



MAST-579-36/01

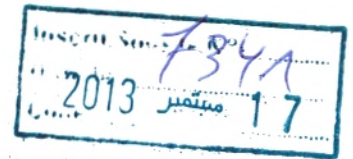
UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie
Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement
مركز الميكروبيولوجيا التطبيقية للاغذية للبيوطي وللبيئة



Mémoire de master

Filière : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Option : MICROBIOLOGIE



Présenté par

HAMIDI Djazia

Intitulé du Thème

**Effet de quelques agents antimicrobiens sur un modèle de
biofilm dentaire *in vitro***

Soutenu le : 12 Juin 2013

Devant le jury composé de :

Mr REBIAHI Sid Ahmed

Maitre de Conférences B

Président

Mme HASSAINE Hafida

Maitre de Conférences A

Promoteur

Mme BOUBLENZA Lamia

Maitre assistant chargé de cours

Examinatrice

Mme OUSSAADIT Zakia

Professeur en chirurgie dentaire

invité d'honneur



Année Universitaire : 2012-2013



UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
et des Sciences de la Terre et de l'Univers**
Département de Biologie

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement
مخبر الميكربيلوجيا التطبيقية للاغذية للبيوطي وللبيئة



Mémoire de master

Filière : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Option : MICROBIOLOGIE

Présenté par

HAMIDI Djazia

Intitulé du Thème

**Effet de quelques agents antimicrobiens sur un modèle de
biofilm dentaire *in vitro***

Soutenu le : 12 Juin 2013

Devant le jury composé de :

Mr REBIAHI Sid Ahmed	Maitre de Conférences B	Président
Mme HASSAINE Hafida	Maitre de Conférences A	Promoteur
Mme BOUBLENZ A Lamia	Maitre assistant chargé de cours	Examinatrice
Mme OUSSAADIT Zakia	Professeur en chirurgie dentaire	invité d'honneur

Année Universitaire : 2012-2013

Remerciements

A ma directrice de thèse, Mme Hassaine Hafida

Vous m'avez honoré en acceptant de diriger ce travail. Pendant toute la rédaction de ce mémoire, vous avez su nous guider avec patience et gentillesse. Vous m'avez permis de profiter pleinement de vos connaissances, de vos encouragements et de votre soutien ainsi que de votre bonne humeur. Soyez assuré de ma profonde gratitude et de ma vive reconnaissance.

A notre juge et mètre, de conférences classe B à l'université de Tlemcen Monsieur Rebiahi Sid

Ahmed

Vous m'avez fait le grand honneur d'accepter la présidence du jury de ce mémoire et je vous remercie de la confiance que vous avez bien voulu m'accorder. Je suis reconnaissante pour l'enseignement clinique et théorique que vous m'avez apporté durant toutes nos études. Nous n'oublierons pas la grande disponibilité et la gentillesse dont vous avez toujours fait preuve à notre égard. Nous vous prions de trouver dans ce travail l'expression de notre plus profond respect.

A notre juge, Mme Lamia BOUBLENTA, Maître- Assistant Chargé de Cours à l'université de

Tlemcen

Vous avez bien voulu accepter de juger notre travail et je suis reconnaissante d'y avoir prêté attention. Je vous remercie pour votre disponibilité. Soyez assuré de ma reconnaissance et ma profonde considération.

A Samia, Wafa, Nassima, Khadija- doctorantes

Qui m'ont beaucoup aidé à la réalisation de ce travail. J'adresse mes sincères remerciements, je n'oublierai pas la grande disponibilité et la gentillesse dont vous avez toujours fait preuve à mon égard

Enfin, je remercie tous:

Mes confrères du laboratoire LAMAABE.

Dédicaces

A l'aide d'ALLAH le tout puissant. En témoignage d'amour et de respect, je dédie ce modeste travail à :

A mes chers parents

*Qui ont fait de moi la femme d'aujourd'hui qui m'ont encouragé, aidé, guidé, conseillé et soutenu. Et de la présence que vous avez toujours su manifester tout au long de mes études
Que Dieu me les garde et que vie nous donne temps pour les remercier.*

A mes frères / sœur

Aymen et mounis

Israa , qui je souhaite réussite et persévérance dans tous ce qu'elle empreindra.

A Mon oncle Fouad, Zeme père pour moi

Qui ma toujours été de bon conseil et été à l'écoute.

A mes tantes

Karima et souad à qui je dis grand Merci.

A mes cousines

Bouchra, Soumia ,amina, hanaa, asma

A mes amies

*Ghyselene, Sarah, Imen, Naziha, Amina, Ismahan, Ikram, Hadjer, Sarah, Bouchra ,Meriem, Fatima, Wafaa, Samia. Merci pour tous les merveilleux moments passés ensemble.
Et ce n'est pas fini !!*

A tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail,

A tous ceux que j'ai oublié...

Excusez-moi

Table des matières

Table des matières	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
I. Synthèse bibliographique	3
1 Présentation de la microbiologie orale.....	3
2 Ecosystème prothétique	3
3 Matériaux prothétique	4
3-1 Les prothèses dentaires.....	4
3-2 Matériaux utilisés pour les prothèses amovibles.....	5
3-3 État de la surface prothétique	5
3-4 Réactions allergiques aux matériaux prothétiques	6
4 Biofilm	6
4-1 Les biofilms prothétiques	7
4-2 Mécanismes fondamentaux de l'adhésion bactérienne.....	8
4-2-1 Adhésion réversible des bactéries aux structures dentaires	8
4-2-2 Adhésion irréversible aux structures dentaires	8
4-3 La maturation du biofilm dentaire	9
4-4 Croissance de la flore orale	9
5 La plaque microbienne sous prothétique.....	9
6 Les propriétés du biofilm	11
6-1 La résistance aux antiseptiques.....	11
6-2 La résistance aux désinfectants.....	12
6-2-1 Définition de la désinfection.....	12
6-2-2 Modes d'action des désinfectants	12
6-2-3 Mécanisme d'action générale	12
6-2-4 Sensibilité bactérienne aux agents antimicrobiens : notion de résistance et tolérance...13	
7 Les infections buccales induites par un appareil orthodontique non désinfecté	14
II Matériels et méthodes	
1 Prélèvements (Lieu et populations).....	15
2 Prélèvements et ensemencements.....	15

3	Identification	15
3-1	Bactéries à gram positif : Staphylocoques	15
3-1-1	Recherche de la coagulase.....	15
3-1-2	Plaques Api Staph/ API20E.....	16
3-2	Identification par la galerie	19
4	Evaluation de la formation du biofilm	19
4-1	La méthode de plaque de culture de tissus (TCP).....	19
4-2	La méthode du rouge Congo.....	19
5	Test de sensibilité des bactéries adhérees aux différents agents antimicrobiens	20

III Résultats et discussion

1.	Prélèvement	22
2.	Identification.....	22
2.1	Identification du genre Staphylococcus.....	22
2.2	Identification des Gram négatif	25
3.	L'évaluation de la formation du biofilm	29
4.	Test de sensibilité des bactéries adhérees aux différents agents antimicrobiens.....	32

IV- Conclusion36

V Références Bibliographiques 37

VI Annexes41

Liste des abréviations

BHIB : Bouillon cœur cerveau

EDS : Eau distillé stérile

GN : Gélose nutritive

RCA : La méthode du Rouge Congo

TCP : La méthode de plaque de culture de tissus

Liste des tableaux

Tableau 1 : Tableau récapitulatif de questionnaire d'hygiène .

Tableau 2 : Résultats de la production de slime par la méthode RCA.

Tableau 3 : Résultats de formation de biofilm par la méthode TCP.

Liste des figures

Figure 1 : Biofilm prothétique. Observation en microscopie à balayage du biofilm à la surface d'une résine prise après 21 jours de port (Etienne, 2004).

Figure 2: La présence du biofilm sur un appareil orthodontique amovible (Deslauriers et al., 1999).

Figure 3: Etapes de formation du biofilm dentaire (Svensater et Bergenholtz, 2004).

Figure 4 : Technique d'identification.

Figure 5 : Aspect des colonies de *S. aureus* / *Staphylococcus spp.*

Figure 6 : Répartition des Staphylocoques isolés des prothèses étudiés (Clinique dentaire – CHU - Tlemcen).

Figure 7 : Différents biotypes des staphylocoques isolés des prothèses dentaires (Clinique dentaire - CHU-Tlemcen).

Figure 8 : Répartition des bactéries à Gram négatifs isolées de prothèses étudiées (Cabinet dentaire CHU - de Tlemcen).

Figure 9 : Aspect morphologique des Gram négatif identifiés.

Figure 10: Différentes souches isolées de prothèses dentaires Clinique dentaire CHU Tlemcen.

Figure 11 : Phénotype de production de slime (négatif / variable / positif).

Figure 12: la lecture des microplaques (*K. pneumoniae*, *A. baumannii* / *E. coli* 1, *A. hydrophila*).

Figure 13 : Effet des différents détergents sur le biofilm de *Klebsiella pneumoniae* sur prothèse *in vitro*.

Figure 14 : Résultats retrouvés du dénombrement.

Introduction

La cavité buccale est milieu qui abrite une flore microbienne très abondante. L'insertion d'une prothèse amovible complète, influence l'écosystème buccal et crée un nouvel équilibre (**Laza, 2010**).

La surface interne des prothèses dentaires amovibles, présente de nombreuses irrégularités et microporosités qui favorisent la colonisation et la pénétration des bactéries et des levures dans la base de la résine acrylique (**Sesma, 2005**).

Cette modification de la flore en rapport avec le port prothétique est à l'origine de la formation à la surface des appareils, d'un biofilm microbien, de structure et de composition complexe, qui induit un certain nombre de pathologies s'il n'est pas ou mal éliminé, en d'autres termes si l'hygiène est insuffisante ou absente. Il s'en suit fréquemment l'apparition d'une pathologie spécifique : la stomatite prothétique. Cela se traduit par des lésions superficielles des muqueuses orales kératinisées provoquées par une population microbienne à la surface de la résine mal décontaminée par le patient, le cas de la candidose est décrite pour beaucoup d'auteurs « la maladie du malade » et peut être un signe révélateur d'une pathologie sous-jacente (**Tubiana, 2005**).

L'élimination efficace du biofilm exige une certaine dextérité manuelle qui manque souvent, surtout chez les patients âgés. Pour ces patients, une combinaison de nettoyage mécanique et chimique avec l'immersion des prothèses dentaires dans les nettoyants est obligatoire pour réduire l'accumulation des biofilms microbiens sur les prothèses amovibles (**Fernandes, 2010**). Apparemment, le nettoyage mécanique des prothèses dentaires est une mesure efficace pour le contrôle de routine du biofilm et l'un des plus courants méthodes. Cependant, l'utilisation de nettoyants chimiques pour les prothèses dentaires peut produire des résultats plus efficaces. (**Uludamar, 2010**).

L'élimination du biofilm prothétique joue donc un rôle majeur dans le maintien de la santé orale. A ce titre, l'hygiène des prothèses dentaires devient un élément primordial, outre les procédures de nettoyage classique de base des muqueuses, la mise en place de revêtement sur les surfaces prothétiques qui empêcherait le développement des biofilms est une autre manière efficace et non toxique. Les perspectives actuelles sont donc de limiter l'adhérence bactérienne et fongique en améliorant l'état de surface des résines d'acrylique (**Tubiana, 2005**).

Objectifs

Cette étude vise à :

- Evaluer et rechercher une flore dominante sur prothèses mobiles (bactéries) chez des personnes âgées porteuses de prothèse.
- Rechercher la capacité d'adhésion de certaines bactéries dominantes à former un biofilm.
- Etudier l'effet de certains désinfectants et antimicrobiens utilisés en général par les patients porteurs de prothèses sur quelques bactéries formatrices de biofilm.

Partie

Bibliographique

I Synthèse bibliographique

1. Présentation de la microbiologie orale

On décrit dans la cavité buccale, plus de 700 espèces bactériennes distinctes, des virus, des levures et des protozoaires (Marsh et Martin, 2009). La recherche en biologie orale, se préoccupe surtout des bactéries et des levures, moins des virus ; elle néglige les protozoaires (Courtois et al., 1995). Les bactéries vivent en double équilibre : en équilibre mutuel et en équilibre avec les tissus bordant la cavité orale. Une bonne compréhension de la microbiologie bucco-dentaire ne peut donc s'obtenir que dans une perspectives de « niches écologiques » et les pathologies infectieuses (caries dentaires, infection des muqueuses) de la bouche doivent être considérées comme des ruptures d'un équilibre écologique. Les micro-organismes buccaux sont présents soit en suspension dans la salive soit organisés en biofilm adhérant aux surface orales (Ahaiz, 2012).

2. Ecosystème prothétique

En odontologie, l'application d'une protection antimicrobienne à l'interface du matériau trouve aussi de nombreuses indications potentielles. Parmi celles-ci, la protection des résines acryliques, largement utilisées dans les domaines prothétiques, est une indication de premier ordre. En effet, la surface de la résine acrylique est très rapidement envahie par la flore commensale de la bouche. Les porosités de surface contribuent largement à créer ces niches écologiques. Les dépôts bactériens et fongiques ainsi établis sont des réservoirs infectieux alimentant en permanence les biofilms des surfaces dentaires et de la muqueuse buccale. Elles participent ainsi à l'aggravation des pathologies carieuses, parodontales, voire parfois à l'établissement d'une stomatite candidosique sous-prothétique. Cette dernière introduction constitue la forme de candidose la plus fréquente en bouche, impliquant principalement *Candida albicans* associé à d'autres micro-organismes. Elle s'observe presque exclusivement au maxillaire où la prothèse isole plus efficacement la muqueuse palatine de la salive et de ses agents antimicrobiens. Les diverses études épidémiologiques rapportent des taux moyens d'environ 50% des porteurs de prothèses amovibles présentant, à des stades d'évolution divers, une stomatite sous-prothétique (Etienne, 2004).

3. Matériaux prothétique

Les matériaux peuvent être allergisants, toxiques, affectés par la corrosion et/ou favoriser la colonisation bactérienne. La biocompatibilité des matériaux dentaires est essentielle pour leur performance d'ensemble et pour la sécurité et le bien-être des patients. Nous nous intéressons dans notre étude aux prothèses dentaires.

3.1 Les prothèses dentaires

Une prothèse dentaire est un dispositif destiné à reconstruire une dent délabrée suite à une carie ou une fracture. Elle permet également de remplacer des dents manquantes, soit par un moyen fixe (bridge et implant), soit par des appareils amovibles (à base métallique ou en résine).

Les types de prothèses dentaires existantes sont :

- la prothèse fixée
- la prothèse amovible (prothèse totale et prothèse partielle)
- la prothèse sur implant

- **Prothèse amovible**

Une prothèse amovible est, comme son nom l'indique, une prothèse qui peut s'enlever. Elle remplace généralement plusieurs dents. Souvent, la prothèse amovible constitue un choix plus économique auquel on a recours lorsque la prothèse fixe dépasse le budget dentaire établi ou que son indication n'est pas fondée. Elle comporte une base servant de support aux dents artificielles. Le plus souvent, cette base est en résine acrylique imitant la gencive alors que les dents artificielles sont en résine ou en céramique.

La base de la prothèse dentaire s'appuie en partie sur les dents restantes, en partie sur la gencive et l'os sous-jacent. L'armature peut-être en métal pour la rendre moins encombrante et agressive pour les dents restantes. La prothèse dentaire est dite partielle lorsqu'il reste dans la bouche des dents sur lesquelles elle est retenue par des crochets. Elle est dite totale lorsqu'il n'y a plus de dents. Sa retenue se fait alors sur la muqueuse buccale, sur des racines dentaires ou sur des implants dentaires.

➤ **Prothèse amovible partielle**

La prothèse amovible partielle remplace les dents manquantes parmi les dents restantes. Des crochets s'insérant sur les dents naturelles ou couronnées assurent sa rétention. Constituée d'une base en résine servant de support aux dents artificielles ou d'une armature métallique en chrome-cobalt ou en titane aussi appelée châssis métallique, elle est garnie de selles acryliques supportant les dents de remplacement.

➤ **Prothèse amovible complète**

La prothèse amovible complète remplace la totalité des dents d'une arcade. Elle fonctionne sur le principe de la juxtaposition de deux surfaces identiques. Sa rétention découle du principe de la goutte d'eau entre deux lames de verre. La salive joue le rôle de l'eau et assure le joint de rétention.

3.2 Matériaux utilisés pour les prothèses amovibles

Plusieurs types de prothèses dentaires peuvent être proposés en fonction du nombre de dents à remplacer. Certaines prothèses ont une base en résine, d'autres sont réalisées à partir d'une plaque métallique coulée. La résine convient pour les appareils provisoires qui s'imposent au moment des extractions dentaires ; elle permet des réalisations moins onéreuses. Plus solide, le métal permet d'obtenir des plaques plus fines. Pour les appareils partiels, il permet de réduire la surface d'appui et de bien respecter la gencive autour des dents restantes. Les dents utilisées pour la réalisation des prothèses amovibles sont de deux types : les dents en porcelaine et les dents en acrylique. Les dents en porcelaine sont très esthétiques et bien plus robustes que les dents en acrylique. Leur inconvénient majeur est qu'elles font du bruit quand elles claquent.

3.3 État de la surface prothétique

L'état de surface prothétique influence grandement les propriétés chimiques et physiques du matériau. Il peut favoriser la corrosion, augmenter l'importance des réactions toxiques ou allergiques et des irritations mécaniques. Enfin, la structure et la texture du matériau, les macroporosités et microporosités auront une incidence sur l'accumulation de la plaque. Un polissage soigneux des surfaces prothétiques est indispensable.

3.4 Réactions allergiques aux matériaux prothétiques

L'allergie ou hypersensibilité à l'instar du choc anaphylactique vrai, est une réaction immunologique en trois temps :

- une phase de contact entre l'organisme et l'allergène ;
- une phase d'incubation
- une phase de second contact avec la substance allergénique qui déclenche alors la réaction allergique (**Jame et al., 2002**).

4 Biofilm

Ce concept a émergé il y a une dizaine d'années après la constatation de phénomènes contradictoires comme:

- la persistance au niveau de la cavité buccale de bactéries anaérobies dans un milieu où les conditions aérobies prédominaient ;
- la présence de bactéries anaérobies parodontopathogènes ne provoquerait pas systématiquement la maladie ;
- la sensibilité de certaines bactéries à des molécules antibiotiques serait différente *in vivo*, *qu'in vitro*.

Ces différents phénomènes trouveraient un début d'explication si l'on considère la plaque bactérienne non pas comme une accumulation de 400-450 espèces de bactéries, mais plutôt comme une communauté spécifique de bactéries adhérentes sur une surface, les unes aux autres, en interaction et dans une structure complexe appelée « biofilm » (**Jame et al., 2004**). Sur le plan médical, la matrice du biofilm peut héberger des composants «extramicrobiens» provenant de l'hôte. Les biofilms dentaires peuvent par exemple, utiliser les protéines de la salive à la surface de la pellicule pour s'attacher aux dents (**Liesse Iyabmba, 2012**) et c'est le cas de notre sujet (les biofilms dentaire ou prothétiques).

4.1 Les biofilms prothétiques

Selon le professeur **Coenye** du département de microbiologie, à l'université de Gand, les appareils orthodontiques amovibles et les appareils dentaires sont des matériaux très favorables pour l'adhérence et la pénétration des micro-organismes. Les matériaux utilisés pour la fabrication de ces appareils sont adéquates pour que les champignons et les bactéries s'attachent et pénètrent en formant un gel tridimensionnel, ce que l'on appelle le biofilm. Dans ce biofilm, les micro-organismes sont protégés de leur environnement, se sentent bien, et se multiplient donc encore plus. Même si les cellules microbiennes sont invisibles, le biofilm est souvent visible sur les appareils **Etienne, 2004. (Figure 1).**

Dans la bouche nous trouvons la plupart du temps un biofilm mixte, composé de champignons et de bactéries, (**Coenye, 2007**). Tandis que les organismes normaux dans la bouche, appelés flore microbienne « commensale » ne créent généralement pas de problèmes majeurs quand des mesures d'hygiène sont suivies, la pose d'un appareil orthodontique ou un dentier change l'environnement buccal. De ce fait, des champignons comme le *Candida albicans* notamment, mais aussi des bactéries comme les *Staphylococcus aureus* et les *Streptococcus mutans* se multiplient dans les porosités des polymères des appareils amovibles. Ainsi, l'appareil orthodontique infecté devient « un réservoir » à micro-organismes pathogènes et opportunistes.

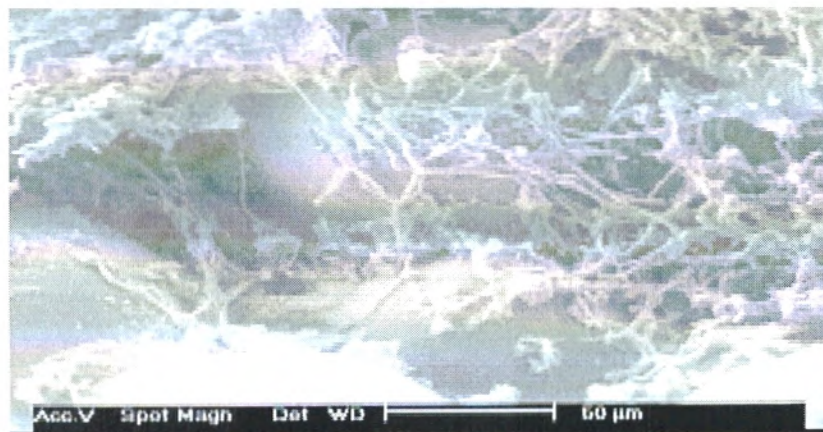


Figure 1 : Biofilm prothétique. Observation en microscopie à balayage du biofilm à la surface d'une résine prise après 21 jours de port (**Etienne, 2004**).

La présence des micro-organismes particulièrement sur les appareils dentaires est parfaitement établie et relate dans la littérature scientifique. Certaines infections orales comme la chéilite angulaire, mais aussi des infections de voies aériennes supérieures (bronchite, pneumonie) sont causés *par Staphylococcus aureus* et le *Candida albicans*. Selon **Coenye** la présence du *Staphylococcus aureus* et du *Candida* a été constaté non seulement chez les porteurs adultes des appareils dentaires et certains groupes à haut risque comme les diabétiques et les patients ayant un système immunitaire affaibli mais également chez les enfants portant un appareil orthodontique amovible (**Coenye, 2007**).

4.2 Mécanismes fondamentaux de l'adhésion bactérienne.

4.2 .1 Adhésion réversible des bactéries aux structures dentaires

La présence de la pellicule exogène acquise, dite salivaire, composée de glycoprotéines, est la condition majeure à la constitution du biofilm dentaire; l'attachement bactérien se voit, par conséquent, grandement facilité. Les bactéries passent d'un milieu liquide, dans lequel elles évoluent librement, à une organisation en amas, de plus en plus complexe. Cet attachement initial est promu par différents facteurs (**Donlan, 2002**). L'un d'entre eux est la force hydrodynamique, responsable du déplacement aléatoire des bactéries, voire de leur rapprochement vers le support, en l'occurrence dentaire. Notons également, le chimiotactisme, responsable du rapprochement spécifique via des récepteurs exprimés sur la membrane bactérienne. Il existe aussi des forces électrostatiques, et de Van der Waals; elles jouent un rôle déterminant dans les mécanismes d'attraction-répulsion (**Siman et al., 2010**).

4.2.2 Adhésion irréversible aux structures dentaires

Les bactéries disposent d'un arsenal de fixation d'une grande richesse, composé de flagelles, de curli et de pili. On peut observer des mouvements, basés sur la rétraction des poils à l'interface avec la surface solide; les pili présents au niveau d'un grand nombre de bactéries Gram, jouent un rôle important dans l'interaction avec la surface de support. A ce stade, on observe une surproduction d'exopolymères, renforçant par là même, la cohésion hétérogène interbactérienne. A noter que les flagelles, quant à elles, jouent un rôle dans le rapprochement des bactéries vers la surface-support, grâce à un mécanisme de nage (**O'Toole, 1998**).

4.2 La maturation du biofilm dentaire

Lors de cette phase, on observe une modification importante de taille de la structure, résultat de nombreuses multiplications des bactéries. La matrice extracellulaire augmente en épaisseur avec des modifications des gradients d'oxygène. Des mécanismes de communication intercellulaire s'installent durablement ; la bactérie est ainsi informée de la densité cellulaire et de l'interaction cellulaire dans son proche environnement. Des auteurs ont décrit des phéromones, telles les hémosérines lactones (HSL) et un grand nombre de peptide, produit par les bactéries, tel que le *Pseudomonas aeruginosa* : c'est le concept du **quorum sensing (Davies et al., 1998)**. Ces molécules diffusent à travers la membrane « bactérienne et induisent l'activité d'un groupe de gène-cible l'ors qu'elles ont atteint leur concentration critique : elle renforcent par la même, le profil biofilm de la structure (Sixou et al., 2007).

4.4 Croissance de la flore orale

Les surfaces dentaires représentent un faible pourcentage de la surface totale de la cavité buccale : de l'ordre de 5%. Elles joueront cependant un rôle important dans le processus de colonisation et de développement des micro-organismes buccaux. Le temps de doublement en phase exponentielle de croissance d'une bactérie de référence comme un *E. Coli*. La plupart des bactéries orales aéro-anaérobies ont un temps de doublement de 30 à 50 min en culture pure.les mêmes bactéries in vivo auront un temps de doublements de plus de 5heurs. De nombreux paramètre limitant la croissance des différentes espèces bactériennes au sein de la flore.les paramètre de limitation peuvent être de différente natures : potentiel redox, ph, température, éléments nutritifs (Sixou et al., 2007).

5. La plaque microbienne sous prothétique

Suite a l'insertion initial d'une prothèse amovible complète.la formation du biofilm est semblable à celle qui se produit sur les surfaces dentaire à savoir, la mise en place des protéines salivaires à la surface de la résine puis dans un second temps la colonisation par les bactéries de la pellicule acquise exogène. Le biofilm mature forme une couche de près de 2 à 6 micromètre d'épaisseur (Monsen et coll , 2007).

C'est en 1885 que **Black**, observe pour la première fois un dépôt localisé sur l'intrados d'une prothèse amovible, sous la forme d'un enchevêtrement de micro-organismes filamenteux et qu'il identifia comme étant des bactéries (**Le bras et al., 1994**).

La composition de la flore orale d'un porteur de prothèse amovible complète est similaire à celle du biofilm dentaire au niveau des surfaces occlusales. Cette flore est constituée majoritairement par des cocci Gram positif, essentiellement Streptocoques (*S. mutans*, *S. aureus*, *S. sanguinis*) ainsi que les Staphylocoques (*S. aureus*). On retrouve également des bacilles Gram positifs (*Actinomyces viscosus*, *A. naeslundii*, *Lactobacillus casei* et *L. salivarius*) et de cocci à Gram négatifs (*Veillonella parvula*). Les bacilles Gram négatifs tels que *Prevotella intermedia*, *Caprocytophaga* et *Fusobacterium Spp* ne sont que rarement isolés (**Laza, 2010**).

L'accumulation de la plaque microbienne est influencée par l'état de surface et la composition du matériau prothétique. Son développement est aussi sous la dépendance de l'état de santé de la muqueuse, de la composition de la salive et du niveau d'hygiène (**Jame et al., 2002**).

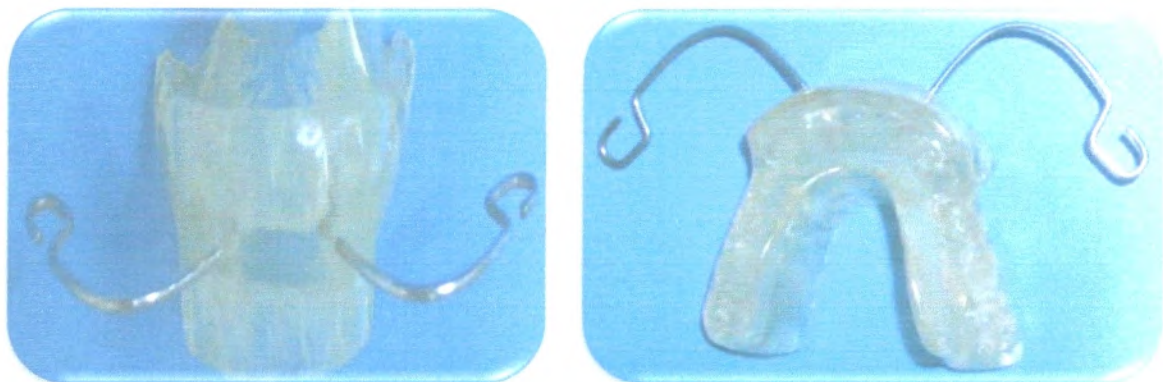


Figure 2: La présence du biofilm sur un appareil orthodontique amovible (**Deslauriers et al., 1999**)

Certaines bactéries comme *Fusobacterium nucleatum* jouent un rôle très important car elles adhèrent à la pellicule exogène acquise très rapidement ; on parle de bactéries colonisatrices primaires ou pionnières. Cette agrégation permet à d'autres bactéries également d'adhérer et de se fixer entre elles. Peu à peu, la communauté s'organise, s'accroît et l'on peut voir l'apparition comme la disparition de certaines bactéries au fur et à mesure que la communauté se développe (**Figure 3**).

Il ya l'exemple, des *Neisseria* qu'ils sont capables d'éliminer tout l'oxygène présent dans le milieu. Cela entraîne donc la mort ou le détachement des bactéries aérobies, et cela favorise le

développement des bactéries anaérobies. De la même façon, les streptocoques et les *Prevotella* jouent le rôle d'alimenteurs primaires. En effet, elles dégradent des molécules complexes en produits plus simples qui vont être plus facilement utilisés par d'autres bactéries. Des canaux aqueux au sein du biofilm permettent en outre les échanges de nutriments et les communications intercellulaires.

Cette collaboration inter bactérienne, ces échanges nutritionnels, cette protection, sont tels que beaucoup de concepts thérapeutiques chimiques sont remis en question de nos jours (**Jame et al., 2004**).

Selon **Wilson et Pratten**, plus le biofilm est mature moins les antibiotiques et antiseptiques sont efficaces.

De même, **Gilbert** indique qu'il existe un autre facteur pouvant expliquer ces phénomènes de résistance du biofilm: l'efflux pomp system. Ce sont des pompes capables d'éliminer rapidement l'antibiotique ou l'antiseptique, qui n'a alors plus le temps d'agir.

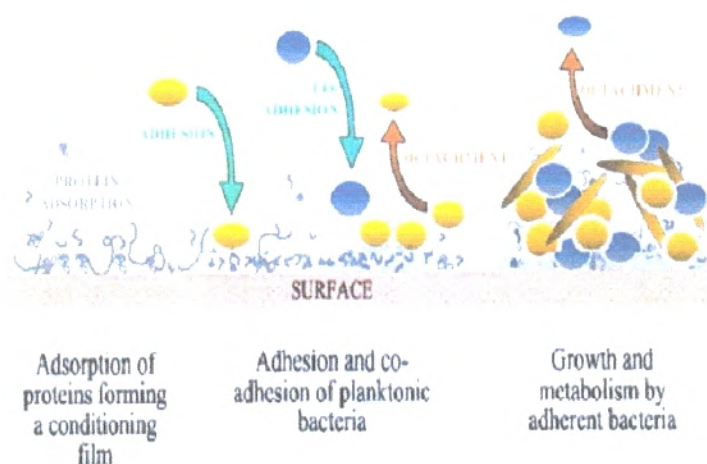


Figure 3: Etapes de formation du biofilm dentaire (**Svensater et Bergenholtz, 2004**).

6. les propriétés du biofilm

6.1 la résistance aux antiseptiques

Les antiseptiques sont des agents antibactériens d'utilisation locale utilisés en complément du débridement mécanique. Ils font partie de notre arsenal thérapeutique avec leurs avantages et leurs inconvénients. Par définition, ils préviennent et arrêtent la croissance bactérienne soit en inhibant l'action des micro-organismes, soit en les détruisant (**Pitten et Kramer, 1999**).

Un large choix de molécules antiseptiques est disponible (chlorhexidine, hécétidine, sanguinarine, dérivé iodé, ...) (**Harper et Addy, 1995**), sous différentes formes d'utilisation (bains de bouche, sprays, gels, dentifrices, ...). La difficulté pour le praticien est de savoir dans quel cas il est préférable d'utiliser telle ou telle molécule, sous quelle forme, à quelle concentration et pendant combien de temps (**Netuschil et Fleurette, 1995**).

6.2 La résistance aux désinfectants

6.2.1 Définition de la désinfection

La désinfection est une opération au résultat momentané, permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et / ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes, en fonction des objectifs fixés. Les traitements de désinfection visent donc à assurer l'hygiène des matériaux afin de limiter voire empêcher tout risque de contamination microbienne.

Cette destruction des germes indésirables portés par des matériaux inertes peut se faire soit par des procédés physiques (chaleur, ultra-sons, irradiation) ou chimique (désinfectants) soit par une combinaison des deux.

6.2.2 Modes d'action des désinfectants

Les antiseptiques et les désinfectants sont des agents antimicrobiens chimiques dont la toxicité est brutale et peu sélective vis-à-vis des cellules eucaryotes et procaryotes. Leur emploi est donc limité soit à un usage externe in vivo (antiseptiques) soit à une désinfection des surfaces inertes (désinfectants). Nous nous intéresserons plus particulièrement aux recettes de nos grands mères (l'eau de robinet, l'eau de javel, le vinaigre, le siwake les bicarbonates de sodium et le dentifrice ordinaire).

6.2.3 Mécanisme d'action générale

Quelle que soit l'entité considérée et la molécule désinfectante utilisée, on sait aujourd'hui que l'action des biocides peut se caractériser par les trois phases suivantes :

- Adsorption du désinfectant à la surface de l'enveloppe microbienne, phénomène de nature physico-chimique dépendant notamment de la concentration et du mouvement brownien des bactéries.

- Pénétration de l'agent antimicrobien dans la cellule. La solubilité, l'ionisation et l'encombrement stérique des molécules antibactériennes sont des facteurs clés de cette phase.
- Action proprement dite du principe actif. Elle peut avoir lieu au niveau de différentes cibles cellulaires possible, telle que la membrane cytoplasmique dont l'altération de structure provoque une désorganisation du métabolisme du métabolisme, une fuite de substances, et la dégénérescence de la cellule et finalement sa mort ; ou encore le cytoplasme et plus précisément les protéines cytoplasmiques, les acides nucléiques ou les ribosomes (Allion, 2004).

6.2.4 Sensibilité bactérienne aux agents antimicrobiens : notion de résistance et tolérance

D'après Joly (1995), une population microbienne est dite résistante à un antiseptique ou à un désinfectant lorsque la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) de ce produit vis-à-vis de la population considérée est significative plus élevée que les CMB de ce produit vis-à-vis de la plupart des populations microbiennes.

Deux types de résistance aux antimicrobiens peuvent alors être distinguées : la résistance intrinsèque et la résistance acquise :

➤ **Résistance intrinsèque**

La résistance intrinsèque ou naturelle est une caractéristique innée et stable des cellules appartenant à une espèce microbienne ou un groupe d'espèces vis-à-vis d'un antimicrobien.

Étant stable, elle permet de définir le spectre d'activité d'un biocide. Ensemble de microorganismes naturellement sensibles ou résistants à un antimicrobien ou groupe d'antimicrobiens donné. La structure et la composition de la surface des micro-organismes jouent un rôle important dans leur résistance naturelle.

➤ **Résistance acquise**

La résistance acquise est due à un événement imprévisible qui, au sein d'une espèce, a pour conséquence l'apparition d'une ou plusieurs souches ayant une résistance plus élevée à un

antimicrobien (**Joly, 1995**). Une sélection de cette souche est ainsi possible quand les concentrations d'utilisation habituelles du produit sont inférieures à la concentration active.

Ce phénomène étant connu, il est donc surveillé.

Cette résistance est le résultat de modifications génétiques soit sur le noyau de la cellule (résistance acquise chromosomique) soit apportées par un plasmide (résistance acquise plasmidique).ces mutations génétiques peuvent alors se traduire par des évolutions biochimiques du micro-organisme déterminant ainsi l'intensité et la spécificité de la résistance.

7. Les infections buccales induites par un appareil orthodontique non désinfecté

Les problèmes buccaux dont la cause réside dans l'appareil orthodontique contaminé par le biofilm sont des irritations douloureuses locales au niveau du palais, des sensations de picotement et de démangeaisons, des altérations du goût, mais aussi la mauvaise haleine et le mauvais goût de l'appareil !

Outre ces symptômes typiques de stomatite. Alors qu'un appareil non désinfecté peut aussi provoquer des véritables Candidas. Les candidas buccaux affectent surtout les personnes ayant un système immunitaires faible (**Vannet, 2011**).

*Matériel et
méthodes*

1. Lieu et populations

Cette étude s'est étendue durant un mois et a ciblé toutes les personnes âgées porteuses de prothèses dentaires amovibles (complètes ou partielles) se présentant à la clinique dentaire (CHU Tlemcen), pour des soins ou complications.

Parallèlement un questionnaire a été adressé à chaque patient âgé, afin de recueillir toutes les informations concernant le port de sa prothèse (Voir questionnaire en annexe 2).

2. Prélèvements et ensemencements

A l'aide d'écouvillon imbibé d'eau distillée stérile, des prélèvements, ont été réalisés sur l'intrados et l'extrados de prothèses dentaires de chaque patient âgé ; les prélèvements sont ensuite acheminés au laboratoire de Microbiologie (LAMAABE) pour être étudiés.

Chaque écouvillon a été mis dans 5ml de BHIB, et incubé de 24h à 37°C. De chaque échantillon 0,1 ml a été ensemencé sur 2 milieux sélectifs :

- Gélose de Mac-Conkey pour l'isolement des Entérobactéries grâce à l'action de deux inhibiteurs (cristal violet pour l'inhibition de la flore gram positifs et les sels biliaires pour la sélection des entérobactéries),
- Gélose Mannitol de Chapman pour l'isolement des Staphylocoques.

Les milieux ensemencés ont été incubés dans une étuve à 37°C pendant 72h, après lesquels on a procédé à l'isolement et à la purification et à l'identification.

3. Identification

3.1 Bactéries à gram positif : Staphylocoques

3.1.1 Recherche de la coagulase

La production de la coagulase libre par *Staphylococcus aureus* provoque une coagulation du plasma qui se traduit par la formation d'un caillot de coagulation. (Joffin et Leyral, 2000).

Technique

- Réaliser une culture de la souche à tester en bouillon cœur-cerveille (BHIB)
- Incuber pendant 24h à 37°C
- Ajouter 0,5ml du plasma du lapin dans un tube contenant 0,5 de la culture en BHIB
- Le tube est incubé à 37° pendant 2h à 24h

Un résultat positif se traduit par la formation d'un caillot (Plasma coagulé).

3.1.2 Plaques Api (Staph et 20 E)

Crée en 1970, la plaque API, a représentée une varie révolution dans le domaine de la bactériologie en miniaturisant et en standardisant les techniques conventionnelles, jusqu'alors très complexes à réaliser et à lire (**Biomerieux- France**)

Ensemencement d'une galerie Api

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée ou déminéralisé dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Incrire la référence de la souche sur languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'Api Medium ou utiliser un tube contenant 5ml d'eau physiologique stérile, ou d'eau distillée stérile, sans additif.
- A l'aide d'une pipette pasteur, prélever une colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24heures).
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être inoculée extemporanément.

Inoculation de la galerie

- A l'aide d'une pipette pasteur stérile, remplir les tubes de la galerie avec API Medium ensemencé. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le coté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.
- Créer une anaérobiose dans les testes ADH et URE (Api Staph) / ODC, ADH, LDC, H2S, URE (Api 20 E) en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.
- Pour les tests CIT, VP, CEL, remplir tubes et cupules (Api 20 E).
- Renfermer la boîte d'incubation.
- Incubation a 37°C pendent 18-24heures.

Lecture de la galerie

- Après incubation, lire les réactions conformément au tableau de lecture, en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivant :
- Test VP : VP1 et VP2 (Api Staph et 20E).
- Test NIT : NIT 1 et NIT 2 (Api Staph et 20E).
- Test PAL : ZYM A et ZYM B Api (Staph, annexe 4) / test TDA : Kovax (20E, annexe 3)

Détermination du profil numérique

Sur la fiche de résultats, les testes sont séparés par groupe de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique et l'identification est réalisée à l'aide du catalogue Analytique et logiciel d'identification.



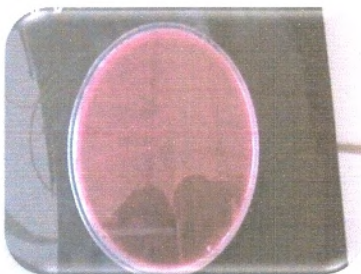
Ecouvillonnage



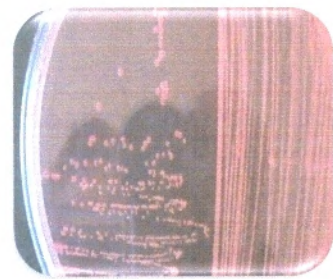
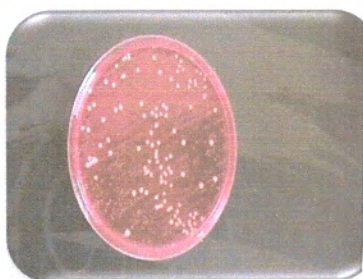
BHIB



Isolement sur Mac-Conkey et Chapman



Trouble



Purification



Identification

Figure 4 : Les étapes d'identification.

4. Evaluation de la formation du biofilm

4.1 La méthode de plaque de culture de tissus (TCP)

Le test TCP décrit par **Christensen et al., 1985** permet une évaluation semi quantitative de la formation du biofilm.

Technique

A partir d'une boîte de culture de 24h,ensemencer une colonie dans 10 ml de bouillon BHIB supplémenté de 2% de saccharose puis incubé à 37°C pendant 18h.

On effectue une dilution au 1/100 avec du milieu frais (BHIB) et on remplit les puits d'une plaque de 96 puits avec 0.2ml de cette dilution que de 0.2 ml de bouillon de culture (BHIB) qui servira de témoin stérile.

Les microplaques sont ensuite recouvertes d'un papier d'aluminium stérile et incubées pendant 18 heures à 37°C. Une fois que le contenu de chaque puits soit enlevé délicatement, en tapotant la plaque, les puits sont lavés quatre fois avec 0,2 ml de tampon phosphate salin (PBS PH 7.2) afin d'éliminer les bactéries libres flottant (planctonique). Les biofilms formés par l'adhérence des organismes sessiles dans la plaque sont fixés avec de l'acétate de sodium (2%) pendant 15min et colorés du cristal violet (0.1% p/v) pendant 15min. L'excès de colorant est ensuite rincé par un lavage en profondeur avec de l'eau distillée et les plaques sont laissées pour le séchage afin d'évaluer l'importance de la coloration du biofilm (**Stepanovic et al., 2000**).

➤ Lecture

Les souches sont classés dans les catégories suivantes : non-adhérentes (0), faiblement (+), modérée (++) , ou fortement (+++) adhérentes.

4.2 La méthode du Rouge Congo

La gélose Rouge Congo est un milieu très convenable pour la détection de souches productrices de slime. Sur ce milieu, les souches exprimant le EPS (Ex Poly Saccharide) donnent des souches noires avec une surface rugueuse contre des colonies de couleur rouge et à surface lisse pour les souches API négatif (**Ziebuhr et al.2001**).

➤ Technique

La production de slime a été recherchée sur le milieu Rouge Congo. Ce milieu a été préparé en additionnant 0.8 g de Rouge Congo et 36 g de saccharose à 1L de bouillon cœur-cerveille, puis autoclavé à 115°C pendant 10 min.

Le milieu est ensemencé avec une anse d'une suspension de notre souche (une colonie dans 20 ml d'eau distillée). La lecture a été faite après une nuit d'incubation à 37°C et 24h supplémentaires à température ambiante (Touati et al., 2007).

➤ **Lecture**

Les souches productrices de slime donnent des colonies noires à surface rugueuse contre des colonies rouges, à surface lisse pour les souches non productrices. Les phénotypes variable donnaient des colonies à centre noir et a contour rouge ou à centre rouge et a contour noir.

5. Test de sensibilité des bactéries adhérees aux différents agents antimicrobiens

Nous avons examiné *in vitro* l'activité d'une variété de produits et de désinfectants utilisés le plus souvent par les personnes âgées pour nettoyer leurs prothèses dentaires tel : eau de javel, eau de robinet, le vinaigre, le sel, le dentifrice ordinaire, le bicarbonate de sodium, le siwak , et le bonyplus (comprimé effervescent nettoyants à l'oxygène actif) afin de déterminer le meilleur agent antimicrobien contre la formation du biofilm bactérien sur prothèse dentaire ;

La souche qui a été choisi pour ce test est celle qui a :

- Été Isolée chez des patients âgés et porteurs de prothèses de plus de 10 ans ;
- Un pouvoir élevé de formation de biofilm par la méthode TCP et RCA ;
- Été susceptible d'être responsable de pathologie bucco dentaire.

➤ **La formation du biofilm sur des carrés de prothèses**

Cette expérience est réalisés en utilisant des morceaux de résine (prothèse) de 1cm² de superficie, ces derniers nous ont été préparés par l'aide d'un prothésiste, ces morceaux sont ensuite rincés et stérilisés à l'autoclave.

➤ **Préparation de l'inoculum**

Le protocole suivi pour les essais d'adhésion est celui de L'arpent 1997. Il se résume dans les étapes suivantes :

Les carrés de résines sont mis dans des tubes contenant 3ml d'une suspension bactérienne de 10⁸ UFC /ml et incubés 24h à 37°C pour permettre l'adhésion des bactéries dans une atmosphère humide et saturée.

Les bactéries non adhérentes sont éliminées en rinçant manuellement et délicatement les morceaux de résine 3 fois avec de l'EDS pour éliminer les bactéries planctoniques. Ces derniers sont ensuite remis et transférés dans des tubes contenant 3ml de chacun des agents antimicrobiens cités précédemment :

- l'eau de javel à raison de 3gouttes dans 125 ml d'eau de robinet (3gouttes dans un verre d'eau) ;
- le vinaigre à raison de 3gouttes dans 125 ml d'eau de robinet.
- le sel à raison de 1g 125ml dans l'eau de robinet (2 cuillères à café de sel dans un verre d'eau)
- les bicarbonates de sodium (1 cuillère à café dans 125 ml l'eau de robinet),
- le dentifrice c'est le brossage, pendant 1min ;
- le siwak utilisé sous 2 formes (par grattage et sous forme infusion (un bâton de siwak de 6g dans 125 ml d'eau de robinet.
- Eau du robinet (125 ml).
- BONYPLUS a raison d'un comprimé dans 125ml d'eau de robinet).

Après une nuit à température ambiante de tous les échantillons. Les morceaux de résine (prothèse) ont été retirés et lavés 3 fois à EDS afin d'éliminer les bactéries planctoniques et de résidus antimicrobiens, ces derniers sont mis dans 3ml d'eau physiologique, soumis à ultra-son pendant 2min et vortex pendant 20s.

Des lectures de DO correspondantes ont été réalisées et Le nombre de bactéries viables biofilm a été compté par un facteur 10 de dilution en série, $10^{-1} - 10^{-3}$, (450 μ l d'eau physiologique + 45 μ l de suspension)ensemencé sur GN, après incubation de 24h à 37°C, et on fait le dénombrement.

Tous les tests ont été répétés 3 fois afin de réaliser des dénombrements et mesurer la densité optique des différents détergents, et leur effet sur l'adhésion bactérienne.

Résultats

Et

Discussion

1. Prélèvement

14 prélèvements ont été analysés, dont 13 ont concerné une prothèse amovible complète, et 1 amovible partielle. Sur ces 14 prothèses analysées, 11 ont présentés des cultures positives (développement bactérien).

2. Identification

2.1 Identification du genre *Staphylococcus*

La totalité des cultures positives isolées sur milieu de Chapman (spécifique pour Staphylocoques) répondent aux caractéristiques macroscopiques et microscopiques du genre *Staphylococcus*.

Le développement bactérien sur le milieu Chapman ne constitue qu'une indication, d'autres bactéries (Entérocoques) peuvent y cultiver. Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas de mannitol est fermenté, sinon les colonies sont de couleurs blanche

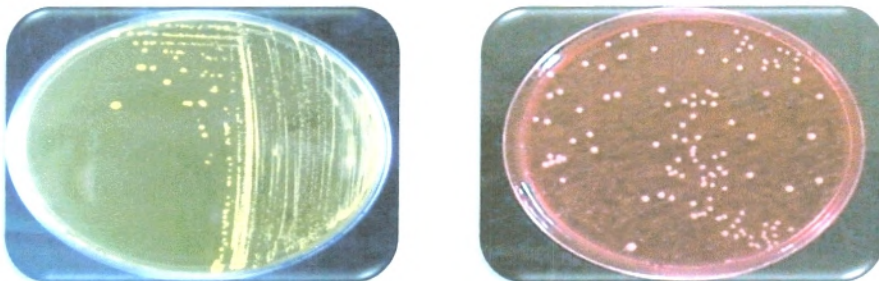


Figure 5 : Aspect des colonies de *S. aureus* / *Staphylococcus* spp

Au total 14 souches appartenant au genre *Staphylococcus* ont été identifiées, 2 souches pures ont été assignées à l'espèce *S. aureus* (API Staph) et par la mise en évidence de la coagulase.

Les 12 souches restantes appartiennent aux espèces à coagulase négative. Nous avons noté une diversité de *Staphylococcus* : 3 souches *S. auricularis*, *Staphylococcus* spp, 2 souches sont des *S. sciuri*, *S. warneri*, et 1 souche représentée par *Staphylococcus hominis* et par *S. lentus* (figure 6).

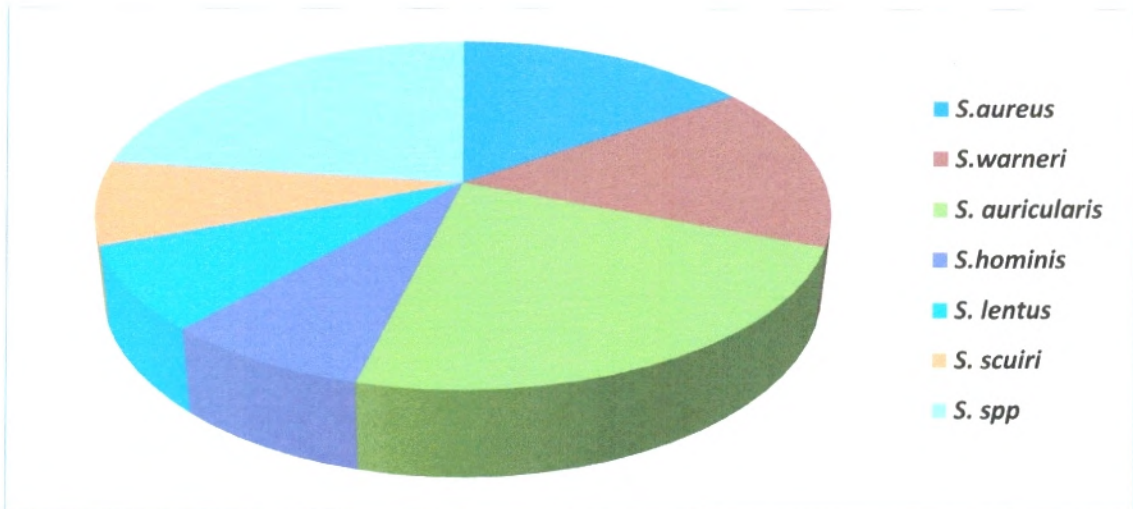


Figure 6 : Répartition des Staphylocoques isolés des prothèses étudiées (Clinique dentaire – CHU -Tlemcen).

La pose d'un appareil orthodontique ou un dentier change l'environnement buccal. De ce fait, des champignons comme le *Candida albicans* notamment, mais aussi des bactéries comme les *Staphylococcus aureus* et les *Streptococcus mutans* se multiplient dans les porosités des polymères des appareils amovibles. Ainsi, l'appareil orthodontique infecté devient un réservoir à micro-organismes pathogènes et opportunistes. (Coenye, 2007). La colonisation peut être faite, soit par voie orale par les bactéries endogènes et *Candida* spp, soit éventuellement, par des espèces extra-orales tels que *Staphylococcus* spp. Ou des membres de la famille Enterobacteriaceae (Azevedo et al., 2011).

Les staphylocoques ne font pas partie de la flore commensale orale, en revanche ils constituent une composante importante de la microflore de la peau et la muqueuse nasale.ils ont été isolés de la plaque prothétique (Laza, 2010).

Alors que (Glass, 2010 ; Robert et al., 2010) rapportent un taux de colonisation 39,41% des Gram négatif: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. mutans*, *Enterococcus faecalis*.

L'identification par la galerie API Staph a permis de mettre en évidence les espèces appartenant au genre espèces : *S. sciuri*, *S. lentus*, *S. warneri*, *S. auricularis*, *S. hominis*.



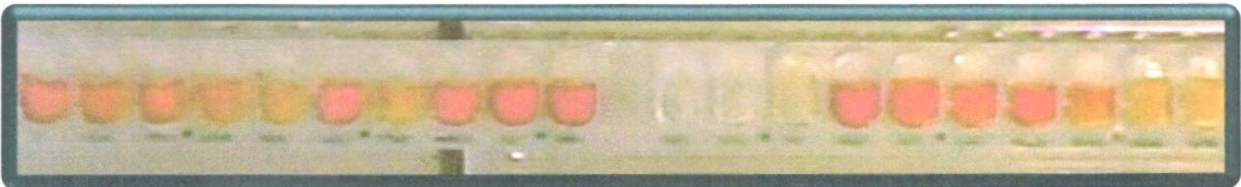
Staphylococcus sciuri



Staphylococcus lentus



Staphylococcus warneri



Staphylococcus auricularis



Staphylococcus hominis

Figure 7 : Différents biotypes des staphylocoques isolés des prothèses dentaires (Clinique dentaire - CHU-Tlemcen).

2.2 Identification des Gram négatif

Les résultats des tests biochimiques de la galerie API 20 E a révélé 16 souches.

Selon la **figure 10**, les résultats bactériologiques obtenus à partir de ces prélèvements montrent que *Vibrio fluviatis* occupe la première place avec 4 souches, suivis des *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* spp *ozanae* et *Pasteurella pneumotropica* avec 3 souches, sans oublier les *E.coli* 1 et *Aeromonas hydrophila* 1 (**Figure 8**).

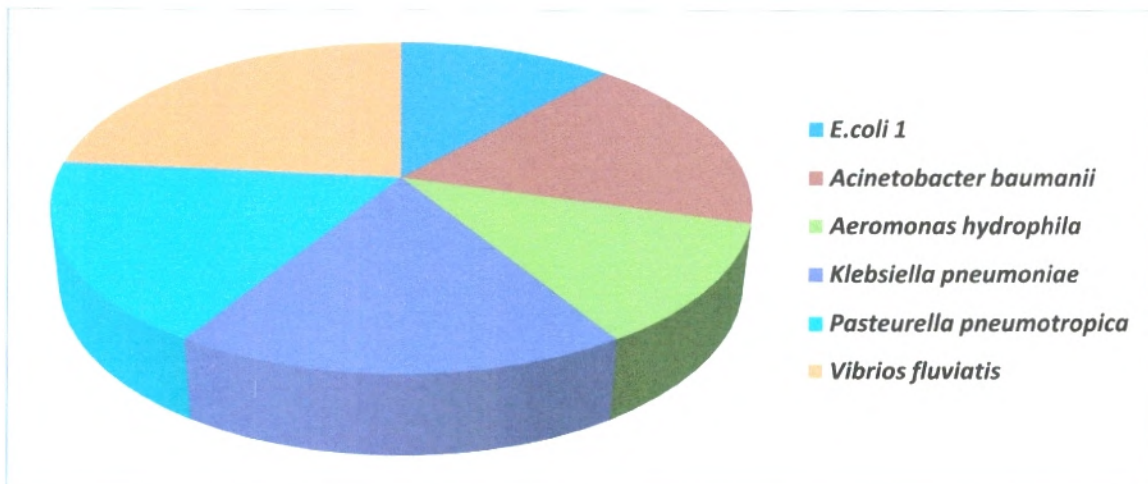


Figure 8 : Répartition des bactéries à Gram négatifs isolées de prothèses étudiées (Cabinet dentaire CHU - de Tlemcen).

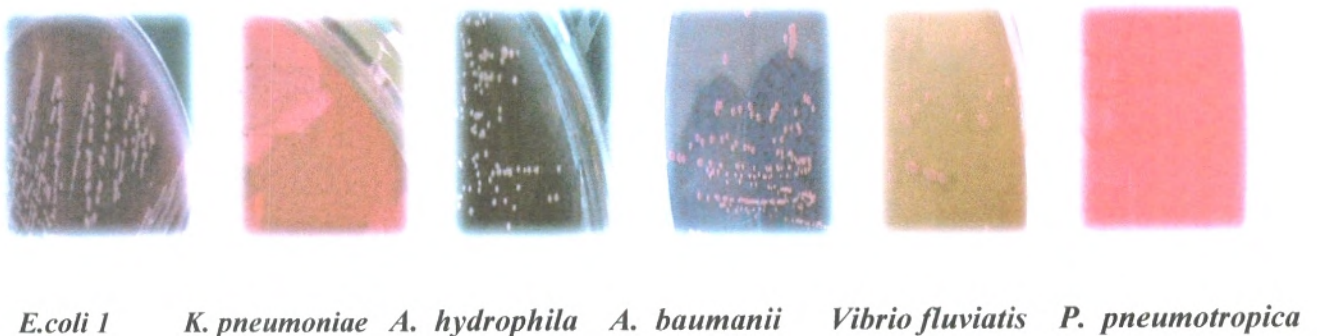


Figure 9 : Aspect morphologique des Gram négatif identifiés.

D'autres études concernant le même thème ont rapportées des taux de colonisation de 10% avec la présence de *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Gardnerella vaginalis*, *Haemophilus influenzae*, *H. parainfluenzae*, *Bordetella* spp., *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Burkholderia cepacia*, et plusieurs espèces de *Bacillus*.

Étonnamment, il y avait une absence totale d'*Escherichia coli* et de *S. pyogenes* dans l'ensemble des prothèses (Glass, 2010 ; Robertet *al.*, 2010).

Klebsiella pneumoniae ne fait pas partie de la flore commensale orale ; elle a été détecté dans parodonties agressives, péri-implantaires et celles associées a l'immunodépression (leucémies, neutropénies, VIH) (Laza, 2010).

L'identification de la galerie API 20 E a permis de mettre en évidence les espèces appartenant au genre : *Aeromonas hydrophila*, *Pasteurella pneumotropica*, *Vibrio fluviatus*, *Acinetobacter baumannii* , *E. coli* 1, *Klebsiella pneumoniae* spp ozaenae (figure 10).



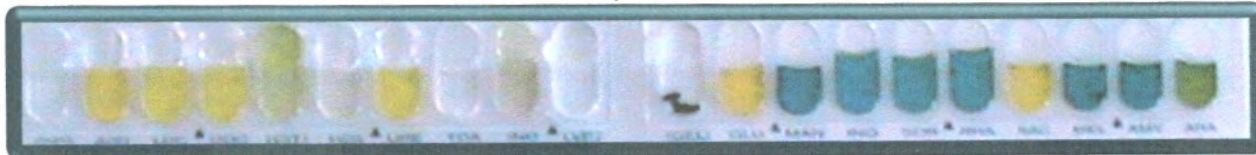
Aeromonas hydrophila 1



Pasteurella pneumotropica



Vibrio fluviatus



Acinetobacter baumannii



E. coli 1



Klebsiella pneumoniae spp *ozaenae*

Figure 10: Différentes souches isolées de prothèses dentaires Clinique dentaire CHU Tlemcen.

Tableau 1: Tableau récapitulatif de questionnaire d'hygiène.

Patients	Types de prothèses	Age	La durée du port	Retrait de la prothèse	Le nettoyant utilisé	Les germes retrouvés
P1	Amovible complète	80ans	1an et demi	Oui	Eau et savon	<i>Staphylococcus spp</i> <i>Vibrio fluviatis</i>
P2	Amovible complète	61ans	+ de 30 ans	Oui	Eau et pate dentifrice ordinaire	<i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>Aeromonas hydrophila 1</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus spp</i> <i>Vibrio fluviatis</i>
P3	Amovible complète	61ans	10 ans	Oui	Eau de robinet	<i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>Aeromonas hydrophila 1</i> <i>Vibrio fluviatis</i>
P4	Amovible complète	60ans	+ de 5ans	Non	Eau de robinet	Gram négatif spp
P5	Amovible partiel	56ans	10ans	Dernièrement	Eau de robinet	<i>Staphylococcus spp</i>
P6	Amovible complète	57ans	2an et demi	Oui	Eau et pate dentifrice	<i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>Staphylococcus warneri</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Vibrio fluviatis</i>

P7	Amovible complète	57ans	Même pas 1 an	Oui	Eau et sel	Résultat négatif
P8	Amovible complète	80ans	+ de 27 ans	Pas souvent	Eau et vinaigre	Résultat négatif
P9	Amovible complète	67ans	+ de 10ans	Non	Dentifrice ordinaire	<i>Staphylococcus warneri</i> <i>Staphylococcus hominis</i>
P10	Amovible complète	64ans	+ de 20ans	Pas souvent	Eau et des gouttes d'eau de javel	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> 1 <i>Staphylococcus lentus</i> <i>E.coli</i> 1
P11	Amovible complète	66ans	+ de 28 ans	Pas souvent	Eau et des gouttes d'eau de javel	<i>Klebsiella pneumoniae spp ozanaeae</i> <i>Staphylococcus auricularis</i> <i>Acinetobacter baumannii</i>
P12	Amovible complète	77ans	+de 40 ans	Oui	Eau et des gouttes d'eau de javel	<i>Aeromonas hydrophila</i> 1 <i>Klebsiella pneumoniae spp ozanaeae</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Staphylococcus auricularis</i>
P13	Amovible complète	73ans	+de 30 ans	Oui	Eau et des gouttes d'eau de javel	<i>Staphylococcus auricularis</i> <i>E.coli</i> 1
P14	Amovible complète	57ans	2an et demi	Oui	Eau et pate dentifrice	<i>Klebsiella pneumoniae spp ozanaeae</i> <i>Staphylococcus sciuri</i>

Un questionnaire d'hygiène montre que les patients utilisaient pour nettoyer leurs prothèses : eau de robinet ; eau de javel ; sel ; bicarbonate, dentifrice, vinaigre

Le tableau n 1 résume les différents prélèvements réalisés dans cette étude ainsi que les germes identifiés pour chaque prothèse.

Un total de 30 souches a été obtenu sur l'ensemble des prothèses étudiées : les Gram négatif : *Aeromonas hydrofila*, *Pasteurelle pneumotropica*, *Vibrio fluviatus*, *Acinetobacter baumannii*, *E.coli 1*, *Klebsiella pneumoniae spp ozaenae*, et les Gram positif : *S. sciuri*, *S. lentus*, *S. warneri*, *S. auricularis*, *S. hominis*.

Aucunes différences n'ont été observées entre l'âge de la prothèse, le nombre ou le type des micro-organismes sur l'ensemble des prothèses étudiées.

Selon **Glass et al., 2004**, les micro-organismes isolés des prothèses maxillaires et mandibulaires du même patient diffère à la fois en nombre et en type, cet auteur trouvait que juste 8 heures de contact entre le matériau de prothèse et des micro-organismes étaient suffisantes pour contaminer fortement les surfaces et profondeurs (porosités) des prothèses de poly méthacrylate.

3. L'évaluation de la formation du biofilm

Sur les 33 souches isolées durant notre étude, 11 souches à Gram négatif (*Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *E.coli 1* et *Aeromonas hydrophila 1*) et 2 souches à Gram positif (*S. aureus*) ont été testées pour leur capacité à former des biofilms par deux techniques différentes : méthode de plaque de culture de tissus (TCP) et la méthode du Rouge Congo (RCA). Les résultats obtenus figurent dans les tableaux 2 et 3.

Tableau 2 : Résultats de la production de slime par la méthode RCA

Souches	Nombres de souches		
	Positif	négatif	variable
<i>E.coli 1</i>	1	1	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	3	0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	1	2
<i>Aeromonas hydrophila 1</i>	0	1	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	0	0
Total	5	6	4

Tableau 3 : Résultats de la formation de biofilm par la méthode TCP.

Souches	Nombres de souches			
	Absente (0)	Faible (+)	Modéré (++)	Fort (+++)
<i>E.coli 1</i>	2	2	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	1	1	1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	0	2	0
<i>Aeromonas hydrophila 1</i>	1	1	0	0
Total	3	4	3	1

Selon le **tableau 2**, la recherche du slime sur milieu rouge Congo a montré que 5 souches ont été productrices de slime (3 bactéries à Gram négatif et 2 *Staphylococcus aureus*) contre 6

souches non productrices. Les souches productrices de slime avaient un phénotype variable ou positif (**figure 11**).



Figure 11 : Phénotype de production de slime (négatif / variable / positif).

Selon le **tableau 3**, la formation de biofilm par la technique TCP a montré que parmi les 11 souches à Gram négative testées, 3 souches sont non formatrices de biofilm, alors que 4 souches sont faiblement formatrices de biofilm, 3 souches présentaient un caractère modéré dont *Acinetobacter baumannii*, une souche de *K. pneumoniae* est fortement formatrice de biofilm (**Figure 14**).

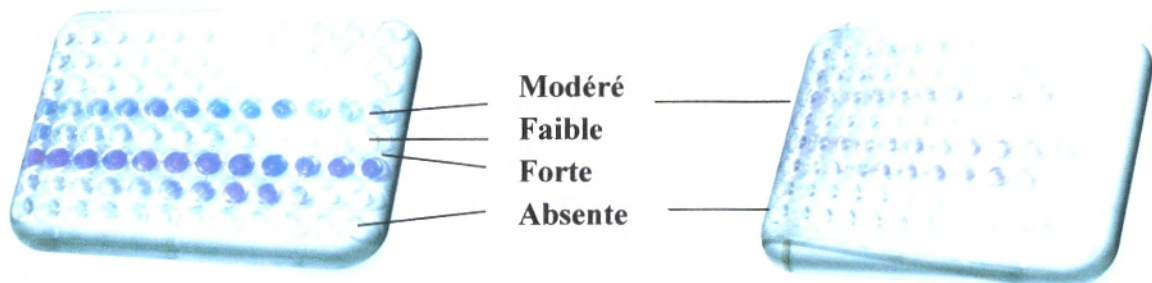


Figure 12 : La lecture des microplaques (*K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. coli* 1, *A. hydrophila*).

Les souches *Acinetobacter baumannii* sont une cause importante d'infection nosocomiale, qui procèdent par la colonisation des dispositifs médicaux implantables et forment ainsi un biofilm (**Wroblewska et al ., 2008**).

Sur les trois souches de *Klebsiella pneumoniae*, une a été fortement formatrice de biofilm, alors que les quatre souches d'*E. coli* étaient moyennement formatrices de biofilm

Ces résultats se rapprochent de ceux retrouvés par Chen et *al.*, 2010, où la plus grande partie des souches *E.coli* a été classée comme de faibles productrices ou non productrices de biofilm.

La plupart des appareils orthodontiques amovibles sont non seulement portés pendant la journée mais souvent pendant la nuit. De ce fait, par manque de sécrétion de salive en dormant, le phénomène de formation de biofilm se renforce encore plus (Coenye, 2007).

4. Test de sensibilité des bactéries adhérees aux différents agents antimicrobiens

La **figure 13**, montre l'effet des différents détergents utilisés par des patients audités dans le but de nettoyer leurs prothèses dentaire, à travers ces résultats, le **Bony plus** : Comprimés effervescents pour l'hygiène et le nettoyage de l'appareil dentaire a montré un excellent effet sur les prothèses ou on constate une élimination totale du biofilm de *Klebsiella pneumoniae* (**figure 14**). Selon le fabriquant ce produit assure un nettoyage d'un appareil dentaire à fond en 3 minutes seulement, anti tache et anti tartre. Élimine les taches de café, de thé et de nicotine, élimine aussi les résidus de crème adhésive, ne laisse pas de résidus sur la prothèse dentaire (**site1**).

DO = 0 (le comprimé Bonyplus, eau de javel, le vinaigre).

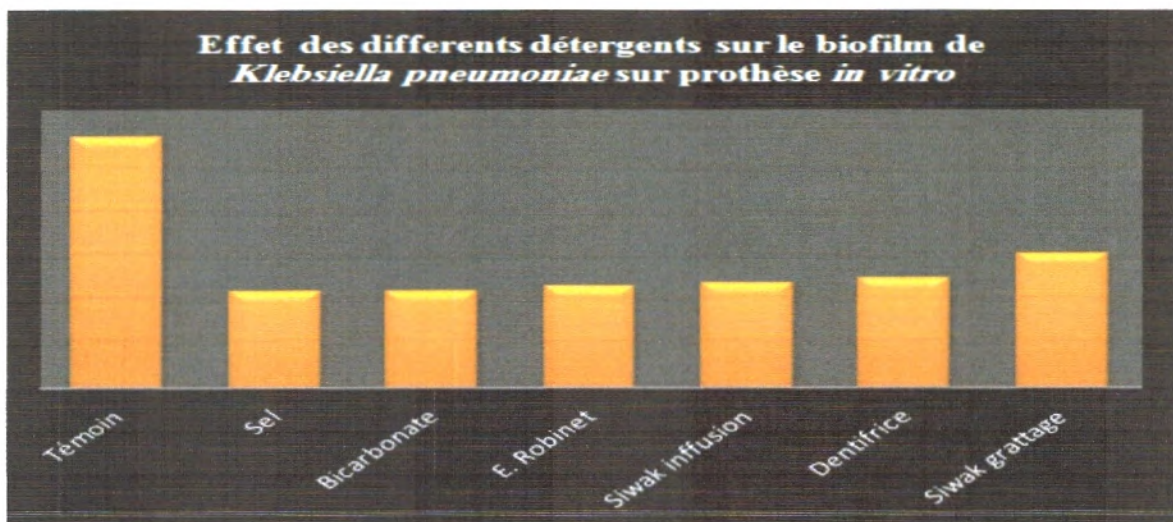


Figure 13 : Effet des différents détergents sur le biofilm de *Klebsiella pneumoniae* sur prothèse *in vitro*.

La même efficacité a été également obtenue par le vinaigre, c'est un liquide peu coûteux et facilement accessible dans le commerce. Il est acide du fait de la présence d'acide acétique, et possède des propriétés astringentes (**Pinto et al ., 2008**). **Basson et ses collaborateurs**, en 1992 ont démontré l'efficacité d'une solution de vinaigre non diluée dans l'élimination des microorganismes adhérents lorsqu'il est employé dans le nettoyage des prothèses. De plus, une réduction de l'incidence des stomatites, et particulièrement celles de types II, a été observée suite au traitement de prothèses amovible par du vinaigre à 10%. Une baisse du taux de levures salivaires est également évoquée. D'autres études (**Pinto et al ., 2008**), en revanche, ont conclu à une absence d'action antifongique de l'acide acétique, probablement parce qu'un pH acide favorise généralement l'adhérence de *Candida albicans* à la résine acrylique, puis à la muqueuse orale.

L'utilisation de l'hypochlorite de sodium (eau de Javel) a présenté également de bon résultat (**Figure 15**), l'activité désinfectante de l'hypochlorite de sodium est connue depuis le 19ème siècle. En 1988, l'examen au microscope électronique a permis de visualiser la destruction en 30 secondes des bactéries par éclatement de leur membrane au contact de l'eau de Javel (**site2**). Il présente une efficacité micro biologique rapide à des concentrations inférieures. D'une part ce type de traitement décolore l'acrylique (rose) et le rend pale ; l'esthétique de la prothèse est alors modifiée. D'autre part l'eau de javel réduit la résistance de l'acrylique (**Coneye ,2007**).

En ce qui concerne le bicarbonate de sodium, il a présenté des meilleurs résultats à la dilution 10^{-3} , il a été proposé comme une alternative aux désinfectants classiques avec comme objectif la minimisation des effets adverses sur les propriétés physico-chimiques des prothèses et sur la santé des patients. Il est peu abrasif, peu cher, sans danger, en cas d'accident d'ingestion et compatible avec le fluor présent dans beaucoup de dentifrices. Certains auteurs ont démontré l'activité antimicrobienne du bicarbonate contre de nombreux microorganismes, notamment *Streptococcus mutans* et *Candida albicans*

Le bicarbonate de sodium dissout les matières organiques incrustées dans les appareils dentaires, et ses grains très fins agissent comme un abrasif très doux pour compléter le nettoyage (**Laza, 2010**).

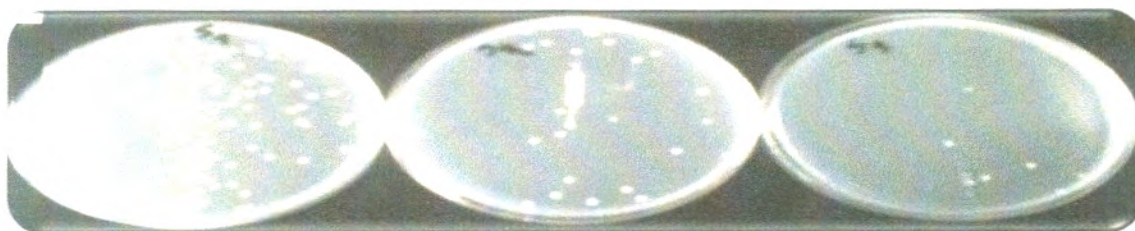
L'utilisation mécanique de siwak a montré une très grande efficacité dans l'élimination de biofilm de *K. pneumoniae* par rapport au sel, dentifrice. Les bâtons les plus utilisés depuis les temps les plus anciens sont les bâtons de Siwak ou Miswak. Ils obtiennent ce bâton à

partir d'une plante appelée *Salvadora persica* qui pousse autour de La Mecque et au Moyen-Orient de manière générale.

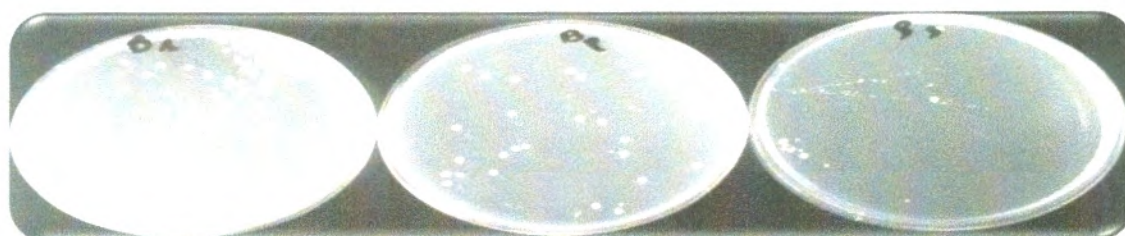
Le Siwak est largement utilisé chez les musulmans après que le prophète Mohammed (sws) ait réalisé sa valeur comme moyen à utiliser par les musulmans pour se nettoyer les dents. A cet égard notre prophète (sws) est considéré comme le premier éducateur en véritable hygiène bucco-dentaire. Du fait de l'usage répété du Siwak pendant la journée, ses utilisateurs ont montré un niveau inhabituellement élevé de propreté buccale. C'est un fait bien connu que la plaque dentaire formée part immédiatement après un brossage de dents méticuleux. Au bout de 24 heures cette plaque dentaire a déjà bien avancé sa maturation et commence alors ses effets de dégradation sur la gencive, Les résultats obtenus lors de cette étude ont prouvé que le Siwak, pouvait être un outil efficace pour enlever les dépôts dentaires mous. Il peut même être employé comme moyen efficace dans les programmes de prévention dentaire pour le grand public (**site3**).



Témoin



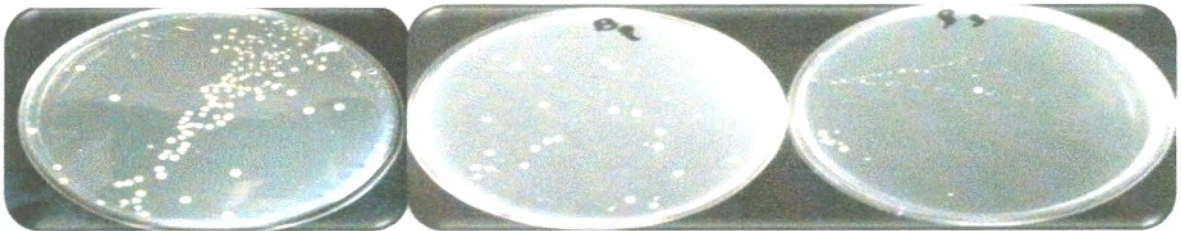
Sel



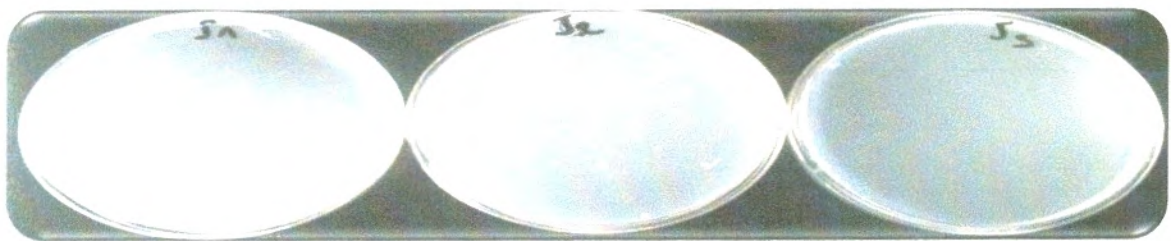
Le bicarbonate de sodium



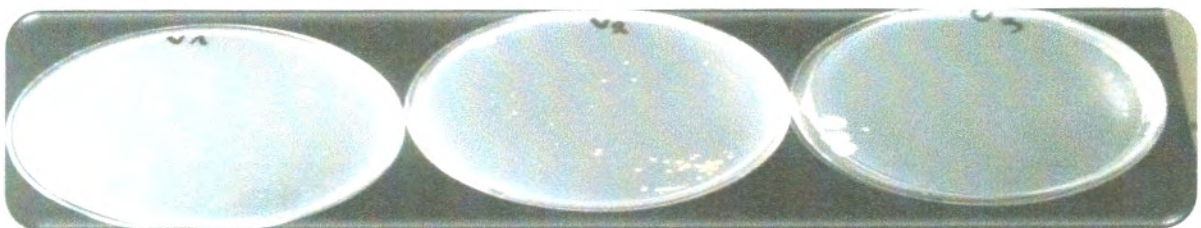
Siwak grattage



Dentifrice



L'eau de javel



Le vinaigre



Le comprimé bonyplus

Figure 14 : Résultats du dénombrement.

Conclusion

Conclusion

Sur les 15 prothèses étudiées, une large gamme de micro-organismes potentiellement pathogènes a été trouvée (*Staphylococcus aureus*, *S. sciuri*, *S. lentus*, *S. warneri*, *S. auricularis*, *S. hominis*, *S. spp*, *Aeromonas hydrophila*, *Pasteurella pneumotropica*, *Vibrio fluvialis*, *Acinetobacter baumannii*, *E. coli* 1, *Klebsiella pneumoniae* spp *ozaenae*.) . En étudiant leurs capacités à former le biofilm, *Klebsiella pneumoniae* a montré une forte adhésion bactérienne révélée par deux techniques (RCA et TCA).

Le traitement des pastilles de résine contaminées (avec une charge microbienne de 0.1 DO) a montré une diminution de la colonisation microbienne après leur immersion dans les différentes solutions désinfectantes utilisés le plus souvent par les sujets âgés, le comprimé bonyplus constitue le moyen le plus efficace pour le nettoyage des prothèses en résine (élimination totale du biofilm). Dans une seconde classe l'eau de javel et le vinaigre avaient presque la même efficacité que le comprimé « Bonyplus ». Contrairement au siwak, dentifrice, sel, et eau de robinet qui présentent un effet moindre.

Références

bibliographiques

Références bibliographiques

A

Ahariz M. 2012. Effet régulateur des peroxydases sur les biofilms oraux à *Candida albicans*. *Information dentaire* ; 17 :603-605.

Azevedo T., Tavares J P., Silva S et al., 2011. Évaluation in vitro de l'effet antimicrobien d'un (tablet) commercial pour la désinfection de prothèses dentaires amovibles . *Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol* 50: 19-24.

C

Chen C., Liao X ., Jiang Het al.,2010. Characteristics of E.coli biofilm production, genetic typing, drug resistance pattern and gene expression under aminoglycoside pressures. *Environmental toxicology and Pharmacology* 30: 5-10.

Christensen GD., Simpson WA., Younger JA ., et al., 1985. Adherence of coagulase negative staphylococci to plastic tissue cultures: a quantitative model for the adherence of sataphylococci to medical devices. *J clin Microbiol*; 22; 996-1006.

Coneye T. 2007. Biofilm sur appareil dentaire prothétique. *Encyclopédie Médico-chirurgicale* ; 23-325.P 10.

Courtois P., Vanden Abbeele A ., Amrani N et al. 1995. *Streptococcus sanguis* survival rates in the presence of lactoperoxidase-produced OSCN- and OI. *Med. Sci. Res.*, 23: 195-197.

D

Davies DG ., Parsek MR ., Pearson JP., et al., 1998 .The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*, 280, 295-298.

Donlan RM. 2002. Biofilms: microbial life on surface. *Emer Inf Dis*, 8, 881-890.

E

Etienne O. 2004. Développement d'interface à propriétés antimicrobienne par la fonctionnalisation de multicouches de polyélectrolytes. *Journal Dental Research*. 20: 196-197.

F

Fernandes H. 2010. Films de polysaccharides dégradables. *J Prosthet Dent*; 105: 51- 58.

G

Gilbert P. 2001. Biofilms et agents antimicrobiens. *Inf Dent. N11*: 755.

Glass RT., Bullard J., Conrad R.,et al., 2004. Evaluation of the sanitization effectiveness of a denture-cleaning product on dentures contaminated with known microbial flora. *An in vitro study. Quintessence Int*; 35:194-9.

H

Harper PR ., Milsom S ., Wade Wet al., 1995. An approach to efficacy screening of mouthrinses: studies on a group of French products II. *J Clin Periodontol*; 22: 723-727.

J

Jame O., Orti V., Bousquet P., 2002. Réactions tissulaires au port des appareils de prothèse dentaire amovible partielle ou totale - *Encyclopédie Médico-Chirurgicale 23-325-P-10*.

Jame O., Orti V., Bousquet P., 2004. Antiseptiques en parodontie - *Encyclopédie Médico-Chirurgicale 23-445-E-11*.

Joffin NJ ., Leyral G ., 2001 .Microbiologie technique : Dictionnaire des techniques.Centre régional de documentation pédagogiques d'Aquitaine.

L

Laza M. 2010. Écosystème buccal et prothèse amovible complète.de la conception au suivi prothétique. Thèse pour le diplôme de docteur en chirurgie dentaire N 40,10/05/1983.

Le bras P., Giumelli B ., 1994. Traitement de la stomatite prothétique-*Cah prothèse* ; 86 :61-71.

Liesse Iyamba JM, 2012. Etude de l'interaction des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* avec une surface abiotique.

M

Marsh PD., Martin M ., 2009. Oral microbiology. Churchill Livingstone, London.

N

Netuschil L ., Weiger R ., Preisler R ., Brex M ., 1995 . Plaque bacteria counts and vitality during chlorhexidine, meridol and listerine mouthrinses. *Eur J Oral Sci*; 103: 355-361.

O

O'Toole GA ., Kolter R ., 1998. Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Mol Microbiol*, 30, 295-304.

P

Pinto TMS ., Nevers ACC ., Leao MVP et al., 2008 . Vinegar as an antimicrobial agent for control of *Candida spp* incomplete wearers. *J App Oral Sci* ; 16,385-390.

Pitten FA ., Kramer M ., 1999. Antimicrobial efficacy of antiseptic mouthrinse solutions. *Eur J Clin Pharmacol*; 55: 95-100.

S

Sesma N. 2005. La fore microbienne orale. *RPG Rev Pós Grad*; 12(4):417-22.

Simain F., Rompen E ., Heinen E ., 2010. Biofilms bactériens et médecine dentaire. *Rev Med Liège*; 65: 10: 569-573.

Sixou M ., Diouf A ., Alvares D., 2007. Biofilm buccal et pathologies buccodentaires. *Antibiotiques* ; 9 :181-8.

Stepanovic S .,Vukovic D., Dakic I et al., 2000. *Microbiological Methods*.40:175-179.
titre

Svensater G., Bergenholtz G., 2004. Biofilms in endodontic infections. *Endodontic topics* 9: 27-36.

T

Touati A ., Achour W., Abbassi M S et al ., 2007. Détection des genes ica et de la production de slime parmi des souches de staphylococcus epidermidis isolées d'infection liées aux cathéters chez des patients neutropéniques .*Pathologie Biologie* ; 55 :277-282.

Tubiana Johanne., 2005. Formation du biofilm prothétique et ses conséquences sur les prothèses amovibles complètes. *International orthodontices* ; 8 :26-34 .

U

Uludamar AJ., 2010. Les traitement orthodontique . *Appl Oral*; 18(3):291-6.

V

Vannet Bart Vande., 2011. Orthodontiste du département d'ontologie Dento Faciale de l'université de Bruxelles en Belgique et l'infection orthodontique induite par un appareil orthodontique non désinfecté.

W

Wilson M., Patel H., Fletcher J., 1996. Susceptibility of biofilms of *Streptococcus sanguis* to chlorhexidine gluconate and cetylpyridinium chloride. *Oral Microbiol Immunol*; 11 : 188-192.

Wroblewska M., Sawika-Grzelak A., Marchel H. et al., 2008. Biofilm production by clinical strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from patients hospitalized in two tertiary care hospitals. *Immunol Med Microbiol* 53:140 – 144.

Z

Ziebuhr W., LoBner I., Krimmer V et al., 2001. Methods to detecte and analyse phynotypic variation in biofilm-froming staphylococci. *Methods Enzmol*, 336,195-203.

1 <http://livremdical.blogspot.com/2010/02/le-siwak-outil-dhygiene-bucco-dentaire.html>

2 <http://www.hyperparapharmacie.com>

3 <http://www.votresante.org/news.php?dateedit=1245416428>.

Annexe 1: Matériel utilisé

➤ Produits

- | | | | | | |
|----|-------------------|----|-----------------|---|-------------------|
| 1. | Eau distillée | ❖ | Le siwak | ❖ | VP I |
| 2. | Eau physiologique | ❖ | Le vinaigre | ❖ | VPII |
| ❖ | Eau de javel | ❖ | Pate dentifrice | ❖ | Kovax |
| ❖ | Eau de robinet | 3. | Réactifs | ❖ | Nitrate réductase |
| ❖ | Cristal violet | | | | |

➤ Milieux de culture

❖ Milieux de culture solide

- ❖ Gélose Chapman
- ❖ Gélose Mac-conkey
- ❖ Gélose nutritive
- ❖ Gélose Rouge Congo

❖ Milieux de culture liquids

- ❖ Bouillon nutritive
- ❖ BHIB

➤ Matériel

- | | |
|--------------------|----------------------|
| ❖ Boites de petri | ❖ Plaque API Staph |
| ❖ Ecouillons | ❖ Pipette Pasteur |
| ❖ Embouts stériles | ❖ Tubes à Eppendorf |
| ❖ Micropipette | ❖ Tubes à essais |
| ❖ Microplaque | ❖ Tubes à hémolyses |
| ❖ Plaque API20E | ❖ Carreaux en résine |

Annexe 2: Questionnaire dévaluation

Prélèvement :

Type de prothèse :

Stomatite prothétique :

Etat de santé :

Questionnaire hygiène :

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

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

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

- A l'air libre au sec**
- Dans un contenant remplis d'eau seulement**
- Dans un contenant rempli d'eau avec un agent nettoyant**

3. Comment nettoyez-vous votre ou vos prothèses ?

- Rinçage à l'eau du robinet seulement sans brossage**
- Rinçage à l'eau du robinet avec brossage**
- Brossage avec eau**
- Brossage avec eau et pate dentifrice**
- Autre**

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

- Après chaque repas**
- Trois fois et moins par semaine**
- Matin et soir**
- Une seule fois par semaine**
- Autre fréquence :**

Annexe 3: Tableau de lecture de la galerie API20E

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactosidase	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation de citrate	Vert pale/ jaune	Bleu-vert /vert
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / Immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	IND / 2min, maxi	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétone	VP1 + VP2 / 10min	
			incolore	Rosé /rouge
GEL	Gélatine de kohn	Gélatine	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
MAN	Manitol	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation /oxydation	Bleu /bleu-vert	Jaune

Annexe 4: Tableau de lecture de la galerie APIStaph

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
0	Aucun	Témoin négatif	Rouge	-
GLU	D-glucose	Témoin positif	Rouge	Jaune
FRU	D-fructose	Acidification à partir du carbohydrate		
MNE	D-mannose			
MAL	Maltose			
LAC	Lactose			
TRE	D-tréhalose			
MAN	D-mannitol			
XLT	Xylitol			
MEL	D-melibiose			
NIT	Nitrate de potassium			
			Incolore/rose	Rouge
PAL	β -naphtyl ac.phosphate	Phosphatase alcaline	ZYM A + ZYM B / 10 mn	
			Jaune	Violet
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl méthyl-carbonyl	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			Incolore/ rose	Violet/rose
RAF	Raffinose	Acidification à partir du carbohydrate	Rouge	Jaune
XYL	Xylose			
SAC	Saccharose			
MDG	α -méthyl-Dglucosamine			
NAG	N-acétyl-glucosamine			
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/violet

Annexe 5 : Résultat de l'identification par la galerie API20E

Caractère Souches	G	ONP	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	?	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Vibrio fluvialis</i>	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae spp ozaenae</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	?	-	-	-	+	-	-	+	-	+/-	-	+	-
<i>E.coli 1</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	?	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+
<i>Aeromonas hydrophila 1</i>	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+/-	+	-	-	-	+	-	-	-

Annexe 6 : Résultat de l'identification par la galerie API Staph

Caractères Souches	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
	<i>S. auricularis</i>	+	+	+	+	-	+	-	-	-	?	?	-	-	+	+	-	-	-
<i>S. warneri</i>	+	+	-	+	-	+	+	-	-	?	?	+	-	-	+	-	-	+	+
<i>S. sciuri</i>	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	?	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>S. hominis</i>	+	+	-	+	-	-	+	-	-	?	?	-	-	-	+	-	+	+	+
<i>S. lentus</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	+	?	?	-	+	+	+	+	+	-	-

Annexe 7: la composition des désinfectants utilisés

➤ Produits pour la formation de la résine (poly méthacrylate de méthyle)

Polymère



Monomère



Polymère + Monomère

➤ Le **BONY PLUS**: Comprimé effervescent nettoyants à l'oxygène actif (spécial pour appareil dentaire).

Bicarbonates de sodium, Monopersulfate hydrogène de sodium, Acide citrique, Lactose, Carbonate de sodium, Copolymère PVP/VA, sulfate lauryl de sodium, Flaveur peppermint, CI 73015.

➤ Les bicarbonates de sodium



➤ **Le dentifrice**



Miswak en poudre, calcium carbonate, sodium monofluorophosphate (920 ppm)

➤ **Le vinaigre**



Acide de vinaigre alimentaire sans alcool, eau traitée, colorant alimentaire E150

➤ **L'eau de javel**



Eau, hypochlorite de sodium

➤ **Le siwak**

1-Triméthylamine

2- Un alcaloïde qui peut être de la salvadorine

3- Des chlorides

4- Des taux élevés de fluorure et de silice

5- Du soufre

6- De la vitamine C

7- De faibles quantités de tannins, de saponins, de pentanolides et de stérols

Resumé

L'insertion des prothèses amovibles influence la physiologie orale et crée un nouvel écosystème buccal. Cette modification de la flore en rapport avec le port prothétique est à l'origine de la formation, à la surface des appareils, d'un biofilm microbien. Un total de 30 souches ont été obtenus des prothèses dentaires : 16 souches Gram négatives (*Aeromonas hydrofila*, *Pasteurella pneumotropica*, *Vibrio fluviatus*, *Acinetobacter baumannii*, *E. coli* 1, *Klebsiella pneumoniae* spp *ozaenae*) et 14 souches Gram positives (*Staphylococcus aureus*, *S. sciuri*, *S. lentus*, *S. warneri*, *S. auricularis*, *S. hominis*). *K. pneumoniae*, a montré une forte adhésion bactérienne révélée par deux techniques (RCA et TCA). Le traitement des pastilles de résine contaminées par *Kl. pneumoniae* (bactérie a grand pouvoir adhésif) a montré une diminution de la colonisation microbienne après leur immersion dans les différentes solutions désinfectantes, le comprimé bonyplus constitue le moyen le plus efficace pour le nettoyage des prothèses en résine. L'eau de javel, le vinaigre et le siwak présentent aussi une bonne efficacité, le dentifrice, sel, et eau de robinet sont moins efficaces.

Abstract

The insertion of dentures influence oral physiology and creates a new oral ecosystem. This change in the flora associated with prosthetic wear is the origin of the formation on the surface of the equipment of a microbial biofilm. A total of 30 strains were obtained from dentures: 16 Gram-negative strains (*Aeromonas hydrofila*, *Pasteurella pneumotropica*, *fluviatus Vibrio*, *Acinetobacter baumannii*, 1 *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae ozaenae* spp.) and 14 Gram-positive strains (*Staphylococcus aureus*, *S. sciuri*, *S. lentus*, *S. warneri*, *S. auricularis*, *S. hominis*). Regarding the ability of these strains to form biofilm, *K. pneumoniae* showed a high bacterial adhesion revealed by both techniques (RCA and TCA). To test the sensitivity of the bacteria adhered to different antimicrobial agents, the treatment of contaminated resin pastilles showed a decrease of microbial colonization after immersion in different disinfectant solutions, the tablet BONYPLUS was the most effective way to clean dentures of resin. After which bleach and vinegar were almost as effective as the pastille "BONYPLUS." Unlike siwak, toothpaste, salt and tap water that have a lesser effect.

المخلص

إن ادراج أطقم الأسنان يؤثر على فيسيولوجية الفم ويخلق نظام إيكولوجي جديد. هذا التغيير في مجموعة البكتيريا المرتبطة مع ارتداء أطقم الأسنان هو أصل تشكيل الأغشية الحيوية على سطح هذه المعدات، وتم الحصول على ما مجموعه 30 سلالة من أطقم الأسنان: 16 سلالات سالبة الغرام (*Aeromonas hydrofila*, *Pasteurella pneumotropica*, *fluviatus Vibrio*, *Acinetobacter* (*Staphylococcus aureus*, *S. sciuri*, *S. hominis*) و 14 سلالات إيجابية الغرام (*baumannii*, 1 *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae ozaenae* spp). فيما يتعلق بقدرة هذه السلالات على تشكيل الأغشية الحيوية، أظهرت *Klebsiella pneumoniae* قدرة عالية على الالتصاق التي كشفت عنها كل من التقنيات RCA و TCA بهدف اختبار حساسية البكتيريا إلى العوامل المضادة للجراثيم المختلفة أظهرت معاملة الكريات الرزين الملوثة بإنخفاض قدره الاستعمار الميكروبية بعد الغمر في محاليل مطهرة مختلفة، وقرص BONYPLUS هي الطريقة الأكثر فعالية لتنظيف أطقم الأسنان الاكريليكية. في الدرجة الثانية نجد ماء الجافيل والخل الذين كانا تقريبا بنفس فعالية أقراص "BONYPLUS" على عكس السواك ومعجون الأسنان والملح وماء الصنبور التي كان لديها تأثير أقل.