

## **MEMOIRE DE MASTER**

**Filière : Biologie Moléculaire et Cellulaire**

**Option : MICROBIOLOGIE**

**Présenté par**

**TABTI Sarah**

**Intitulé du Thème**

**Capacité de formation d'un biofilm par des souches bactérienne isolée de plaque ODF  
chez les enfants**

**Soutenu le 18-06- 2014**

**Devant le Jury composé de :**

**Dr Barkat S  
Pr Hassaine H  
Dr Bendimerad N**

**Maitre de conférence B  
Professeur  
Maitre de conférence B**

**Président  
Promotrice  
Examinatrice**



**Année Universitaire : 2013-2014**



## **MEMOIRE DE MASTER**

**Filière : Biologie Moléculaire et Cellulaire**

**Option : MICROBIOLOGIE**

*Présenté par*

**TABTI Sarah**

### Intitulé du Thème

**Capacité de formation d'un biofilm par des souches bactérienne isolée de plaque ODF  
chez les enfants**

**Soutenu le 18-06- 2014**

**Devant le Jury composé de :**

**Dr Barkat S  
Pr Hassaine H  
Dr Bendimerad N**

**Maitre de conférence B  
Professeur  
Maitre de conférence B**

**Président  
Promotrice  
Examinatrice**

**Année Universitaire : 2013-2014**

## Remerciement

Tout d'abord, je remercie Dieu de m'avoir donné la santé, le courage et la volonté pour achever ce travail, qui a été réalisé au sein du Laboratoire de microbiologie appliquée a l'agroalimentaire, au biomédical et l'environnement LAMAAB , Université de Tlemcen.

En préambule a ce mémoire, je souhaitais adresser mes remerciements les plus sincères aux personne qui mon apporter leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'a la réussite de cette formidable année universitaire.

Je tien a remercier sincèrement Madame HASSAINE HAFIDA , qui en tant encadreur de mémoire, s'est toujours montré a l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer.

Que madame et monsieur les membres de jury trouvent ici l'expérience de mon profond respect et de mes remerciements les plus sincères pour l'intérêt qu'ils m'ont accordé à ce modeste travail, en l'occurrence : M<sup>me</sup> BENDIMRED NAHIDA et Mr BARKAT SALIH.

Mes remerciements s'adressent également a Melle DIDI WAFAA pour sa générosité et la grande patience dont il a su faire preuve malgré ses charges professionnelles.

Je n'oublie pas mes parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience, et en fin j'adresse mes plus sincère remerciements a tous mes proches et amis, qui mon toujours soutenue et encourager au cours de réalisation de ce mémoire.

Merci a tous et a toutes.

## ***DEDICACE***

Je dédie humblement ce manuscrit à :

A ceux qui ont toujours dévouées et sacrifiée pour moi ; ceux qui mon aidées du mieux qu' ils pouvait pour réussir ; ceux qui mon accompagnées tout au long de ce parcours périlleux ; ceux qui ont toujours été là dans mes moments de détresse, mes très chers parents maman et papa

A mes très chères sœurs NASSIMA et MARWA et à mes très chers frères MORAD et BRAHIM qui m'ont énormément aidée et à qui je témoigne mon affection et ma profonde reconnaissance.

A ma très chère belle sœur AOUICHA et mon beau frère ABDELILAH et mes neveux MOHAMED, ZINEB, FATIMA.

Je remercie chaleureusement ma très chère collègue BOUKLIA HASSANE WASSILA pour l'ambiance cordiale et l'aide qui ma apportée à tout moment

A ma très chère RANIATI qui ma aidée à réaliser le power paint.

Je remercie également toutes les personnes de laboratoire LAMAABE qui m'ont accompagnée tout au long de cette réalisation de cette thèse, je pense en particulier à WAFAA, SAMIA, IBRAHIM.

## **Résumé**

L'insertion des prothèses amovibles influence la physiologie orale et crée souvent un nouvel écosystème buccal. Cette modification 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. Sur les 15 plaques étudiées, une large gamme de bactéries, à Gram positif et à Gram négatif, potentiellement pathogènes a été trouvée. En étudiant leur capacité à former le biofilm *S.epidermidis* et *pseudomonas aeruginosa* ont montré une forte adhésion sur les morceaux de résine et sur microplaque. L'hygiène buccale et le choix du moyen de nettoyage est très intéressant pour la diminution du taux de colonisation des bactéries et donc pour diminuer les infections orthodontique.

**Mots clés.** Biofilm oral, adhésion, Plaque ODF

## **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, of a complexe structure and composition, that can induce to a number of pathologies if not or poorly removed . From 15 ODF studied, a wide range of Gram-negative and Gram-positive strains were obtained. Regarding the ability of these strains to form biofilm, *S.epidermidis* and *pseudomonas aeruginosa* have showed a high bacterial adhesion revealed on microtiter plate and resin composite. Oral hygien and the choice of the mean of cleansers is very important for the decrease of the number of bacteria , so for orthodontics infections .

**Keys word . Oral biofilm, adhesion, ODF plaque**

## 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، مما يؤدي إلى عدة أمراض إذا أزيلت بشكل سيء أو لم يتم إزالتها. تم الحصول على سلالات سالبة الغرام و سلالات إيجابية الغرام . فيما يتعلق بقدرة هذه السلالات على تشكيل الاغشية الحيوية، أظهرت *Staphylococcus epidermidis* و *pseudomonas aeruginosa* قدرة عالية على الالتصاق التي كشفت عنها كل من التقنيات TCP و Resine صحة الفم واختيار وسائل التنظيف مهمة للغاية بالنسبة للانخفاض في الاستعمار الجرثومي وبالتالي للحد من التهابات تقويم الأسنان.

الكلمات المفتاحية : غشاء حيوي فموي، إلتصاق، لوحات تقويم الأسنان

# SOMMAIRE

Table des matières	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	

## INTRODUCTION GENERALE ..... 1

### CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Ecosystème prothétique.....	1
1.1. Prothèse dentaire chez les enfants .....	2
1.2. Orthopédie dento faciale.....	3
2. Les matériaux prothétique.....	4
2.1. Matériaux polymères.....	4
2.2. Alliages.....	4
3. Interaction entre la prothèse et l'écosystème buccale.....	5
3.1. Réaction allergique aux matériaux prothétique.....	5
3.2. Les bactéries responsable d'infection.....	5
4. Biofilm prothétique.....	6
4.1. Composition et structure.....	7
4.2. Etape de formation de biofilm.....	8
4.2.1. Conditionnement de la surface par le milieu.....	8
4.2.2. Adhésion des bactéries .....	9
4.2.3. Croissance de biofilm.....	9
4.2.4. Dispersion de biofilm .....	10
4.3. Vitesse de formation.....	10
4.4. Résistance aux antibiotique.....	10
4.5. Rôle et pathogenicite.....	11
5. Hygiène de la prothèse .....	12

### CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

1. Lieu et population.....	13
2. Prélèvement et ensemencements .....	13
3. Identification.....	14
3.1. Les tests réalisés.....	14
3.1.1. Recherche de la coagulase.....	14
3.2. Plaque api ( staph et 20 E).....	14
4. Evaluation de la formation du biofilm par TCP.....	15

5. La formation du biofilm sur des cylindre de résine .....	16
-------------------------------------------------------------	----

### **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

1. Prélèvement .....	17
2. Isolement et identification.....	18
2.1.Bactéries a Gram positif.....	18
2.2.Bactéries a Gram négatif.....	21
3. L'évaluation de la formation du biofilm.....	27
4. Résultats d'évaluation du biofilm sur cylindre de résine.....	29

<b>CONCLUSION</b> .....	30
-------------------------	----

<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	31
------------------------------------------	----

## Liste des abréviations

---

**MMA** : méthacrylate de méthyle.

**PMMA** : polyméthacrylate de méthyle

**EPS** : extra polymérique substance

**ODF** : orthopédie dento-faciale

**BHIB** : bouillon cœur cerveau

**ADH** : arginine

**URE** : urée

**ODC** : ornithine

**LDC** : lysine

**H<sub>2</sub>S** : thiosulfate de sodium

**CIT** : citrate de sodium

**VP** : pyruvate de sodium

**GEL** : gélatine de kohn

**TCP** : plaque de culture de tissu

**EDS** : eau distillée stérile

**DO** : densité optique

## LISTE DES FIGURES

**Figure1.** Modèle du maxillaire supérieur d'une patiente de 9 ans atteinte de dysplasie ectodermique. Les dents antérieures ont déjà été reconstituées par composite.

**Figure2.** Biofilm prothétique. Observation en microscopie à balayage du biofilm à la surface d'une résine à prise retard après 21 jours de port.

**Figure3.** Représentation schématique des différentes étapes conduisant à la formation d'un biofilm.

**Figure 4.** Mécanismes conduisant à la résistance aux agents antibactériens observée dans les biofilms.

**Figure5.** Photo représentant une plaque ODF.

**Figure 6.** Aspect des colonies de Gram+ des bactéries isolés de plaque ODF a) S.Aureus b) Staphylococcus spp.

**Figure 7.** Répartition des Staphylocoques isolés des prothèses étudiées (Clinique dentaire – CHU-Tlemcen)

**Figure8.** Différents biotypes des staphylocoques isolés des plaques ODF.

**Figure 9.** Différents souches à Gram- isolés de prothèse étudiée.

**Figure 10.** Répartition des bactéries à Gram – isolés des prothèses étudiées.

**Figure 11.** Lecture de la microplaque des staphylocoques.

## **LISTE DES TABLEAUX**

**Tableau1.** Résultats des prélèvements.

**Tableau2.** Tableau présentant tous les caractéristiques des prélèvements.

**Tableau3.** Résultats de l'adhésion sur résine in vitro.

# *Introduction*

## Introduction

La cavité buccale abrite un des écosystèmes bactériens les plus complexes de l'organisme. Plusieurs centaines d'espèces de micro-organismes cohabitent dans le milieu buccal : bactéries, levures, protozoaires et virus. Cette cavité naturelle constitue, avec le côlon, les parties les plus septiques de l'organisme humain. De nombreux auteurs ont essayé de quantifier cette population ils estiment qu'un milligramme de plaque contient environ 100 millions de bactéries, 1 mL de salive contient un nombre moyen de 750 millions de bactéries dont seule une faible partie est cultivable sur milieu de culture (**Roberts,2005**).

Cette diversité bactérienne nécessitera pour vivre et se développer dans ce milieu, de trouver des surfaces d'adhésion favorables, des conditions nutritives et respiratoires riches et variées, des facteurs physicochimiques compatibles avec cette flore et des facteurs inhibiteurs maîtrisables. La complexité de cet écosystème sous-entend l'existence d'une organisation structurale rigoureuse des bactéries (formation du biofilm) et d'interactions nutritionnelles en cascade (**Sixou et al.,2007**).

L'insertion des prothèses amovibles influence la physiologie orale et crée souvent 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, de structure et de composition complexe, qui induit un certain nombre de pathologies s'il n'est pas ou mal éliminé (**Tubiana,2005**).

Devant ces complications peu connus et peu étudiées, notre contribution servira à :

- Essayer de rechercher une flore dominante (bactéries Gram+ et Gram-) sur plaques d'Orthopédie Dento-Faciale (ODF) portés par les enfants.
- Rechercher la capacité de quelques bactéries isolées à former un biofilm.

*Synthèse*

*bibliographique*

### Synthèse bibliographique

#### 1. 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).

##### 1.1. Prothèse dentaire chez les enfants

Les indications des prothèses amovibles ne se limitent pas exclusivement aux patients adultes, mais elles peuvent être nécessaires chez des patients très jeunes également. Les prothèses pour enfants sont posées pour le traitement de situations d'édentement intercalé en dentition de lait ou mixte (Siepmann *et al.*, 2008) (figure1).



**Figure1. Modèle du maxillaire supérieur d'une patiente de 9 ans atteinte de dysplasie ectodermique. Les dents antérieures ont déjà été reconstituées par composite (Siepmann *et al.*,2008).**

### **1.2.Orthopédie Dento Faciale (ODF) :**

Les effets à long terme des traitements d'orthopédie dento-faciale en vue d'améliorer les relations sagittales des mâchoires et de corriger les malocclusions de classe II ont été surestimés cependant bien que l'orthopédie dento-faciale ne semble pas avoir un effet ultime sur la morphologie du squelette facial, ou seulement un effet limité, elle reste un instrument utile pour la correction des malocclusions de classe II du fait qu'elle facilite l'obtention d'une occlusion de classe I à travers son effet temporaire sur le taux et la direction de la croissance faciale (Van,2004).

## **2. Les matériaux prothétiques**

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. On distingue essentiellement deux groupes de matériaux utilisés en prothèse adjointe : les polymères et les alliages métalliques (Lebars *et al.*,2002).

### **2.1. Matériaux polymères :**

La résine acrylique est le matériau le plus répandu pour la confection des prothèses amovibles; c'est un vecteur important des manifestations inflammatoires, traumatiques et à un moindre degré allergiques de nos reconstitutions prothétiques (Welker *et*

**Gebhardt.1996)** Les matériaux à base de résine sont composés de monomère liquide (méthacrylate de méthyle, MMA) mélangé à une poudre de polymère (polyméthacrylate de méthyle, PMMA). La polymérisation peut être provoquée par la chaleur, la lumière ou des activateurs chimiques à température ambiante ou à température buccale. Ces matériaux contiennent des accélérateurs (amines aromatiques et aliphatiques), des copolymères (butyl méthacrylate), des adoucissants (dibutylphtalate), des inhibiteurs (hydroquinones), des colorants (cadmium). Tous les composants synthétiques et les additifs peuvent être à l'origine de sensibilisations. Le contact entre la peau et le monomère lors de la manipulation peut provoquer des eczémas. La qualité de ces produits résulte essentiellement de l'absence de monomère résiduel à la fin de la réaction de polymérisation. En effet, un taux de conversion élevé de monomère favorise les propriétés mécaniques et biologiques des prothèses (**Rath et al., 1996**).

### 2.2Alliages :

Il existe plusieurs centaines de types d'alliages dentaires (environ 550 aux États-Unis), de différentes compositions. Ils contiennent des éléments métalliques majeurs et mineurs, mais aussi des impuretés. Même si les matériaux sont fabriqués de façon à être inertes et insolubles, une réaction galvanique (corrosion/dégradation) peut provoquer la libération de leurs composants ; ceux-ci peuvent être ingérés et/ou provoquer l'apparition d'effets locaux et systémiques, Parmi les éléments biologiquement actifs et potentiellement risqués, citons le nickel, le chrome, le cobalt, le cadmium et le béryllium. Les alliages à base de palladium sont généralement mieux tolérés que les alliages non précieux ou que les alliages d'or pour restaurations céramo métalliques. Le titane, grâce à ses propriétés de surface, constitue le matériau de choix d'un point de vue biologique ; il est le moins « toxique » de tous les matériaux métalliques utilisés dans la cavité buccale (**Boutin, 2014**). Néanmoins, les réactions au niveau de la muqueuse avec des prothèses amovibles à base de métal sont rares (**Mjör et Hristensen, 1998**). Les réactions lichénoïdes et/ou érythroplasiques, directement en relation avec un matériau prothétique ou de restauration, sont les effets secondaires, les plus fréquents. Ces affections doivent être détectées par un examen systématique régulier (la palpation est essentielle) car elles sont considérées comme des lésions initiales ou précancéreuses. Elles peuvent précéder pendant plusieurs mois, ou même plusieurs années, une lésion maligne buccale.

## 2. Interaction entre la prothèse et l'écosystème buccal

L'équilibre écologique (physique, chimique, biologique) de la cavité buccale est influencé par l'usage d'une prothèse. Plusieurs facteurs interviennent :

- le rôle de la muqueuse dans la défense de la bouche ;
- les biomatériaux ;
- la plaque microbienne prothétique ;
- la salive (**Lebars, 2002**).

### 3.1. 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**).

### 3.2. Les bactéries responsables d'infection :

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. 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*. (**Uludamar, 2010**). Tous ces bactéries peuvent être responsable de biofilm prothétique :

Les cocci à Gram négatif : les plus représenté sont : *Neisseria* spp, *Veillonella* spp (**Rdney et al., 2006**),

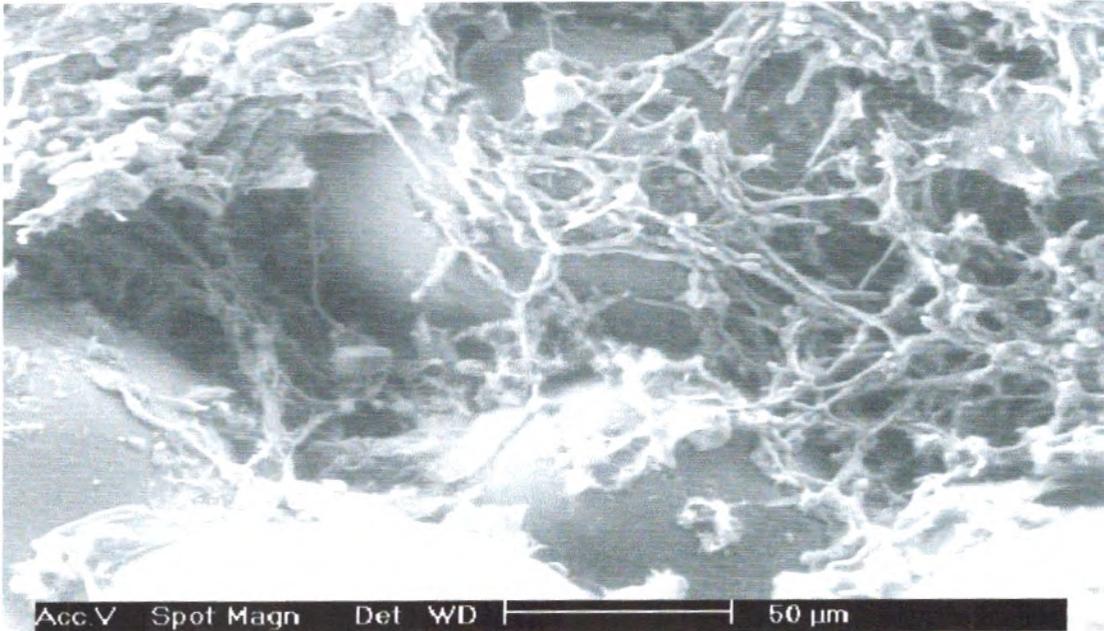
Chez les bacilles à Gram négatif : *Haemophilus* spp (**Norrkov-Lauristen., 2006**), *Eikenella* spp, *Bacteroides* spp (**Lai et al., 1987**), *Porphyromonas* spp ( **Dzink et al., 1985**), *Prevotella* spp ( **Leung et al., 2006** ), *Fusobacterium* spp (**Summane et al.,1993**), *Capnocytophaga* spp ( **Leadbetter et al.**), *Aggregatibacter* spp ( **Slots et al.,1980**).

Quant aux cocci à Gram positif, les streptocoques sont les plus isolés dont : *Streptococcus* spp (**Krass, 1954**), *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*.

### 4. Biofilm prothétique

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**) (**Figure2**).

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.



**Figure2. Biofilm prothétique Observation en microscopie à balayage du biofilm à la surface d'une résine à prise retard après 21 jours de port (Etienne, 2004).**

#### **4.1. Composition et structure**

Le biofilm bactérien est défini comme une communauté microbienne hétérogène, composée de bactéries, liées entre elles, et liées irréversiblement à un substrat. Ces bactéries sont alors caractérisées par la sécrétion d'une matrice adhésive protectrice, constituée de polysaccharides imbibés d'eau (peptidoglycanes, celluloses). Cette matrice extracellulaire bactérienne constitue 85% du biofilm ; les 15% restant correspondent à la fraction cellulaire (**Donlan et Costerton, 2002**).

Les bactéries, en s'assemblant, forment des micro colonies d'organismes vivants (**Pratten et al., 2000**). Ces micro colonies bactériennes, en forme particulière dite de tour, champignon ou encore épis de maïs, sont entrecoupées par un réseau de canaux nutritifs ou espace libre de diffusion assurant la distribution des nutriments et de l'oxygène ainsi que le passage de déchets, enzymes et métabolites (**Donlan et Costerton, 2002**). Ce réseau perméable contribue secondairement au transfert de molécules de signalisation (molécules chimiques) établissant la communication entre les cellules (**Svensater et Bergenholtz, 2004**). Le premier scientifique à mettre en évidence une telle organisation fut Marshall en 1976 (**Donlan et Costerton, 2002**).

#### 4.2. Etape de formation du biofilm

La formation d'un biofilm bactérien sur une surface solide est un phénomène complexe dans lequel des processus physiques, chimiques et biologiques sont impliqués [(Characklis et Marshall, 1990);(Lappin-Scott et Costerton, 1995)]. La constitution d'un biofilm mature nécessite plusieurs étapes : (figure3) .

- attachement réversible des bactéries
- adhésion irréversible et production d'EPS
- formation des micro-colonies
- maturation du biofilm et mise en place de la structure tridimensionnelle du biofilm,
- détachement du biofilm

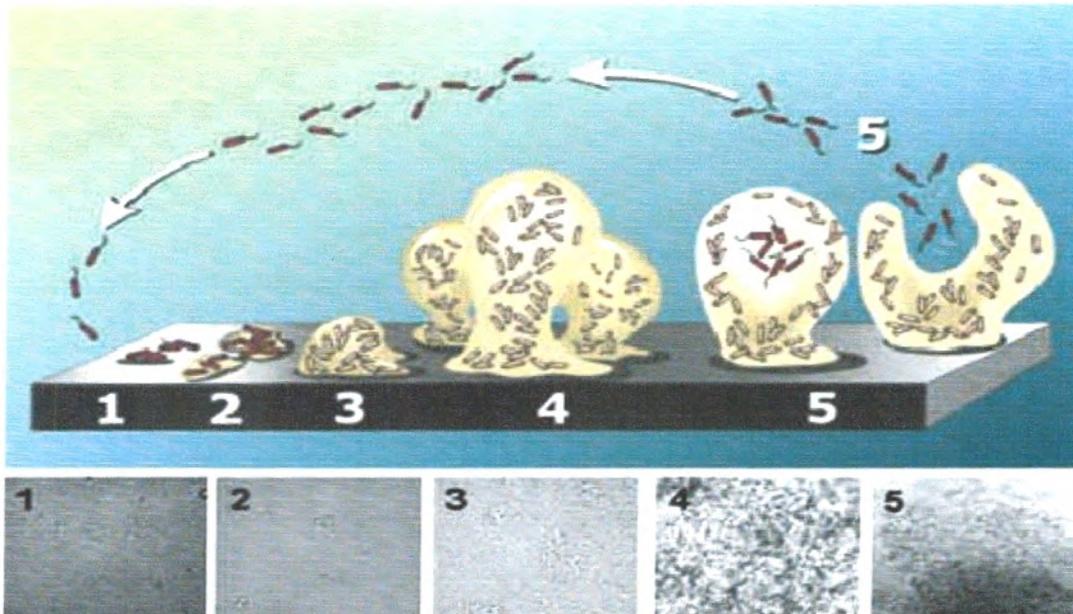


Figure 3. Représentation schématique des différentes étapes conduisant à la formation d'un biofilm (Stoodley *et al.*, 2002).

**4.2.1. Conditionnement de la surface par le milieu :** La nature du milieu, du matériau, ainsi que les caractéristiques de surface de ce dernier, sont des paramètres essentiels intervenant lors de cette première étape. En effet, la surface est le siège d'une absorption irréversible de macromolécules telles que des acides humiques, des polysaccharides ou des protéines, conduisant à la formation d'un film conditionnant ("conditioning film") [(Baier, 1980 ; Little et Jacobus, 1984);(Ishida et Griffiths, 1990)]. Ce film est qualifié de conditionnant car il peut modifier les propriétés de surface initiales du matériau ce qui a

pour conséquence soit de prévenir l'approche des bactéries soit au contraire de créer un microenvironnement favorable à l'adhésion stable des bactéries. (Parot ,2007).

**4.2.2. Adhésion des bactéries :** L'approche des bactéries de la surface dépend des propriétés dynamiques du milieu (vitesse d'écoulement du fluide) et des propriétés physico chimiques de la surface (Katsikogianni *et al.*, 2004). L'adhésion bactérienne implique le déplacement de la cellule vers le lieu de son adhésion. Cette approche nécessite différents appendices bactériens, tels que les flagelles et les cils [(O'Toole et Kolter, 1998) ; (Gavin *et al.*, 2003)] qui permettent également à la bactérie de se déplacer sur la surface. D'autres appendices, les pilis sont pour leur part impliqués dans l'attachement initial à la surface [(Fletcher *et al.*, 1993) ; (Mcbride,2001)]. Dans un premier temps l'adhésion est due à des interactions faibles entre la surface et les bactéries. A ce stade, la bactérie peut désorber de la surface et retrouver son état planctonique, l'adhésion est donc réversible. Dans un deuxième temps, l'adhésion devient irréversible grâce à la sécrétion d'exo polymères par les bactéries permettant de consolider leur fixation au support. Dans ce cas, des interactions fortes s'établissent entre la bactérie et la surface avec des liaisons de type hydrophobe. La synthèse des EPS, qui débute dès les premières étapes d'adhésion, se poursuit pendant la maturation du biofilm [(Kuchma *et al.*, 2005);(Spieret *et al.*, 2003)]et la matrice peut alors occuper jusqu'à 75-95 % du volume d'un biofilm mature (Suciet *et al.*, 1994).

**4.2.3. Croissance du biofilm :** Une fois que la bactérie est irréversiblement adhérente à la surface, sa multiplication conduit à la formation de colonies qui vont recouvrir toute ou une partie de la surface selon les propriétés de surface des bactéries et des matériaux. La structure du biofilm dépend des conditions environnementales telles que la source de carbone ou le régime hydrodynamique [(Stanley *et al.*, 2003);(Klausenet *et al.*, 2006)]. Par la suite le biofilm a une croissance exponentielle se traduisant par une augmentation importante de son épaisseur jusqu'à former un film hétérogène tridimensionnel [(Costerton *et al.*, 1995 ; Davey et O'Toole, 2000) ;(Sauer *et al.*, 2002)]. Dans cette structure tridimensionnelle se forment des canaux permettant la circulation de nutriments (Costerton *et al.*, 1999), d'oxygène et l'évacuation des produits issus du métabolisme bactérien. Finalement l'épaisseur du biofilm se stabilise lorsque les phénomènes d'arrachement du biofilm compensent sa croissance.

**4.2.4. Dispersion du biofilm :**Le détachement de cellules du biofilm intervient lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables : limitation de la disponibilité en

oxygène dans des biofilms épais, apparition de forces de cisaillement dues aux conditions hydro dynamiques ,diminution de la concentration ou modification de la nature des nutriments disponibles[(**Sauer et al., 2002**) ;(**Sauer et al., 2004**)]. Les bactéries peuvent alors migrer afin de trouver un environnement plus favorable à leur développement. Ce phénomène n'est pas restreint au dernier stade du développement du biofilm mais peut avoir lieu, soit par lyse cellulaire soit par le départ de cellules viables, tout au long de la formation du biofilm et en réponse à un changement d'environnement (**Parot,2007**).

### **4.3. Vitesse de formation**

Des études expérimentales en laboratoire ont montré que'en règle générale, les bactéries planctoniques, par ex. *Staphylococci*, *Streptococci*, *Pseudomonas* et *Escherichia coli* :

- adhèrent en quelques minutes
- forment des microcolonies fermement attachées en 2 à 4 heures
- forment une SPE initiale et développent une tolérance progressive aux biocides (par ex. antibiotiques, antiseptiques et désinfectants) en 6 à 12 heures
- évoluent en colonies de biofilms complètement matures qui se révèlent extrêmement résistantes aux biocides et répandent des bactéries planctoniques dans les 2 à 4 jours, selon l'espèce des micro-organismes et les conditions de croissance
- récupèrent rapidement de toute perturbation mécanique et reforment un

biofilm mature en l'espace de 24 heures (**Majdi, 2011**).

### **4.4. Résistance aux antibiotiques :**

De nombreux problèmes associés au développement des biofilms en milieu médical, ont pour origine leur résistance extrêmement élevée aux agents antibactériens (antibiotiques et désinfectants) .Cette résistance accrue, multifactorielle, est liée aux conditions de vie dans le biofilm (hétérogénéité, accès aux nutriments, oxygène etc.) elles modifient les propriétés physiologiques des micro-organismes et induisent des mécanismes de résistance spécifiques qui s'ajoutent aux mécanismes de résistance connus(**Roux et Ghigo, 2006**) (**figure4**) .

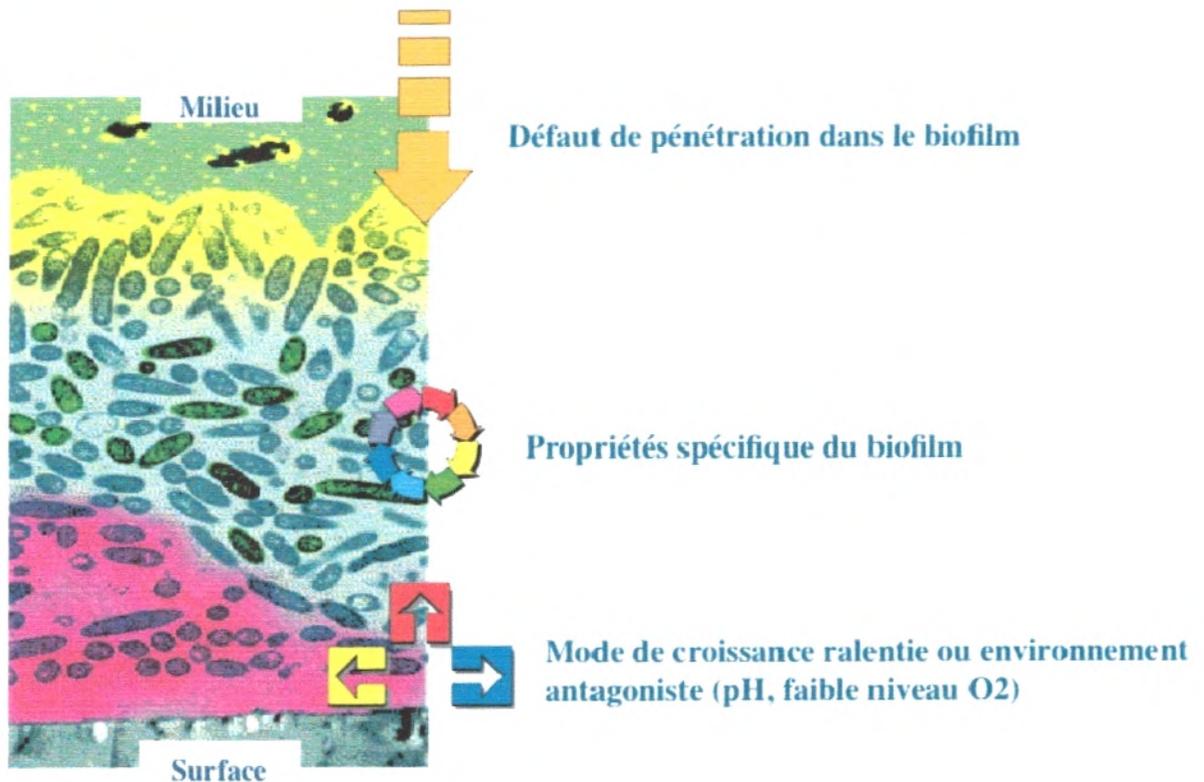


Figure4. Mécanismes conduisant à la résistance aux agents antibactériens observée dans les biofilms (Roux et Ghigo, 2006).

#### 4.5. Rôles et pathogénicité

Le biofilm joue donc un rôle protecteur, pour les bactéries, selon quatre principes différents :

- ◆ Une protection passive par une matrice extracellulaire qui empêche partiellement le passage d'éléments antibactériens.
- ◆ Une protection métabolique: les bactéries ainsi organisées sont moins actives métaboliquement et donc moins réceptives aux agents antimicrobiens, qui n'attaquent que les bactéries en division.
- ◆ Une protection active, en expulsant par des pompes d'efflux certains produits hostiles aux bactéries.
- ◆ Une protection génétique caractérisée par des échanges de matériel génétique entre les cellules, des transferts de résistance ainsi que des modifications génotypiques et phénotypiques des micro-organismes, leur conférant des propriétés différentes et une résistance accrue (Donlan et Costerton, 2002).

La formation d'un biofilm constitue le premier moyen d'adaptation des bactéries à leur environnement. Le biofilm est le mode de vie naturel des bactéries en milieu hostile (manque de nutriment...). Les micro-organismes composant le biofilm présentent des propriétés différentes de leurs homologues planctoniques (**Venopoulsen, 1999**). La structure et la physiologie du biofilm donnent aux bactéries ce que l'organisation tissulaire apporte aux cellules des êtres supérieurs.

Le biofilm bactérien n'est pas initialement pathogène. Il joue un rôle très important dans le développement des défenses immunitaires de l'hôte (**Marsh, 2006**). Par exemple, la santé dentaire est considérée comme un état d'équilibre dans lequel une population bactérienne coexiste avec l'hôte et où aucun dommage irréparable n'apparaît dans les tissus de ce dernier (**Carranza et Newman, 1996**). L'antagonisme bactérien (compétition bactérienne nutritionnelle, compétition bactérienne d'adhésion, production de facteurs inhibiteurs, création de conditions environnementales de survie spécifiques...), se développant au sein du biofilm dentaire, va à l'encontre des bactéries pathogènes et joue ainsi un rôle protecteur. Les bactéries pathogènes sont naturellement présentes parmi la flore buccale mais en très faible quantité (**Berge, 1984**).

Toutefois, un changement écologique peut apparaître et modifier la composition et les activités des communautés bactériennes du biofilm. Il en résulte une augmentation des proportions des microorganismes pathogéniques, qui possèdent des déterminants enzymatiques et structuraux les rendant plus virulents (**Burne, 1998**). C'est alors que les différents groupes de bactéries pathogènes coopèrent et entraînent la maladie, tandis que, seules, ces bactéries sont incapables de nuire (**Berger, 1984**).

Ainsi, la plupart des pathologies chroniques humaines sont associées à la pathogénicité d'un biofilm bactérien (**Donlan et Costerton, 2002**).

### **5. Hygiène de la prothèse**

L'entretien des prothèses dentaires amovibles pose souvent de nombreux problèmes aux patients (**Jagger, 1995**). Le nettoyage de la prothèse doit être quotidien (après chacun des principaux repas). Celui-ci s'obtient par un effet mécanique, chimique ou l'association des deux [(**Grimonster et Brogniez, 1989**) et (**Jagger et al, 1995**) et (**Perrin et al 1977**)]

– effet mécanique : à l'aide d'ultrasons, brosse à dent ou brosse spéciale pour prothèse, bulles d'oxygène naissantes, pâtes abrasives.

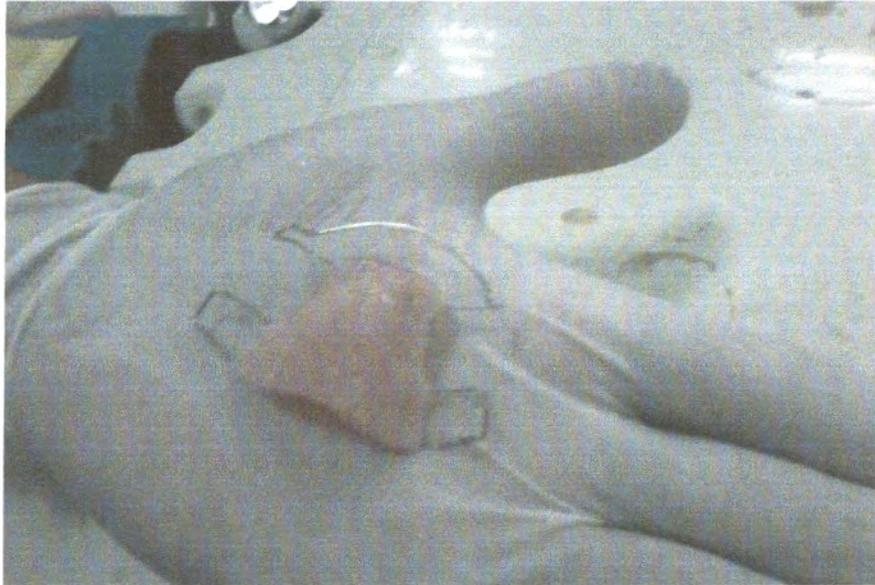
– effet chimique : lié aux propriétés du produit utilisé : les acides dilués, les désinfectants, les peroxydes alcalins (**Brogniez et al, 1989**) .

*Matériel et  
méthodes*

### 1. Lieu et populations

Cette étude s'est étendue durant un moi et a ciblé tout enfant porteur de plaque ODF ( orthopédie dento-faciale) dentaires amovibles se présentant à la clinique dentaire (CHU Tlemcen), pour soins ou complications.

Parallèlement un questionnaire a été adressé aux enfants (  **tableau1 annex B** ), afin de recueillir toutes les informations concernant le port de la plaque d'ODF (  **Figure5**).



**Figure 5. Photo représentant une plaque ODF (enfant).**

### 2. Prélèvements et ensemencements

A l'aide des microbrosses stériles des prélèvements ont été réalisés sur l'intrados et l'extrados de la plaque d'ODF de chaque enfant. Les prélèvements sont ensuite acheminés au laboratoire de Microbiologie (LAMAABE) pour être étudiés.

Chaque brosse est mise dans 5mL de BHIB, et incubée 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 de Chapman pour l'isolement des Staphylocoques.

Les milieux ensemencés ont été incubés dans une étuve à 37°C pendant 48h à 72h, après lesquels on a procédé un isolement , une purification et puis une identification.

### 3. Identification

#### 3.1 Les tests réalisés :

##### 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).

#### 3.2 Plaques Api (Staph et 20 E)

Créé en 1970, la plaque API, a représenté une vraie 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 côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.

- Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE (Api Staph) / ODC,ADH, LDC, H<sub>2</sub>S, 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 à 37°C pendant 18-24 heures.

#### **Lecture de la galerie**

- Après incubation, lire les réactions conformément au tableau de lecture, (**tableau 2, 3 Annexe B**), 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 (ApiStaph) / test TDA : Kovax (20E)

#### **Détermination du profil numérique**

Sur la fiche de résultats, les tests 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.

#### **4. Evaluation de la formation du biofilm par 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.

Une dilution au 1/100 a été réalisée avec du milieu frais (BHIB) et les puits de la microplaque sont ensuite inoculés avec 0.2ml de cette dilution. Le bouillon de culture stérile (BHIB) servira de témoin.

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 classées dans les catégories suivantes : non-adhérentes (0), faiblement (+), modérée (++) , ou fortement (+++) adhérentes.

### **5. La formation du biofilm sur des cylindres de résine**

Cette expérience est réalisée en utilisant des morceaux de résine (prothèse) de même composition que celle des prothèses qui sont ensuite rincés et stérilisés à l'autoclave à 120° pendant 10min ces derniers ont été préparés par l'aide d'un prothésiste.

➤ **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 :

Une fois stérilisés les cylindres de résines sont mis dans des tubes contenant 5mL d'une suspension bactérienne de  $10^8$  UFC /ml et incubés 24h à 37°C pour permettre l'adhésion des bactéries dans une atmosphère humide et saturée.

Après incubation les bactéries non adhérentes sont éliminées en rinçant manuellement et délicatement les morceaux de résine 3 fois avec de l'EDS, de suite ces morceaux sont mis dans 5mL d'eau physiologique et soumis à ultra-son pendant 3min et passage au vortex pendant 20s. Des lectures de DO correspondantes ont été réalisées pour chaque échantillon.

*Résultats*

*Et*

*Discussion*

### 1. Prélèvement

Tous les prélèvements des plaques ODF retirés chez des différents enfants ont présenté une culture positive avec développement bactérien très prononcé dans tous les tubes (**Tableau1**).

**Tableau1. Résultats des prélèvements**

Patients	Age	sexe	La durée du port	Culture
<b>P1</b>	<b>11 ans</b>	<i>Garçon</i>	<b>03 mois</b>	+
<b>P2</b>	<b>08 ans</b>	Fille	<b>08 mois</b>	+
<b>P3</b>	<b>08 ans</b>	<i>Fille</i>	<b>10 mois</b>	+
<b>P4</b>	<b>10 ans</b>	<i>Fille</i>	<b>04 mois</b>	+
<b>P5</b>	<b>08 ans</b>	<i>Fille</i>	<b>04 mois</b>	+
<b>P6</b>	<b>12 ans</b>	<i>Fille</i>	<b>06 mois</b>	+
<b>P7</b>	<b>08 ans</b>	<i>Fille</i>	<b>06 mois</b>	+
<b>P8</b>	<b>07 ans</b>	<i>Fille</i>	<b>09mois</b>	+
<b>P9</b>	<b>07 ans</b>	<i>Fille</i>	<b>06 mois</b>	+
<b>P10</b>	<b>11 ans</b>	<i>Fille</i>	<b>03 mois</b>	+
<b>P11</b>	<b>09 ans</b>	<i>Fille</i>	<b>05 mois</b>	+
<b>P12</b>	<b>09 ans</b>	<i>Fille</i>	<b>02 mois</b>	+
<b>P13</b>	<b>09 ans</b>	<i>Garçon</i>	<b>05 mois</b>	+
<b>P14</b>	<b>09 ans</b>	<i>Garçon</i>	<b>03 mois</b>	+
<b>P15</b>	<b>10 ans</b>	<i>Fille</i>	<b>07 mois</b>	+

Sur la période étudiée, 15 enfants porteurs de plaque ODF ont fait l'objet de notre étude. Selon le tableau 1 tous ces prélèvements présentaient une culture positive chez des enfants scolarisés et dont l'âge variait entre 7ans et 11ans.

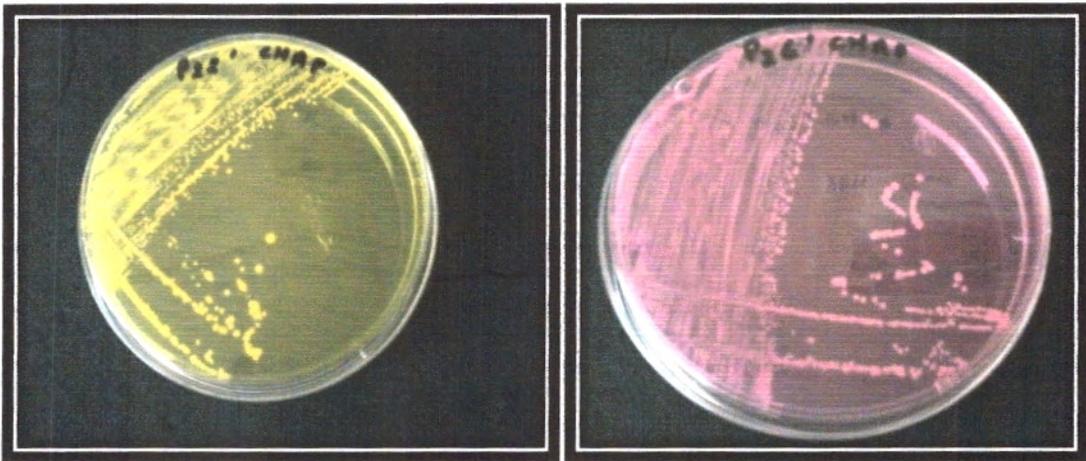
Selon ce même tableau on remarque que les filles (12/15) sont plus porteuses de ces appareils pour correction d'endementement du lait ou mixte. La durée de port de ces appareils varie de 2 à 10 mois pour l'ensemble des enfants.

## 2. Isolement et identification

### 2.1. Bactéries à Gram positif

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

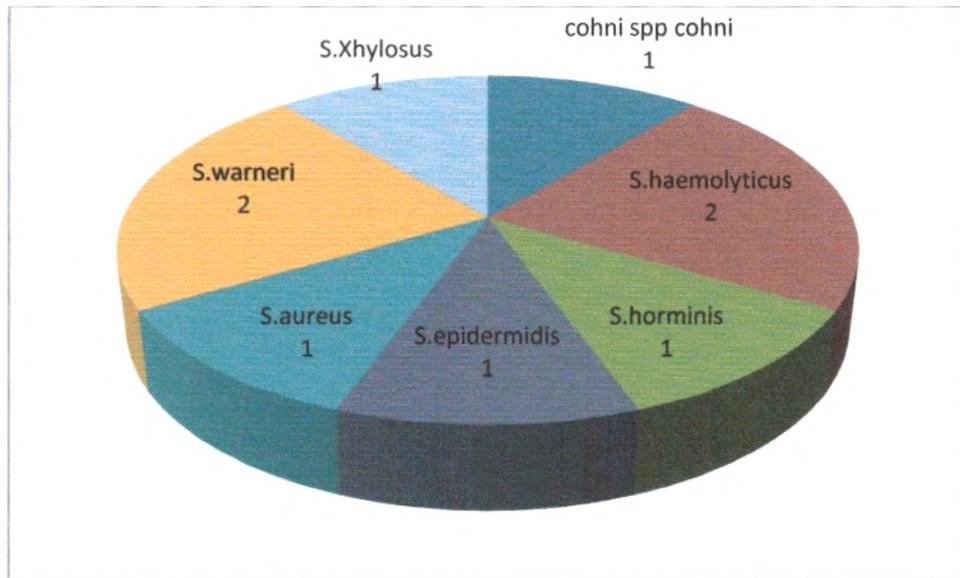
Le développement bactérien sur le milieu Chapman ne constitue qu'une indication, d'autres bactéries (Entérocoques) peuvent y cultiver. Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, sinon les colonies sont de couleurs blanches (**Figure 6**).



**Figure 6.** Aspect des colonies de Gram positif des bactéries isolées de plaque ODF

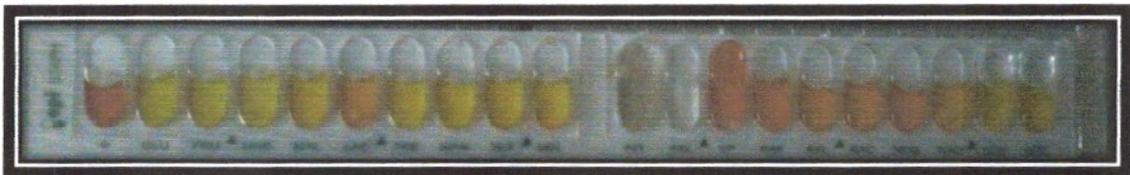
a) *S. aureus* b) *Staphylococcus spp.*

09 souches appartenant au genre *Staphylococcus* ont été identifiées (**Figure 7**), une souche pure a été assignée à l'espèce *S. aureus* (API Staph) présentant une coagulase positive et les souches restantes appartiennent aux espèces à coagulase négative .

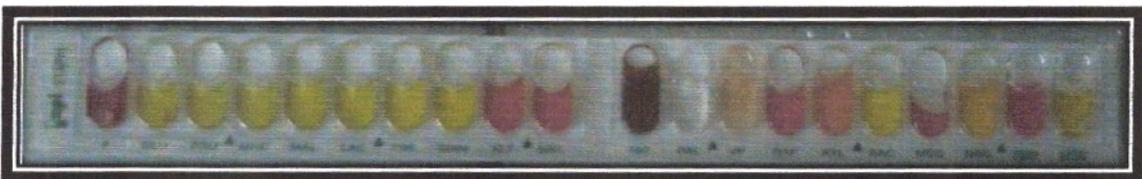


**Figure 7. Répartition des Staphylocoques isolés des prothèses étudiées (Clinique dentaire – CHU-Tlemcen)**

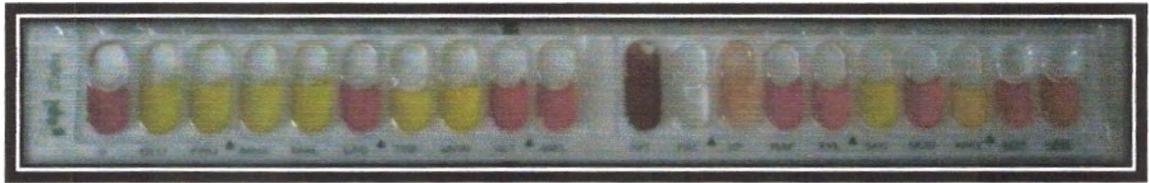
L'identification par la galerie API Staph nous a permis de mettre en évidence huit espèces à coagulase négative, appartenant aux espèces: *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. hominis*, *S. cohnisppcohni*, *S. xylosus* (Figure 8).



*Staphylococcus cohni spp cohni 6771100*



*Staphylococcus haemolyticus 2632071*



*Staphylococcus horminis* 6332153



*Staphylococcus aureus* 6732113



*Staphylococcus epidermidis* 6703011



*Staphylococcus warneri* 6330052



*Staphylococcus xylosus* 6732052

**Figure 8. Différents biotypes de staphylocoques isolés des plaques ODF**

**(Clinique dentaire - CHU-Tlemcen).**

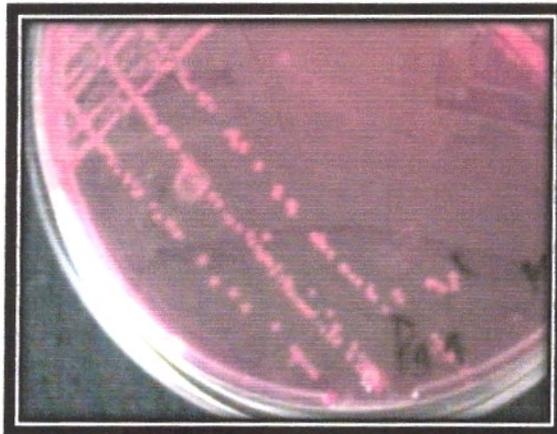
Les staphylocoques ont des propriétés de virulence importante et provoquent un large éventail de maladie infectieuse humaine notamment la pneumonie, la septicémie, et l'endocardite (Al, 1998).

Les staphylocoques ne font pas partie de la flore commensale orale, ils sont considérés comme une partie microbienne transitoire (Öhman, 1995) . En revanche, ils constituent une composante importante de la microflore de la peau et la muqueuse nasale et même de la plaque prothétique (Laza, 2010).

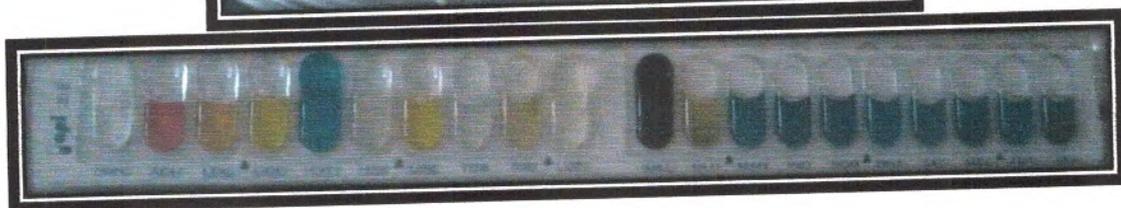
La pose d'un appareil orthodontique ou un dentier change l'environnement buccal. De ce fait, des champignons comme le *Candida albicans* notamment, mais aussi des bactéries comme les *Staphylococcus aureus* et les *Streptococcus mutans* se multiplient dans les porosités des polymères des appareils amovibles. Ainsi, l'appareil orthodontique infecté devient un réservoir à micro-organismes pathogènes et opportunistes (Coenye, 2007).

### 2.2. Bactéries à Gram négatif

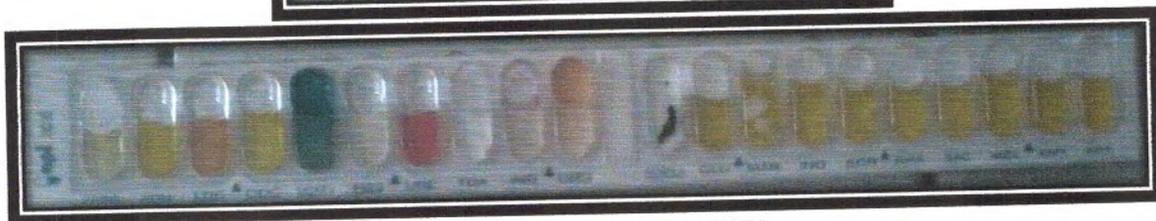
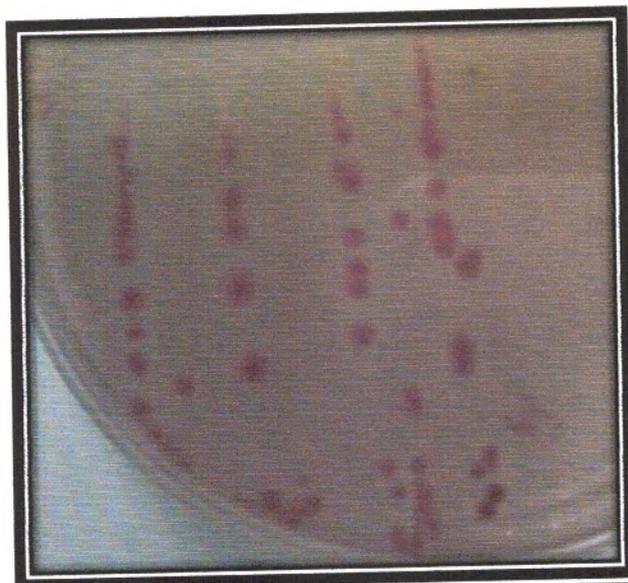
Sur les quinze prélèvements réalisés, 11 souches à Gram négative ont été isolées.



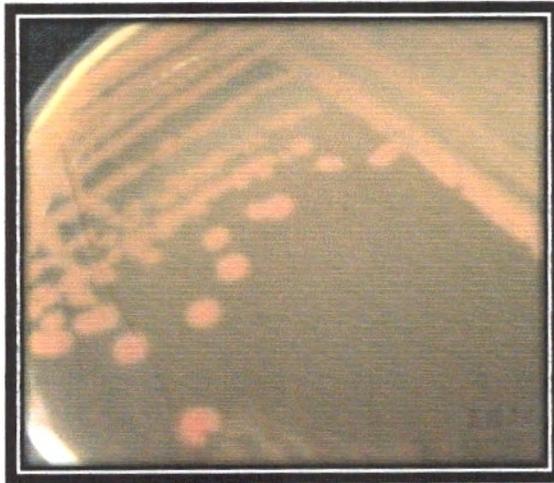
*Pasteurella pneumotropica/ mannheimia haemolytica 1011120*



*Pseudomonas aeruginosa* 6206000



*Klebsiella oxytoca* 5245773



*Myroides/chriseobacterium indologenes* 0002000



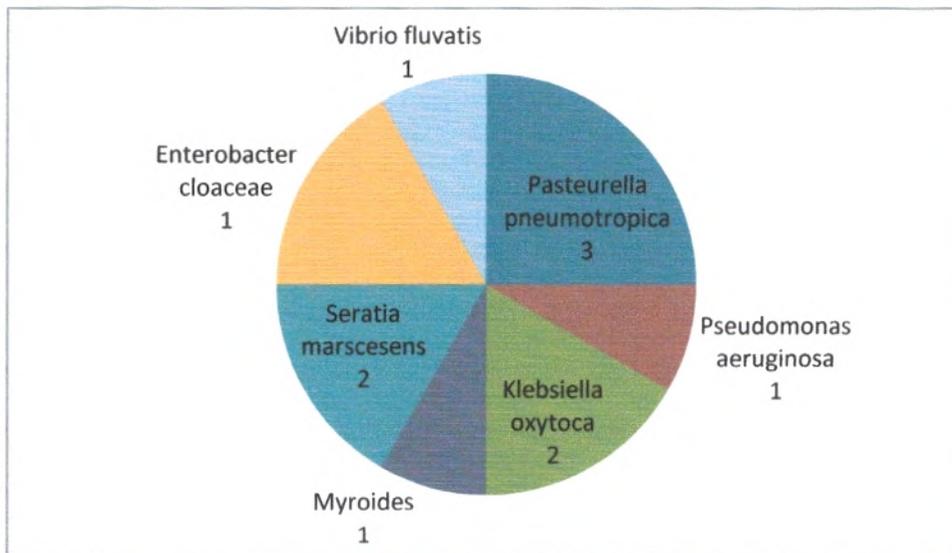
*Vibrio fluvialis* 3214120



*Serratia marcescens* 5307763

**Figure 9.** Différentes souches à Gram négative isolées de prothèses dentaires Clinique dentaire CHU Tlemcen.

L'aspect morphologique des souches isolées sur Mac Conkey (**Figure9**) ainsi que les résultats des tests biochimiques de la galerie API 20 E ont permis de révéler sept différentes espèces dont *Pasteurella pneumotropica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Myroides /chryseobacterium indologenes*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae* et *Vibrio fluvialis* (**Figure 10**) .



**Figure10. Répartition des bactéries à Gram négatifs isolées de prothèses étudiées (Cabinet dentaire CHU - de Tlemcen).**

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

En outre, il est également connu que les entérobactéries tel les *Klebsiella* favorisent la colonisation des épithéliums (Makrides et Macfarlane, 1982).

D'autres études concernant le même thème ont rapportées des taux de colonisation de 10% avec la présence de plusieurs espèces comme : *Neisseria*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Gardnerella vaginalis*, *Haemophilus influenzae*, *H. parainfluenzae*, *Bordetella spp.*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Burkholderiacepacia*, et plusieurs espèces de *Bacillus* (Glass et al, 2004).

Selon Sumi et al (2006), les entérobactéries comme *E. cloacae* et *E. coli* ont été détecté au niveau des prothèses amovibles chez les personnes âgés, cette contamination est peut être le résultat du contact des prothèses avec les mains souillées.

Ces mêmes auteurs suggèrent que les microorganismes de la plaque prothétique peut présenter une source logique des pathogènes de la muqueuse de l'oropharynge .

Le tableau 2 résume les différents prélèvements réalisés dans cette étude, ainsi que les germes identifiés pour chaque prothèse. On constate que la plaque de la majorité des enfants

est colonisée par des bactéries à Gram- et à Gram + représentée le plus souvent par le genre *Staphylococcus*.

De même on note la relation entre le taux de colonisation ,la durée du port des plaques ODF ainsi que leurs moyens de nettoyage, exemple du huitième prélèvement (P8), où trois différentes espèces ont été isolées à partir d'une plaque ODF portée pendant 9 mois et nettoyée par un dentifrice normal, dont : *Pasteurella pneumotropica*, *S. epidermidis*, *S. aureus* appartenant à des germes pathogènes. Contrairement à celle portée pendant 2 mois et nettoyée par un dentifrice pour enfant (P12).

Selon le questionnaire adressé à tous les enfants, ces derniers semblent retirer leurs prothèses ODF pour se nourrir et la nettoie chaque soir avec un dentifrice.

**Tableau 2: Tableau présentant tous les caractéristiques des prélèvements**

Patients	Age	durée du port	Retrait de la prothèse	nettoyant utilisé	germes retrouvés
<b>P1</b>	<b>11 ans</b>	<b>03 mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice enfant</b>	<b><i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>Cohni spp cohni</i></b>
<b>P2</b>	<b>08 ans</b>	<b>08 mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice enfant</b>	<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Gram+ spp</i></b>
<b>P3</b>	<b>08 ans</b>	<b>10 mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice enfant</b>	<b><i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Gram+ spp</i></b>
<b>P4</b>	<b>10 ans</b>	<b>04 mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice enfant</b>	<b><i>Myroides/chriseobacterium indologenes</i> <i>S.haemolyticus</i></b>
<b>P5</b>	<b>08 ans</b>	<b>04 mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice enfant</b>	<b><i>Serratia marscesens</i> <i>S.horminis</i></b>
<b>P6</b>	<b>12 ans</b>	<b>06 mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice normal</b>	<b>Culture + Germes non identifié</b>
<b>P7</b>	<b>08 ans</b>	<b>06 mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice enfant</b>	<b><i>Enterobacter cloaceae</i></b>
<b>P8</b>	<b>07 ans</b>	<b>09mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice normal</b>	<b><i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>S.epidermidis</i> <i>S.aureus</i></b>
<b>P9</b>	<b>07 ans</b>	<b>06 mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice enfant</b>	<b><i>Klebsiella oxytoca</i></b>
<b>P10</b>	<b>11 ans</b>	<b>03 mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice enfant</b>	<b><i>Pasteurella pneumotropica</i></b>
<b>P11</b>	<b>09 ans</b>	<b>05 mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice enfant</b>	<b><i>Vibrio fluvatis</i></b>
<b>P12</b>	<b>09 ans</b>	<b>02 mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice enfant</b>	<b><i>S.warneri</i></b>

<b>P13</b>	<b>09 ans</b>	<b>05 mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice enfant</b>	<b><i>S.warneri</i></b>
<b>P14</b>	<b>09 ans</b>	<b>03 mois</b>	<b>Oui</b>	<b>Dentifrice enfant</b>	<b><i>Seratia marcesens</i> <i>S. haemolyticus</i></b>
<b>P15</b>	<b>10 ans</b>	<b>07 mois</b>	<b>oui</b>	<b>Dentifrice enfant</b>	<b><i>S.xylosus</i></b>

Nos résultats montrent que les plaques ODF sont colonisées par différents genres bactériens qui peuvent dans certaines conditions être responsables de pathologies infectieuses essentiellement à staphylocoques .

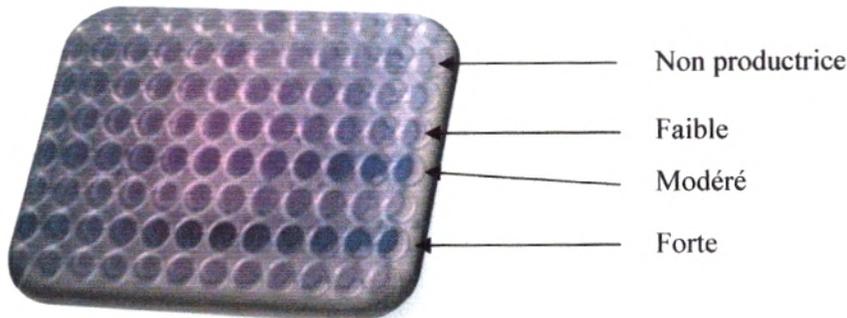
Effectivement selon plusieurs auteurs, la surface interne des prothèses dentaires amovibles, présente de nombreuses irrégularités et microporosités qui favorisent la colonisation et la pénétration des bactéries et des levures dans la base de la résine acrylique. La colonisation peut être faite, soit 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* (Uludamar,2010).

Selon **Glass et al., 2004**, les micro-organismes isolés des prothèses 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).

Certains correcteurs de classe II ou de disjoncteur portés par différents enfants créent des surfaces difficilement nettoyables avec les moyens d'hygiène conventionnels. De plus, les ligatures élastomériques et l'excès de produits de collage autour des attaches créent des poches où les bactéries peuvent se multiplier (**Sukontapatipark et al. 2001**).

### **3. L'évaluation de la formation du biofilm**

Sur les 20 souches isolées des plaques ODF, 7souches à Gram négatif : *Pasteurella pneumotropica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Myroides/chriseobacterium indologenes*, *Seratia marcesens*, *Enterobacer cloaceae*, *Vibrio fluvatis* et 7 souches à Gram positif : *S. aureus*, *S. cohni spp cohni*, *S. haemolyticus*, *S. horminis*, *S. warneri*, *S. xylosus*, *S.epidermidis* ont été testées pour leur capacité à former des biofilms par la technique de plaque de culture de tissus (TCP) (**figure11**).



**Figure 11. Lecture de la microplaque des Staphylocoques.**

L'évaluation de la formation de biofilm des sept souches à Gram – et celles à Gram +, a montré que seules les espèces *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus haemolyticus* étaient de bonnes formatrices de biofilm, contrairement aux autres qui étaient faiblement ou non formatrices.

En effet *Pseudomonas aeruginosa* est souvent considérée comme bactérie formatrice et très fortement adhérente sur support en plastique de plus celle-ci adhère très bien en présence d'un taux d'humidité élevé. Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont caractérisées par leur ubiquité, leurs exigences nutritives modestes leur permettent de survivre et de se multiplier sur des surfaces humides. De ce fait, elles sont fréquemment rencontrées en milieu hospitalier (Hamze *et al.*, 2004).

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. Résultats d'évaluation du biofilm sur cylindre de résine :

A fin de confirmer les résultats précédents nous avons essayé d'évaluer la formation de biofilm de quelques bactéries sur des cylindres de résine de même composition de plaque ODF.

Pour cet essai seules 4 bactéries ont été sélectionnées sur leur capacité à formé ou non un biofilm par la technique précédente soit 2 espèces fortement productrices et 2 non productrices dans le but d'une comparaison. (Tableau3)

**Tableau 3. Résultats de l'adhésion sur résine *in vitro***

Espèces		Densité optique
Gram négatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.05
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	0.04
Gram positif	<i>S. haemolyticus</i>	0.09
	<i>S. epidermidis</i>	0.12

Les résultats obtenus (Tableau 3) montrent que les 4 souches étudiées présentent un comportement d'adhésion différent vis-à-vis des deux supports étudiés (microplaque et cylindre de résine) essentiellement pour les bactéries à Gram positif, effectivement contrairement aux résultats de la formation du biofilm sur microplaque, *S. epidermidis* a présenté une forte adhésion sur résine par rapport au *S. haemolyticus*. Pour les espèces à Gram négatif, on note une légère différence entre les deux supports. Cette différence pourrait être due soit à la composition du substrat, aux propriétés de la paroi chez ces bactéries ou alors aux conditions expérimentales.

# *Conclusion*

### Conclusion

Nous concluons cette modeste contribution pour dire que les plaque ODF retirées des différents enfants scolarisés à différents âges sont toutes colonisées par une variété importante d'espèce bactérienne montrant et confirmant la grande diversité de la flore buccale . Cependant chez les 15 enfants porteurs d'appareils dentaire étudiés une large gamme de micro-organismes potentiellement pathogènes a été trouvée dont *Pasteurella pneumotropica*, *klebsiella oxytoca*, *myroides/ chriseobacterium indologenes*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloaceae*, *Vibrio fluvatis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. Cohni spp cohni*, *S.haemolyticus*, *S.horminis*, *S.epidermidis*, *S.aureus*, *S.warneri*, *S.xylosus* .

La présence de toutes ces espèces seraient certainement due à plusieurs facteurs et paramètres dont le manque d'un nettoyage rigoureux des plaques ODF par les enfants , le non suivit de l'hygiène au quotidien de ces appareils et aussi à la capacité de certaines espèces bactériennes à s'adhérer sur ces dispositifs surtout s'ils présentent des microporosités formant des niches microbiennes et production de biofilm bactérien.

L'évaluation de la capacité à former un biofilm par certaines bactéries essentiellement par les souches de *S.epidermidis* et de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des plaques ODF, confirme l'adhésion de celles-ci sur surface abiotique que se soit par la techniques TCP ou sur cylindre de résine.

L'hygiène buccale et le choix du moyen de nettoyage sont importants et nécessaire pour la diminution du taux de colonisation des bactéries et donc pour diminuer les infections orthodontique à biofilm.

*Références*

*bibliographiques*

**B**

**Baier R E., (1980).** Substrata influences on adhesion of microorganisms and their resultant new surface properties. In: G. Bitton and K.C. Marshall. Adsorption of microorganisms to surfaces. *John Wiley, New York*;59-104.

**Berge L., (2010).** Le biofilm bactérien endodontique. *Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire* ;P 76.

**Boutin P., (2014).** Arthroplastie totale de la hanche par prothèse en alumine frittée. Etude expérimentale et premières applications cliniques. *Revue de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique, 100(1)* ;14-21.

**Brogniez V., Grimonster J., Honorez P., Guillaume J, Catalan A, Constenla A., (1989).** Corrosion d'une résine acrylique à usage dentaire par un peroxyde alcalin proposé pour son entretien. *Cah Prothèse*; 68 : 42-48 .

**Burne R A., (1998).** Oral streptococci products of their environment. *J Dent Res*; 77(3): 445-52.

**C**

**Carranza F A., Newman F.G., (1996).**Clinical periodontology. (8th ed.) *Philadelphia : WB Saunders* ; 48, 933-946.

**Characklis W G., Marshall K.C., (1990).** Biofilms John Wiley& Sons, Inc. *New York, N.Y* ; 52, 917-924.

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

**Costerton J W., Lewandowski Z., Caldwell D E., Korber D R., Lappin-Scott H M.,(1995).** Microbial biofilms. *Annu. Rev. Microbiol*; 49, 711-745.

**Costerton J W., Stewart P S., Greenberg E P., (1999).** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* ; 284, 1318-1322.

**Christensen G D., Simpson W A., Younger J A.,(1985).** Adherence of coagulase negative staphylococci to plastic tissue cultures: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J clin Microbiol*; 22; 996-1006.

### D

**Davey M E., O'Toole G A.,(2000).**Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*; 64, 847-867.

**Donlan R M., (2001).** Biofilms and device-associated infections. *Emerg Infect Dis*; 7(2): 277-81.

**Donlan R M., J W. Costerton., (2002)** .Biofilms: survival mechanisms of clinically Relevant microorganismes. *Clin. Microbiol. Rev* ; 15: 167-193.

**Dzink J L ., Tanner A C., Haffajee A D., (1985).** Gram negative species associated with active destructive periodontal lesions. *J Clin Periodontol* ;12: 648-59.

### E

**Etienne O., (2004).** Développement d'interface à propriétés antimicrobienne par la fonctionnalisation de multicouches de poly électrolytes. *Journal Dental Recherche*; 20:196-197.

### F

**Fletcher E L., Weissman B A., Efron N., Fleiszig S M., Curcio A J., Brennan.N A., (1993).**The role of pili in the attachment of *Pseudomonas aeruginosa* to unworn hydrogel contact lenses. *Curr. EyeRes*; 12, 1067-1071.

### G

**Gavin R., Merino S., Altarriba M., Canals R., ShawJ G., TomásJ M., (2003).**Lateral flagella are required for increased cell adherence, invasion and biofilm formation by *Aeromonasspp.* *FEMS Microbiol Lett*; 224, 77-83.

**Glass R T., Bullard J., Conrad R.,(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.

**Grimonster J., Brogniez J.,(1989).** Entretien des prothèses amovibles : revue non exhaustive des méthodes et produits proposés. *ActualOdonto-Stomatol*; 167 : 619-632.

### H

**Hamze M., Dabboussi F.,Izard D., (2004).** Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques: étude sur quatre ans (1998–2001) au nord du Liban. *Médecine et maladies infectieuses* ; 34(7), 321-324.

### I

**IshidaK T., Griffiths P R., (1990).** Adsorption of proteins and polysaccharide sataqueous solid interfaces by infrare dinternal reflections pectrometry. *Acs. Symp Ser*; 447, 208-224.

### J

**Jagger D C., Harrison A.,(1995).** Denture cleansing : The best approach. *Br Dent J* ;178 : 413-417.

**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.

**Joffin N J.,Leyral G ., (2001).** Microbiologie technique : Dictionnaire des techniques. *Centre régional de documentation pédagogiques d'Aquitaine* ; 48 :1062-1067.

### K

**Katsikogianni M., Missirlis Y F., Harris L., Douglas J., (2004).** Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *Eur Cell Mater*; 8, 37-57.

**Klausen M., Gjermansen M., Kreft J U., Tolker-Nielsen T., (2006).** Dynamics of development and dispersal in sessile microbial communities: examples from *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* model biofilm. *FEMS .Microbiol. Lett*; 261, 1-11

**Kuchma S L., Connolly J P., O'Toole. G A., (2005).** A three-component regulatory system regulates biofilm maturation and type III secretion in *Pseudomonas aeruginosa*. *J.Bacteriol.* 187, 1441-1454.

**Krasse B.,(1954).** The proportional distribution of *Streptococcus salivarius* and other streptococci in various parts of the mouth. *Odontol Rev* .5 : 203-11.

### L

**Lai c., Listgarten M A., Shirakawa M., (1987).** *Bacteroidesforsythus* in adult gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*;2: 152-7.

**Lappin-Scott H M., Costerton J W., (1995).** Microbial biofilms. *Cambridge University Press Cambridge England*;7: 272-276.

**Laza M., (2010).** Écosystème buccal et prothèse amovible complète, de la conception au suivi prothétique. *Thèse pour le diplôme de docteur en chirurgie dentaire* ; 153: 650-5.

**Leadbetter E R., Holt S C.,Socransky S S., (1979).***Capnocytophaga*: new genus of Gram negative gliding bacteria. I. General characteristics, taxonomic consideration and significance. *ArchMicrobiol* ;122: 9-16.

**Lebars P., Amouriq Y., Bodic F., Giumelli B., (2002).** Réactions tissulaires au port des appareils de prothèse dentaire amovible partielle ou totale. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*; 23:1-10 .

**Little B., Jacobus J.,(1984).** A comparison of two techniques for the isolation of adsorbed Dissolved organic material from seawater. *Org. Geochem*;5, 1-6.

**Lung ., Blood I., (2002).** Research on microbial biofilms . NIH, *National Heart*; 47, 172-174.

### M

**Marsh P D.,(2006).**Dental plaque as a biofilm and a microbial community - implications for health and disease. *BMC Oral Health*;6 1: S14.

**Majdi N., (2011).** Meiofauna in river epilithic biofilm: *Dynamics and trophic relationships (Doctoral dissertation).*

**Makrids H C, Macfarlane T W .,(1989).** Effect of commensal bacteria on the adherence of *candida albicans* to epithelial cells in vitro. *Microbios letters*; 21 :55-60.

**Mcbride J S., (2001).** Bacterial gliding motility: multiple mechanisms for cell movement over surfaces. *Annu Rev Microbiol*; 55, 49-75.

**Mjör I A., (1998).** Réactions secondaires aux matériaux prothétiques. In : Owall B, Kayser AF, Carlsson GEéd. Prothèse dentaire. Principes et stratégies thérapeutiques. *Paris Masson* ; 179-186.

### N

**Norskov N., Kilian M., (2006).** Reclassification of *Actinobacillus actinomycet emcomitans*, *Haemophilus aphroliphus*, *Haemophilus paraphroliphus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycet emcomitans* gen. Nov., comb. Nov., *Aggregatibacter aphroliphus* comb. Nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. Nov. And emended description of *Aggregatibacter aphrophilusto* include V factor-dependent and V factor-in dependent isolates. *Int J Syst Evol Microbiol* ;56: 2135-46.

### O

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

**Öhman S C.,Östeberg Y., Dahlén G.,Landahl S.,(1995).** The prevalence of *Staphylococcus* , *Enterobacteriaceae* species, and *Candida* species and their relation to oral mucosallesions in a group of 79-year-olds in Göteborg. *Acta Odontol Scand*,v.53 : 49-54.

### P

**Palmerrj J R., Diaz P I., Kolenbrander P E., (2006).** Rapid succession within the *Veillonella* population of a developing human oral biofilm in situ. *J Bacteriol*;188: 4117-24.

**Pratten J C., Ansrews D Q, Craig M., Wilson., (2000).** Structural studies of microcosm dental plaques grown under different nutritional conditions. *FEMS MicrobiolLett Aug* ;15 : 215-8.

**Parot S ., (2007).**biofilms électroactifs: formation, caractérisation et mécanismes biofilm. *made eazy* ; 236 :163-173.

**Perrin D., Pacaud G., Pone D.,(1977).**Contrôle du risque infectieux en odontologie. *Paris* ; 3: 39-45.

### R

**Rath A M., Zhang J., Amouroux J., (1996).** CHEVREL, J. P.. Les prothèses pariétales abdominales: Etude biomécanique et histologique. *Discussion.Chirurgie*; 121(4), 253-265.

**Roberts A., (2005)** .Bacteria in the mouth. *Dent Update* ;32: 134-6, 139-40, 142.

**Rudney J D., Chen R., (2006).** The vital status of human buccal epithelial cells and bacteria associated with them. *Arch Oral Biol* ;51: 291-8.

**Reid G., Int J., Antimic A g.,(1999).** Reid, G. (1999). Biofilms in infectious disease and on medical devices. *International journal of antimicrobial agents* ; 11(3), 223-226.

**Roux Agnès R et Ghigo J M.,(2006).** Les biofilms bactériens.congré international .

### S

**Sandra S., Alexandra L H ., Stefan H.,Guido H., (2008).** Aspects psychologiques et médicodentaires relatifs aux traitements prothétiques chez les enfants. *Rev Mens Suisse Odontostomatol* ; Vol. 118 11/2008.

**Sauer K., Camper A K., Eherlich G D., Costerton J W., Davies D G., (2002)** *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J. Bacteriol*; 184, 1140-1154.

**Sauer K., Cullen M C., Rickard A H., Zeef L A., Davies D G., Gilbert P., (2004).** Characterization of nutrient-induced dispersion in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm. *J Bacteriol*; 186, 7312-7326.

**Siepmann J., Siepmann F., (2008).** Mathematical modeling of drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*; 364(2), 328-343.

**Sixou A., Diouf D., Alvares F., (2007).** Biofilm buccal et pathologies buccodentaires. *Elsevier masons as*; 48,90-209.

**Spiers J., Bohannon S M., Gehrig P B., Rainey H., (2003).** Biofilm formation at the air liquid interface by the *Pseudomonas fluorescens* SBW25 wrinkly spreader requires an Acetylated form of cellulose. *Mol. Microbiol*; 50, 15-27.

**Stoodley A J., Sauer K., Davies D G., Costerton J W., (2002).** Biofilms as complex Differentiated communities *Annu. Rev Microbiol*; 56, 187-209.

**Stanley N R., Lazizzera B A., Britton R A., Grossman A D., (2003).** Identification of catabolite repression as a physiological regulator of biofilm formation by *Bacillus subtilis* by use of DNA microarray. *J Bacteriol*; 185, 1951-1957.

**Suci P A., Mittelman M W., Yu F P., Geesey G G., (1994).** Investigation of ciprofloxacin Penetration in to *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother*; 38, 2125-2133.

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

**Stepanović S., Vuković D., Dakić I., Savić B., (2000) . Švabić-Vlahović, M.** A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*;40(2), 175-179.

**Summanen P., Baron E J., Citron D., (1993).** Preliminary identification methods (levels I and II) *In: Wadsworth anaerobic bacteriology manual. 5th Ed Belmont. Star Publishing Company*;49-63.

**Slots J., Reynolds H S., Genco R J.,(1980)** *Actinobacillus actinomycet emcomitans* in human periodontal disease: a cross-sectional microbiological investigation. *Infect Immun*;29: 1013-20.

**Sumi Y., Nakajima K., Tamura T.,(2003)** .Developing an instrument to support oral care in the elderly. *Gerodontology*;20: 3-8.

**Sumi Y., Miura H., Michiwaki Y., Nagaosa S., (2007)** . Nagaya, M. Colonization of dental plaque by respiratory pathogens in dependent elderly. *Archives of gerontology and geriatrics. Gerodontology ; 44(2)*, 119-124.

### T

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

### U

**Uludamar A J.,(2010).** Effects of oral potassium on blood pressure: meta-analysis of randomized controlled clinical trials *Appl Oral*; 18(3):291-6

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

### V

**Venopoulsen L., (1999).** Microbial biofilm in food processing *LebensmWiss u-technol*;32:321-326.

**Van der Linden., F P., (2004).** Validité de l'orthopédie dento-faciale. *Revue d'Orthopédie Dento-Faciale ;38(2)*, 141-159.

### W

**Welker D., Gebhardt M., (1996).** Haut und Schleimhautkontakt in konfrontation mit Prothes enkuns toffen. *Quintessenz Zahntechnik ; 22* : 493-502.

**Walli A I., ElvinW I., Mason S J., Clark C M., Tranter H S.,(1998)** .Comparative phenotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from line and non-line associated septicemia, CAPD peritonitis, bone/joint infections and healthy nasal carriers. *J Med.Microbiol*; 47 : 265-74.

**Wrobleweska M., Sawika A., Marchel H., (2008)**. Biofilm production by clinical strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from patients hospitalized in two tertiary care hospitals. *Immunol Med Microbiol*;53:140 – 144.

# *Annexes*

## 2) Matériel

- ❖ Boîtes de Pétri
- ❖ Bain mari
- ❖ Embouts stériles
- ❖ Etuve
- ❖ Lecteur ELISA
- ❖ Micropipette
- ❖ Microplaques
- ❖ Microbrosses
- ❖ Pipettes Pasteur
- ❖ Plaque chauffante
- ❖ Tubes à essais
- ❖ Tubes à hémolyses
- ❖ Ultrason
- ❖ Vortex

## Annexe B : Tableaux

Tableau 1. Tableau de questionnaire adressé aux enfants ( clinique dentaire CHU tlemcen)

Prélevemen	Date	Sexe/âge	Type prothèse	Etat santé	Durée de port	Enlevé ou non	Moyen de nettoyage	Combien de fois/jour
01	25/03/2014	Garçon 11ans	ODF	Bien	3 mois	Non	Dentifrice Enfant	3
02	25/03/2014	Fille 8 ans	ODF	Bien	8 mois	Non	Dentifrice Enfant	2
03	25/03/2014	Fille 8 ans	ODF	Bien	10 mois	Non	Dentifrice Enfant	2
04	26/03/2014	Fille 10 ans	ODF	Bien	4 mois	Non	Dentifrice Enfant	3
05	26/03/2014	Fille 8 ans	ODF	Bien	4 mois	Non	Dentifrice Enfant	3
06	26/03/2014	Fille 12 ans	ODF	Bien	6 mois	Non	Dentifrice normal	Brossage Rare
07	01/04/2014	Fille 8 ans	ODF	Bien	6 mois	Non	Dentifrice Enfant	2
08	01/04/2014	Fille 7 ans	ODF	Bien	9 mois	Non	Dentifrice normal	4
09	01/04/2014	Fille 7 ans	ODF	Bien	6 mois	Non	Dentifrice Enfant	4
10	01/04/2014	Fille 11 ans	ODF	Bien	3 mois	Non	Dentifrice Enfant	4
11	02/04/2014	Fille 9 ans	ODF	Bien	5 mois	Non	Dentifrice Enfant	3
12	02/04/2014	Fille 9 ans	ODF	Bien	2 mois	Non	Dentifrice Enfant	3
13	02/04/2014	Garçon 9 ans	ODF	Bien	5 mois	Non	Dentifrice Enfant	3
14	02/04/2014	Garçon 9 ans	ODF	Bien	3 mois	Non	Dentifrice Enfant	3
15	02/04/2014	Fille 10 ans	ODF	Bien	7 mois	Non	Dentifrice Enfant	3

## 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 (*Aeromonashydrofila*, *Pasteurellapneumotropica*, *Vibriofluviatus*, *Acinetobacterbaumani*, *E. coli* 1, *Klebsiellapneumoniaesppozaenae*) 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 (*Aeromonashydrofila*, *Pasteurellapneumotropica*, *fluviatus Vibrio*, *Acinetobacterbaumani*, 1 *E. coli*, *Klebsiellapneumoniae* 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 إدراج أطعم الأسنان يؤثر على فيسيولوجية الفم ويخلق نظام إيكولوجي جديد. هذا التغيير في مجموعة البكتيريا المرتبطة مع ارتداء أطعم الأسنان هو أصل تشكيل الأغشية الحيوية على سطح هذه المعدات، وتم الحصول على ما مجموعه 30 سلالات من أطعم الأسنان: 16 سلالات سالبة الغرام (*Aeromonashydrofila*, *Pasteurellapneumotropica*, *fluviatus Vibrio*, ) و 14 سلالات إيجابية الغرام (*Acinetobacterbaumani*, 1 *E. coli*, *Klebsiellapneumoniae* spp.) فيما يتعلق بقدرة هذه السلالات على تشكيل الأغشية الحيوية، أظهرت *Klebsiellapneumoniae* 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 أطعم الأسنان الاكربليكية. 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.

Tableau 2. Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api Staph

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats				
			Négatif	Positif			
0	Aucun	Témoin négatif	Rouge	-			
GLU	D-glucose	Témoin positif		Jaune			
FRU	D-fructose	Acidification à partir du carbohydate					
MNE	D-mannose						
MAL	Maltose						
LAC	Lactose						
TRE	D-tréhalose						
MAN	D-mannitol						
XLT	Xylitol						
MEL	D-melibiose						
NIT	Nitrate de potassium				Réduction des nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 10 mn	
						Incolore/rose	Rouge
PAL	$\beta$ -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 carbohydate	Rouge	Jaune			
XYL	Xylose						
SAC	Saccharose						
MDG	$\alpha$ -méthyl-D- glucosamine						
NAG	N-acétyl-glucosamine						
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rouge			
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/violet			

## Annexe A : Matériel utilisé

### 1) Produits

●Eau distillée

●Eau physiologique

●Réactifs

↳VogesProskauer I

↳VogesProskauer II

↳Réactif de Kovacs

↳Réactif TDA

↳Nitrate réductase I

↳Nitrate réductase II

↳ZYM A

↳ZYM B

### ●Milieux de culture

#### Milieux de culture solides

-Gélose Chapman : 11,0 g/L peptones, 1,0 extrait de viande, 75 g /L Chlorure de sodium, 10,0 g /L Mannitol, 0,025 g/L Rouge de phénol, 15 g/L Agar, 1000 mL Eau distillée (qsp).

-Gélose Mac Conkey : 17g/L Peptone de caséine, 3g/L Peptone de viande, 1,5g/L Sels biliaires, 0,001g/L Cristal violet, 10g/L Lactose, 0,03g/L Rouge neutre, 5g/L NaCl, 13,5g/L Agar. pH final = 7,1 .

-Gélose nutritive : 1 g Extrait de viande, 2 g Extrait de levure, 5 g Peptone tryptique, 5 g NaCl (ou KCl), 15 à 20 g Agar-agar, 1 L Eau, pH 7.4.

#### Milieux de culture liquides

-Bouillon Cœur-Cerveille : protéose-peptone 10,0 g, infusion de cervelle de veau 12,5 g, infusion de cœur de bœuf 5,0 g, glucose 2,0 g, chlorure de sodium 5,0 g, hydrogénophosphate de sodium 2,5 g, pH = 7,4

-Bouillon nutritif : 5 ,0 g/L, peptone, 3,0g/L , extrait de bœuf , pH 6,8.

Tableau 3. Tableau de lecture de la galerie miniaturisée Api 20 E

Microtube	Substrat :	Caractère recherché :	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Beta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de Phénol	Lecture directe		
ICIT	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S		Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		<b>Lecture indirecte</b> Ajouter une goutte de réactif chlorure de fer III		
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		<b>Lecture indirecte</b> Ajouter une goutte de réactif Kovacs	 	 
VP	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		<b>Lecture indirecte</b> Ajouter 1 goutte de VP1 et VP2 Attendre 10 minutes		 
GEL	Gélatine	gélatinase		Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO <sub>2</sub> /N <sub>2</sub>	Nitrates (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	Nitrate réductase		<b>Lecture indirecte</b> Ajouter 1 goutte de NIT1 et NIT2 et zinc éventuellement		