	100	100	
<i>Escherichia hermannii</i>		100	0	1	100	1	0	0	0	0	99	0	100	100	0	0	99	25	0	99	99	0	100	0	99	100	100	100	
<i>Escherichia vulneris</i>		100	30	50	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	1	95	7	95	95	99	0	100	0	100	100	100	100	
<i>Erwinella americana</i>		98	0	0	0	75	0	0	0	0	95	1	99	99	0	0	1	0	1	50	1	0	100	0	60	100	100	100	
<i>Hafnia alvei</i> 1		75	0	99	98	50	0	10	0	0	50	0	99	99	0	1	99	0	0	25	99	0	100	0	85	100	100	100	
<i>Hafnia alvei</i> 2		50	0	99	99	1	0	1	0	0	10	0	99	99	0	1	1	1	0	0	1	0	100	0	100	100	100	100	
<i>Klebsiella oxytoca</i>		99	0	80	0	89	0	78	0	0	99	80	0	100	100	99	100	99	100	100	100	0	100	0	100	100	100	100	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>ozaenae</i>		94	18	25	1	18	0	1	0	0	1	0	99	96	57	66	58	20	80	97	85	0	100	0	92	100	100	100	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>pneumoniae</i>		89	0	73	0	86	0	75	0	0	90	0	100	99	99	99	99	99	99	99	99	0	100	0	100	100	100	100	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>rhinoscleromatis</i>		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	100	90	90	75	75	1	99	10	0	100	0	100	100	100	100	
<i>Kluyvera</i> spp.		95	0	25	99	60	0	0	0	0	80	0	100	99	0	25	93	89	99	99	99	0	100	0	95	100	100	100	
<i>Lactercia adacarboxylata</i>		99	0	0	0	0	0	1	0	0	99	0	1	100	99	0	2	100	66	99	99	100	0	100	0	100	100	100	
<i>Moraxella wisconsinensis</i>		97	0	0	0	40	0	0	0	0	15	1	0	100	1	0	0	0	100	99	0	0	0	100	0	90	100	100	100
<i>Morganella morganii</i>		1	0	10	98	1	1	99	93	99	0	0	99	0	0	0	0	1	0	0	0	0	100	0	88	95	100	100	100
<i>Pantoea</i> spp. 1		85	1	0	0	13	0	1	0	1	9	1	100	99	1	26	1	98	26	59	61	0	100	0	85	100	100	100	
<i>Pantoea</i> spp. 2		99	1	0	0	99	0	1	0	0	53	62	4	100	99	36	82	90	98	81	99	99	0	100	0	85	100	100	100
<i>Pantoea</i> spp. 3		99	1	0	0	21	0	1	0	1	86	15	100	99	34	1	97	93	23	65	97	0	100	0	85	100	100	100	

API 20 E	V4.1	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO2	NZ	MOB	McC	OF10	OF11	
Salmonella ser. Paratyphi A		0	5	0	99	0	1	0	0	0	0	0	100	99	0	99	98	0	96	0	99	0	100	0	95	100	100	100	
Salmonella ser. Pullorum		0	1	75	100	0	85	0	0	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0	0	75	0	100	0	100	100	100	100	
Salmonella typhi		0	1	99	0	0	8	0	0	0	0	0	100	99	0	99	0	0	99	0	0	0	100	0	97	100	100	100	
Salmonella spp.		1	56	82	93	65	83	0	0	1	0	1	99	100	40	99	86	1	90	1	99	1	100	0	95	100	100	100	
Serratia ficaria		99	0	0	0	100	0	0	0	0	0	40	90	100	50	99	74	98	99	100	98	0	92	0	100	100	100	100	
Serratia fonticola		99	0	73	99	75	0	0	0	0	0	0	100	100	97	100	99	30	99	99	98	0	99	0	91	100	100	100	
Serratia liquefaciens		95	1	78	98	80	0	2	0	0	0	89	65	100	99	80	98	2	99	72	97	0	100	0	95	100	100	100	
Serratia marcescens		94	0	95	95	96	0	25	0	1	70	87	100	99	85	98	1	99	68	97	25	0	95	0	97	100	100	100	
Serratia odorifera 1		95	0	95	99	95	0	0	0	99	50	99	100	99	99	99	99	99	99	99	99	0	99	0	100	100	100	100	
Serratia odorifera 2		95	0	96	1	95	0	0	0	98	50	99	100	99	99	99	99	1	99	99	95	0	99	0	100	100	100	100	
Serratia plymuthica		99	0	0	0	65	0	0	0	0	65	50	100	90	70	70	1	99	85	98	98	0	99	0	50	100	100	100	
Serratia rubidaea		99	0	30	0	92	0	1	0	0	71	82	99	99	75	1	3	99	95	99	99	0	100	0	85	100	100	100	
Shigella spp.		1	0	0	1	0	0	0	0	29	0	0	99	63	0	7	7	1	20	0	50	0	100	0	100	100	100	100	
Shigella sonnei		96	0	0	93	0	0	0	0	0	0	0	99	99	0	1	75	1	1	0	99	0	100	0	100	100	100	100	
Yersinia enterocolitica		80	0	0	90	0	0	98	0	50	5	0	99	99	25	98	1	99	4	75	75	0	98	0	2	100	100	100	
Yersinia frederiksenii/intermedia		99	0	0	75	1	0	99	0	99	1	0	100	99	25	99	99	99	1	99	99	0	98	0	5	100	100	100	100
Yersinia kristensenii		80	0	0	80	0	0	99	0	97	0	0	100	99	10	99	0	0	0	99	99	0	98	0	5	100	100	100	100
Yersinia pestis		68	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	99	99	0	70	0	0	0	30	30	0	47	0	0	99	100	100	100
Yersinia pseudotuberculosis		98	0	0	0	1	0	99	0	0	0	0	99	97	0	0	75	0	50	25	50	0	95	0	0	100	100	100	100
Aeromonas hydrophila gr. 1		98	90	25	1	25	0	0	0	85	25	90	99	99	1	3	5	97	1	75	75	100	97	0	95	99	99	99	99
Aeromonas hydrophila gr. 2		99	97	80	1	80	0	0	0	85	80	97	97	99	9	9	1	80	1	75	5	100	98	0	1	99	99	99	99
Aeromonas salmonicida ssp. salmonicida		1	60	1	0	0	0	0	0	1	0	75	50	64	0	0	0	0	0	1	0	100	98	0	1	99	99	99	99
Grimontia hollisae		1	0	0	0	0	0	0	0	94	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	99	99	99	99
Photobacterium damselae		1	99	75	0	1	0	98	0	0	10	1	50	0	0	0	0	1	0	0	0	100	100	0	25	99	99	99	99
Plesiomonas shigelloides		95	99	100	100	0	0	0	0	100	0	0	99	0	99	0	0	0	0	0	0	100	99	0	95	99	99	99	99
Vibrio alginolyticus		0	0	98	75	60	0	1	0	100	10	75	99	100	0	1	0	100	0	10	1	100	47	0	100	99	94	94	94
Vibrio cholerae		98	1	94	97	75	0	0	0	99	58	92	98	98	0	0	0	94	0	5	0	100	96	0	100	96	99	99	99
Vibrio fluvialis		95	99	0	0	1	0	0	0	80	0	75	75	80	0	1	0	75	0	36	75	100	100	0	100	99	99	99	99
Vibrio mimicus		99	0	99	99	50	0	0	0	99	1	99	99	99	0	0	0	0	0	0	0	100	95	0	100	95	99	99	99
Vibrio parahaemolyticus		0	0	100	99	50	0	1	0	100	1	75	100	99	0	0	1	1	0	12	50	100	63	0	100	98	99	99	99
Vibrio vulnificus		99	0	91	90	25	0	0	0	99	1	99	99	75	0	0	0	1	0	90	0	99	54	0	100	99	99	99	99
Pasteurella aerogenes		99	0	0	80	0	0	99	0	0	0	0	99	0	97	0	1	99	0	0	75	75	100	0	0	100	100	100	100
Pasteurella multocida 1		4	0	0	25	0	0	0	0	99	0	0	23	1	0	1	0	75	0	0	0	99	90	0	0	2	23	23	23
Pasteurella multocida 2		7	0	0	45	0	0	0	0	99	0	0	44	99	0	99	0	99	0	0	0	89	90	0	0	2	23	23	23
Pasteurella pneumotropica/Mannheimia haemolytica		60	0	1	10	0	0	25	0	15	7	3	35	12	12	12	1	35	1	2	1	80	99	0	0	9	33	33	33
Acinetobacter baumannii/calcoaceticus		0	0	0	0	51	0	1	0	0	5	5	99	0	0	0	0	0	99	1	99	0	3	0	0	90	98	0	0
Bordetella/Alcaligenes/Moraxella spp *		0	0	0	0	52	0	14	1	0	25	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95	62	1	75	75	0	0	0
Burkholderia cepacia		50	0	25	16	78	0	0	0	0	1	43	60	1	0	0	0	13	0	7	20	90	40	0	99	88	97	0	0
Chromobacterium violaceum		0	99	0	0	75	0	0	0	14	0	99	99	0	0	0	0	10	0	0	0	99	75	0	99	99	99	99	99
Chryseobacterium indologenes		5	0	0	0	12	0	90	0	75	0	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	20	0	0	57	90	10	10
Chryseobacterium meningosepticum		77	0	0	0	20	0	1	0	85	0	90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	6	0	0	48	93	6	6
Enterella cornedens		0	0	0	75	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	95	0	1	1	49	49	49
Myxides/Chryseobacterium indologenes		0	0	0	0	30	0	75	0	0	1	75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0	0	0	84	2	2	2
Ochrobactrum anthropi		15	0	0	0	30	0	25	1	0	15	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	10	42	60	99	99	47	0	0
Pseudomonas aeruginosa		0	89	0	0	92	0	25	0	0	1	75	50	0	0	0	0	1	10	1	25	97	12	56	97	100	96	0	0
Pseudomonas fluorescens/putida		0	75	0	0	75	0	0	0	10	27	25	0	0	0	0	0	25	1	20	99	26	0	100	96	93	0	0	0
Pseudomonas luteola		86	75	0	0	94	0	0	0	0	25	13	84	0	1	0	1	1	15	1	85	30	0	100	91	94	0	0	0
Pseudomonas oryzae/abundans		0	0	0	0	89	0	0	0	0	25	1	10	0	1	0	1	0	10	0	45	7	0	100	99	99	0	0	0
Non-fermenter spp		1	1	0	0	37	0	1	0	0	15	9	9	0	0	0	0	1	1	1	1	93	48	35	99	85	49	0	0

Annexe 5 : Concentration et diamètres critiques des antibiotiques utilisés (EUCAST, 2019)

Familles d'antibiotiques	Antibiotiques testés	Sigle	Charge du Disque (µg)	Diamètres critiques (mm)	
				S≥	R<
β-lactamine	Ampicilline	AMp	10µg	≥14	<14
Carbapénème	Ertapénème	Etp	10µg	≥25	<22
Aminosides	Amikacine	AK	30 µg	≥17	<13
	Tobramycine	TOB	10µg	≥17	<14
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	CIP	5µg	≥26	≥24

ملخص

دراسة علم الأحياء الدقيقة للفم تظهر تعقيداً شديداً. فعلى الواقع، من المهم أن نذكر أن التكاثر البيولوجي الفموي يضم ما يزيد عن 50 مليار بكتيريا، موزعة على أكثر من 700 نوع مختلف وأكثر من 20 جنساً متبايناً يتعايشون داخل النظام البيئي للفم. لذا، من الضروري التفريق داخل هذا التكاثر البيولوجي بين البكتيريا المعتمدة والمرتبطة بالأسطح المختلفة داخل تجويف الفم، بما في ذلك الأسطح السنوية. هدف هذه الدراسة هو توضيح الملامح الميكروبيولوجية لتجويف الفم لدى الأطفال الأصحاء الذين تتراوح أعمارهم بين 1 و 16 عامًا، ودراسة قدرة الجراثيم ذات الجرام السالب المعزولة على تكوين أفلام بكتيرية. تعتمد هذه التحديدات على اختبارات تي.إس.أي وجاليري أبي أظهرت اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية المجراة على هذه الميكروبات أن جميع السلالات كانت حساسة للمضادات الحيوية المستخدمة (الأمينوغليكوزيدات، فلوروكينولونات)، ولكنها مقاومة للبيتا لاكتام والكاربابينيم. أشارت نتائج الدراسة حول تكوين الأفلام البيولوجية إلى أن جميع السلالات كانت لديها القدرة على تكوين الأفلام. تؤكد هذه الدراسة أن بعض البكتيريا تظهر مقاومة للمضادات الحيوية، مما يبرز أنه لا يوجد علاج فعال تمامًا للأمراض الفموية، وبالتالي، تبقى الوقاية هي الوسيلة الوحيدة لمكافحة تكوين التسوس والحفاظ على الصحة الفموية.

الكلمات المفتاحية : تجويف الفم، البكتيريا، السلالة، المضاد الحيوي، klebsiella, pasteurilla, biofilm

Résumé

L'étude de la microbiologie buccale présente une complexité extrême. En effet, il est important de rappeler que la flore bucco-dentaire abrite une grande variété de bactéries (50 milliards), réparties en plus de 700 espèces différentes et plus de 20 genres distincts, cohabitant au sein de l'écosystème buccal. Il est important de faire une distinction au sein de cette flore entre les bactéries adhérentes fixées sur les diverses surfaces de la cavité buccale, notamment les surfaces dentaires. L'objectif de cette étude est de caractériser le profil microbiologique de la cavité buccale chez des enfants en bonne santé âgés de 1 à 16 ans, et d'analyser la capacité des germes à Gram négatif isolés à former des biofilms bactériens. Cette identification repose sur les tests de TSI, la galerie API 20 E et les tests de sensibilité aux antibiotiques. Ces démarches nous ont permis d'identifier 4 souches bactériennes de la cavité buccale klebsiella oxytoca 50%, klebsiella pneumoniae 25%, pasteurilla 25% pouvant devenir pathogènes en provoquant des infections buccales. Les tests de sensibilité aux antibiotiques réalisés sur ces microorganismes ont démontré que toutes les souches étaient sensibles aux antibiotiques utilisés (aminosides, fluoroquinolones), mais résistantes aux bêta-lactamines et aux carbapénèmes. Les résultats de l'étude sur la formation de biofilm ont indiqué que toutes les souches avaient la capacité de former des biofilms.

Mots clés : cavité buccale, bactéries, souche, antibiotique, klebsiella, pasteurilla, biofilm

Abstract

Studying oral microbiology proves to be extremely complex. It's important to emphasize that the oral flora hosts a vast variety of bacteria (over 50 billion), distributed across more than 700 different species and over 20 distinct genera, coexisting within the oral ecosystem. Therefore, it's crucial to differentiate within this flora the adherent bacteria attached to various surfaces of the oral cavity, particularly dental surfaces. The aim of this study is to characterize the microbiological profile of the oral cavity in healthy children aged 1 to 16 years and to analyze the ability of isolated Gram-negative germs to form bacterial biofilms. This identification is based on TSI tests, API 20 E gallery, and antibiotic sensitivity tests. These steps allowed us to identify 4 bacterial strains from the oral cavity that can become pathogenic and cause oral infections. The antibiotic sensitivity tests conducted on these microorganisms demonstrated that all strains were sensitive to the antibiotics used (aminoglycosides, fluoroquinolones), but resistant to beta-lactams and carbapenems. The results of the biofilm formation study indicated that all strains had the ability to form biofilms.

Key words: oral cavity, bacteria, strain, antibiotic, klebsiella, pasteurilla, biofilm