

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA- BEJAIA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE



Ref : .....

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
**EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER**

**Domaine : SNV      Filière : Sciences Biologiques**

**Option : Microbiologie Fondamentale**

**Présenté par :**

*M<sup>elle</sup>* **KHELFAOUI Lynda & M<sup>elle</sup> HAMITOCHE Nesrine**

*Thème*

**Recherche d'une colonisation de la salive et de la cavité buccale par des bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes et aux C3G chez les patients hospitalisés.**

**Soutenu le : 27/06/2023**

**Devant le jury composé de :**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>		
Mme. Tafoukt R.	MCB	Univ. A.MIRA de Bejaia	Président
M <sup>elle</sup> Mairi A.	MCB	Univ. A.MIRA de Bejaia	Examineur
M <sup>me</sup> Zenati_Belhadi K.	MCA	Univ. A.MIRA de Bejaia	Encadreur

**Année Universitaire : 2022/2023**

## **Remerciements**

*Nous tenons à remercier tout d'abord notre Dieu **Allah**, le tout puissant de nous avoir donné la bonne santé, la patience, la force et la volonté pendant toutes ces années d'étude et pour réaliser ce travail.*

*A notre chère enseignante et promotrice du mémoire,*

*Mme ZENATI epse Belhadi K*

*Nous sommes très heureuses et très honorées de vous avoir eu comme encadrante de ce travail.*

*Nous avons le grand plaisir de travailler sous votre direction, et avons trouvé auprès de vous le conseiller et le meilleur guide qui nous a reçu en toutes circonstances avec patience, gentillesse, sympathie, sourire et bienveillance durant toute la période du travail.*

*Vous êtes notre meilleur exemple, vous nous avez appris à travailler avec abnégation, conscience et surtout de tout cœur.*

*Veuillez cher docteur, trouver dans ce modeste travail l'expression de notre haute considération et de notre profond respect.*

*Nous souhaitons également remercier l'ensemble des membres de jury d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce mémoire.*

*À Mme Tafoukt R, vous nous avez accordé un immense honneur et un grand privilège en acceptant de présider le jury de notre mémoire. Veuillez, Cher enseignant, trouver dans ce modeste travail le témoignage de notre haute considération, de notre profonde reconnaissance et de notre sincère respect.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à M<sup>elle</sup> MAIRI A, pour avoir accepté d'examiner ce travail, vous nous avez fait l'honneur de faire partie de notre jury. Nous avons pu apprécier*

*Nous remercions également très spécialement la technicienne du laboratoire de microbiologie 2 Mme REHMANI, pour son accueil et sa contribution dans ce travail, nous sommes très reconnaissantes du temps précieux que vous avez consacré pour nous.*

*Nous tenons à exprimer nos chaleureux remerciements à tous nos enseignants, qui nous ont accompagné tout le long de notre cursus universitaire.*

*Ces remerciements vont également son particulier au corps professoral et administratif de la faculté SNV de l'université de Bejaia **Abderrahmane Mira** pour tous les efforts fournis pour assurer aux étudiants une formation actualisée.*

*Nos remerciements et gratitudes vont aussi à toute personne qui a contribué et aidé de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.*

***Merci,***

*Encore et encore ❤️*

## **Dédicaces**

*Spéciale dédicace à la personne la plus chère à mon cœur : **Ma mère,***

*La plus douce, tendre, aimable, forte et honorable maman : Tu représentes pour moi la raison de vivre de continuer, la raison d'être plus forte en franchissons les obstacles de la vie,*

*Quoi que je fasse ou que je dis, je ne saurai pas te remercier comme il se doit, ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Ton amour et tes prières ont conquis nos cœurs, tu es mon modèle à suivre, je t'aime. Je dédie ce travail également :*

**A mon cher Papa décédé,**

*Qui a semé en moi le respect et l'amour de la science et du savoir, celui qui a toujours cru en moi, grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité, tu es le meilleur Papa qui a toujours fait de son mieux pour nous.*

*Le destin ne nous a pas laissé la chance de vivre ce bonheur ensemble et de t'exprimer ma fierté et mon respect. J'espère que, là où tu es maintenant, tu me vois et que t'es fière de ta fille adorée. Que dieu, le tout puissant, t'accorde sa clémence, sa miséricorde et t'accueille dans sans saint paradis.*

**A mes très chers frères, Nabil, Lyes, Ghiles et Idir,**

*Qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Quoi que je dis je ne saurai pas vous remercier comme il le faut, vous qui m'avez tous offert, le possible et l'impossible, pour que je puisse arriver là où je suis aujourd'hui,*

*Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployés pour mon éducation et ma formation. Vous êtes les plus chers à mon cœur.*

**A ma chère sœur, son mari et ça petite famille,**

*Un signe d'amour et de gratitude pour leur soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études et les sacrifices dont ils ont fait preuve à mon égard. Que Dieu les protège et leurs offres la chance, la réussite et le bonheur.*

**A ma très chère et aimable grand-mère,**

*Mes sincères remerciements à la plus douce grand-mère pour son soutien, ces conseils précieux et ces prières, que Dieu vous accorde une longue vie.*

**A mon unique belle-sœur Véronique,**

*Merci pour tous les moments de soutien, d'encouragements et tous tes conseils, nous avons été bénis par ta présence dans la famille.*

*A ma chère tante Noura,*

*Qui a toujours été pour moi, depuis mon enfance, un exemple de réussite, d'intelligence et de force, je n'oublierai jamais tout ce que tu as fait pour moi, avec affection, estime et respect je te souhaite santé, bonheur et prospérité.*

*A mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines et tous mes proches,*

*Merci pour l'amour, le soutien et l'aide qu'ils m'ont apporté.*

*A ma binôme Nesrine,*

*Qui m'a accompagné, aider, et surtout qui m'a supporté durant la réalisation de ce travail, merci pour tous les bons moments et les meilleurs souvenirs.*

*A mes très chers amis,*

*Ilidina, Djamila, Lamine, Oussama et Sarah,*

*Avec qui j'ai passé les meilleurs moments et les plus beaux souvenirs de toutes ces années, vous étiez les amis sur qui je peux compter, je ne trouve pas les mots sincères pour exprimer ma gratitude, mon appréciation et mon amour pour vous.*

*A toutes mes copines,*

*Belynda, Chahinez, Safia, Faiza, Sarah et Houda,*

*En témoignage de la plus belle amitié qui nous a uni et de ces bons moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*A toute la promotion de MF*

*A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer*

**Lynda**

## *Dédicaces*

*Avant tout je remercie notre Dieu Allah de m'avoir donné le courage, la chance d'étudier, la force et la patience de terminer ce travail. Je tiens avec grand plaisir que je dédie*

*à :*

*La personne qui a été toujours là pour moi, qui a souffrit sans me laisse souffrir à mon très chère papa **Khaled** grâce à toi j'ai appris le sens de travail et la responsabilité. Tout le respect et l'amour pour toi tes le meilleur papa de monde.*

*Ma douce, adorable et élégante maman **Katia** qui m'a toujours poussée et motivé dans mes études, elle ma donner le courage et la force pour dépasser tous les obstacles dans ma vie.*

*Mes grands-parents qui mont donner le soutiens morale et financier et qui m'ont toujours encouragé pour faire mieux.*

*Ma très chère binôme Lynda pour son soutien moral et sa compréhension tout au long de ce projet*

*Mes sœurs **Djamila, Leticia** et mon cousin **Mahdi** pour leurs confiances, encouragement et tous les sacrifices dont vous avez fait pour moi*

*Et finalement mes amies **Imane, Selma, Yamina, Lamine, Ferhat et Amine** je vous remercie pour tous les bons moments qu'on a passé ensemble.*

*Nesrine*

## Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>

### Partie bibliographique

I- Définition et anatomie de la cavité buccale .....	4
I-1- Les dents : .....	4
I-2- La langue : .....	5
I-3- Salive et glandes salivaires : .....	5
II- La flore bactérienne de la cavité buccale .....	6
II-1- La flore commensale .....	7
II-2- La flore non commensale a Gram négatif .....	7
III- Origines de contamination par les bactéries non commensales à Gram négatif .....	8
III-1- Consommation de nourritures contaminées .....	8
III-2- Microbiote intestinale .....	8
IV- Facteurs influençant l'installation des non commensaux a Gram négatif dans la cavité buccale .....	8
IV-1- Facteurs liés à l'hospitalisation et à la résistance aux antibiotiques.....	8
IV-2- Facteurs liées à l'utilisation de prothèses et implants : .....	9
IV-3- Facteurs liées à l'hygiène bucco-dentaires .....	10
V- Interactions entre la flore commensale et la flore non commensale dans la cavité buccale .....	10
V-1- Le biofilm buccal.....	10
V-2- Interactions antagonistes : .....	11
V-3- Transfert de gènes de résistance : .....	11
VI- Comment éviter l'installation des bacilles a Gram négatif dans la cavité buccale.....	12

### Matériel et Méthodes

I- Cadre et objectifs d'étude .....	14
II- Techniques de prélèvement .....	14
II-1- Prélèvements de la salive : .....	14
II-2- Prélèvements de la cavité buccale : .....	14
III- Criblage de bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes .....	14
III-1- Sélection de souches résistantes à l'ertapénème sur milieu CarbaMTL-Broth.....	14

---

III-2- Isolement et purification des souches .....	15
IV- Identification des souches a Gram négatif .....	15
V- Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques .....	15
VI- Caractérisation des phénotypes de résistance aux B-lactamines .....	17
VI-1- Recherche de la production de $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE).....	17
VI-2- Recherche de la production de Carbapénèmases par le test CIM modifié (Carbapeneme Inactivation Method).....	17
VII- Etude de la formation du biofilm sur gélose au rouge Congo.....	18

### **Résultats**

I- Répartition des prélèvements .....	20
II- Criblage de bacilles à Gram négatifs résistants aux carbapénèmes.....	21
III- Identification des souches a Gram négatif .....	22
IV- Etude de la sensibilité des souches de bacilles à Gram négatif aux carbapénèmes.....	22
V- Etude de la sensibilité des souches résistantes aux autres antibiotiques .....	23
VI- Répartition des souches productrices de carbapénèmases selon l'origines du prélèvement et les caractéristiques des patients .....	23
VII- Détermination des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines.....	25
VII-1- Recherche de production d'une carbapénèmase par test CIM.....	25
VII-2- Recherche de la production d'une BLSE par le test de synergie .....	25
VIII- Recherche de la production de biofilm sur gélose au rouge Congo.....	26
<b>Discussion.....</b>	<b>29</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>33</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>36</b>

### **Annexes**



## Liste des abréviations

**ATB** : Antibiotique

**AMC**: Amoxicilline-Clavulanate

**ATM** : Aztréonam

**BGN** : Bacille à Gram Négatif

**BLSE** :  $\beta$ -Lactamases à Spectre Etendu

**CAZ** : Céfotaxime

**CIM**: Carbapenemes Inactivation Method

**CT** : Colistine

**CTX**: Céfotaxime

**C3G**: Céphalosporines de 3<sup>ème</sup> generation

**EUCAST**: European Comity on Antibiotic Susceptibility Testing

**MDR**: Multi-Drug Resistance

**MTL**: Mairi-Touati-Lavigne

**CRA** : Congo Red Agar

**ESLD** : Etablissement de soins de longue durée

**HOMD** : Human oral microbiome database

**ARG** : Antibiotic Resistance Genes

**CRE** : Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Anatomie de la cavité buccale_____	4
<b>Figure 02</b> : Anatomie d'une dent_____	5
<b>Figure 03</b> : Anatomie des glandes salivaires_____	6
<b>Figure 04</b> : Classification de la flore normale orale_____	7
<b>Figure 05</b> : Les taux de prescription des différents antibiotiques par les dentistes_____	9
<b>Figure 06</b> : Formation d'un biofilm a la surface d'une dent_____	11
<b>Figure 07</b> : Schéma du test CIM_____	18
<b>Figure 08</b> : Résultats du bouillon MTL (positif + et négatif -)_____	21
<b>Figure 09</b> : Aspect des souches de <i>P.aeruginosa</i> sur milieu cétrimide et des entérobactéries sur milieu Chromagar orientation_____	22
<b>Figure 10</b> : La résistance des souches aux autres antibiotiques_____	23
<b>Figure 11</b> : Test de synergie positif_____	25
<b>Figure 12</b> : Aspect de présence d'une céphalosporinase chez <i>Enterobacter spp</i> ( <b>P2B</b> )_____	26
<b>Figure 13</b> : Résultat du rouge Congo montrant un résultat positif et un résultat négatif_____	27

## Liste des tableaux

**Tableau I :** Les antibiotiques testés pour les souches d'entérobactéries et leur diamètres critiques.

**Tableau II :** Les antibiotiques testés pour les souches de *P. aeruginosa* et leur diamètres critiques.

**Tableau III :** Répartition des échantillons par prélèvement.

**Tableau IV :** Répartition des souches résistantes par prélèvement et caractéristique des patients.

**Tableau V :** Les diamètres des zones d'inhibitions des souches CIM positif.

**Tableau VI :** Résultats de l'évaluation de production de biofilm sur gélose au Rouge Congo.

# *Introduction*

La bouche humaine est naturellement colonisée par un microbiote diversifié, composé d'environ 700 espèces de bactéries, ainsi que de champignons, d'archées, de virus et de protozoaires, qui présente des relations de commensalisme, de symbiose et de pathogénicité avec l'hôte **(Cruz et al., 2022)**.

Le microbiote buccal représente une part importante du microbiote humain, c'est une partie normale de la cavité buccale et a une fonction importante de protection contre la colonisation de bactéries extrinsèques qui pourraient affecter la santé systémique **(Arweiler et al., 2016)**.

La présence et la prolifération de bactéries non buccales dans la cavité buccale ont été associées à plusieurs maladies bucco-dentaires telles que les caries, la parodontite et la gingivite, cependant, les antibiotiques sont largement utilisés pour des raisons thérapeutiques et prophylactiques. Le manque d'identification correcte des bactéries non buccales, augmente l'utilisation d'antibiotiques à large spectre. En raison de cette surutilisation des antibiotiques, les bactéries présentes dans la cavité buccale présentent une résistance aux agents antimicrobiens couramment disponibles avec une option thérapeutique limitée. Au sein de la niche buccale, la propagation de bactéries orales/non orales résistantes et la pression de sélection antimicrobienne dans la cavité buccale ont été les principaux moteurs de la résistance aux antibiotiques **(Peter et al., 2022)**.

Plusieurs facteurs modifient à la fois l'homéostasie et la composition du microbiote buccal, tel que les interactions avec des microorganismes, les traitements, diminution du flux salivaire, etc. Ces conditions sont associées à l'apparition d'une colonisation précoce de la cavité buccale par des micro-organismes Gram-négatifs et des souches résistantes à de multiples antibiotiques. Lorsque l'hygiène buccodentaire n'est pas prise en charge, par exemple l'hospitalisations ou le patient est alité ou incontinent, la santé buccodentaire se détériore en raison de l'accumulation d'un biofilm buccale qui se dépose sur les dents et les prothèses dentaires. **(Cruz et al., 2022)**.

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces du 21<sup>ème</sup> siècle pesant sur la santé mondiale **(Zhang et al., 2019)**. La résistance aux antibiotiques est actuellement illustrée par l'augmentation rapide de la résistance aux céphalosporines et aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif en particulier celle des entérobactéries, ce qui limite encore les options de traitement des infections causées par ces bactéries **(Touati et al., 2020)**. *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et les entérobactéries résistants

aux b-lactamines, notamment aux carbapénèmes, ont été classés en première ligne des agents pathogènes pour lesquels la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques est une priorité (OMS, 2017 ; Cruz et al., 2022).

La bouche a une relation directe avec les voies respiratoires et digestives et rassemble toutes les conditions idéales de température, d'humidité et de nutrition est de ce fait il peut y avoir une propagation de microorganismes entre ces différentes voies, en particulier chez les personnes ayant une mauvaise hygiène buccale, intubées et systémiquement affaibli (Cruz et al., 2022).

En raison du manque d'études sur ce thème, et de l'importance d'évaluer la présence et la propagation des souches résistantes aux antibiotiques dans la cavité buccale des patients hospitalisés, cette présente étude visait à approfondir les connaissances sur la colonisation de la cavité buccale et de la salive des patients hospitalisés par des bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes et aux C3G à travers la :

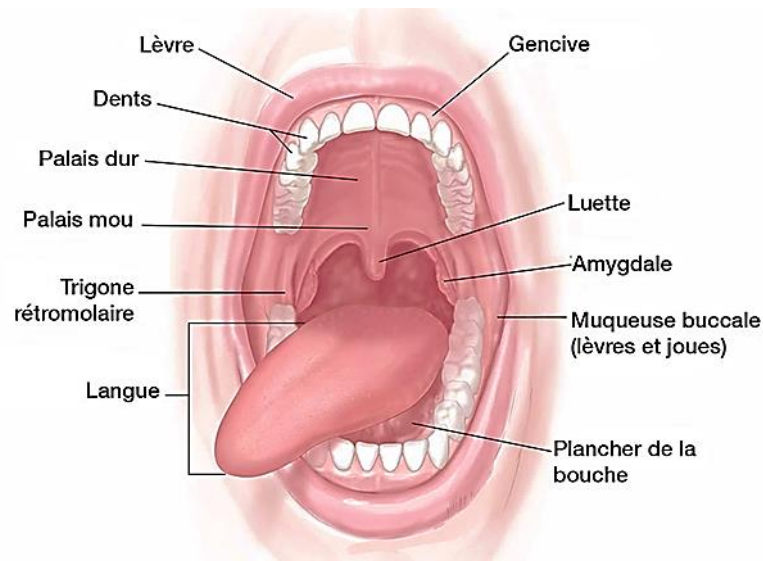
- ✓ Recherche et l'identification des bacilles à Gram négatif résistants au carbapénèmes et aux C3G.
- ✓ Déterminer la sensibilité des souches aux antibiotiques ainsi que les phénotypes de résistances probables.
- ✓ Etudier la capacité des souches résistantes à former le biofilm.

# *Synthèse bibliographique*

## I- Définition et anatomie de la cavité buccale

La cavité buccale, ou plus communément appelée la bouche, constitue la première partie du système digestif. Elle se compose de plusieurs aspects anatomiquement différents qui fonctionnent ensemble de manière efficace et efficiente pour remplir plusieurs fonctions.

La cavité buccale est une structure unique et complexe qui joue non seulement un rôle vital dans l'apport initial et la digestion des aliments et de l'eau, mais elle est également essentielle à la formation de la parole et à la respiration normale (**Kamrani et al., 2022**).



**Figure 01** : Anatomie de la cavité buccale (**National Cancer Institute dictionaries**).

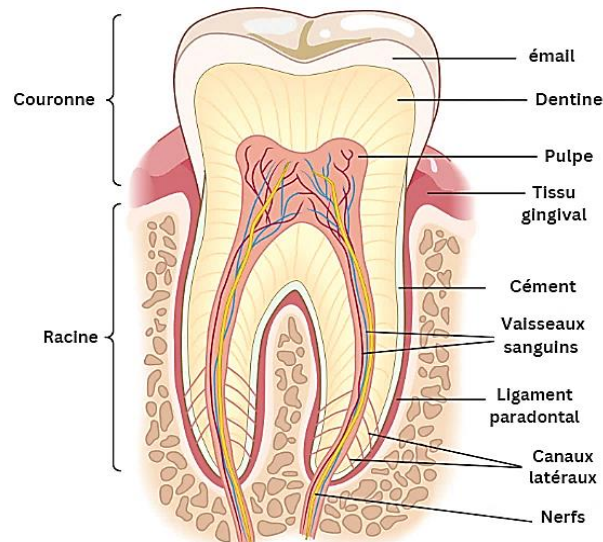
### I-1- Les dents

La cavité buccale d'un adulte compte généralement 32 dents, classées en incisives centrales et latérales, canines, prémolaires et molaires. Les dents permanentes peuvent être classées selon différents systèmes, mais la méthode la plus courante est le système de numérotation universel.

Chaque dent est divisée en deux parties, la couronne et les racines (**Figure 02**). La partie extérieure de la couronne est recouverte d'émail, la substance la plus dure du corps (**Madani et al., 2014**).

Les dents, qui sont les principales structures de la cavité buccale, déchirent et écrasent les aliments ingérés en morceaux suffisamment petits pour être digérés (**Kamrani et al., 2022**).





**Figure 02 : Anatomie d'une dent (Encyclopedia Britannica, 2022).**

### **I-2- La langue**

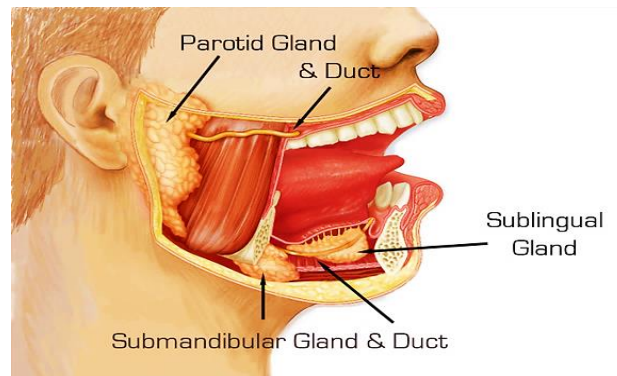
La langue occupe la majeure partie de la cavité buccale et de l'oropharynx, elle a plusieurs fonctions importantes, notamment la déglutition, la mastication, la parole et le goût. Sa surface est recouverte de diverses projections de lamina propria recouvertes d'épithélium, appelées papilles linguales, qui servent de papilles gustatives qui fournissent la perception du goût. Il existe quatre types de papilles ; les papilles circonvallées, les papilles foliées, les papilles filiformes et les papilles fongiformes (Madani et al., 2014; Kamrani et al., 2022).

### **I-3- Salive et glandes salivaires**

Les glandes salivaires sont des glandes exocrines qui produisent, modifient et sécrètent la salive dans la cavité buccale. Elles sont divisées en deux types principaux : les glandes salivaires majeures, qui comprennent les glandes parotides, sous-mandibulaires et sublinguales, et les glandes salivaires mineures, qui tapissent la muqueuse des voies aérodigestives supérieures et la grande majorité de la bouche.

La salive est un liquide aqueux complexe, et l'un des fluides corporels les plus importants qui permet de maintenir la santé bucco-dentaire et générale. Elle joue un rôle important dans la lubrification de la muqueuse buccale, la défense microbienne, le transport des aliments de la cavité buccale vers l'œsophage et l'estomac, action tampon et équilibre hydrique (Sarkar et al., 2019). La salive facilite également la mastication, la déglutition et la parole, et fournit un milieu aqueux pour la perception du goût (Ghannam et Singh, 2022).

Le microbiote salivaire est très similaire à celui des muqueuses buccales, de la gorge et des amygdales et comprend des bactéries adhérentes aux cellules épithéliales excrétées à partir de ces surfaces muqueuses. La salive contient également des microorganismes provenant des niches supra et sous-gingivales. Les principaux embranchements bactériens de la salive sont Actinobactéries, Bacteroidetes, Firmicutes, Fusobactéries et Protéobactéries (Acharya et al., 2017).

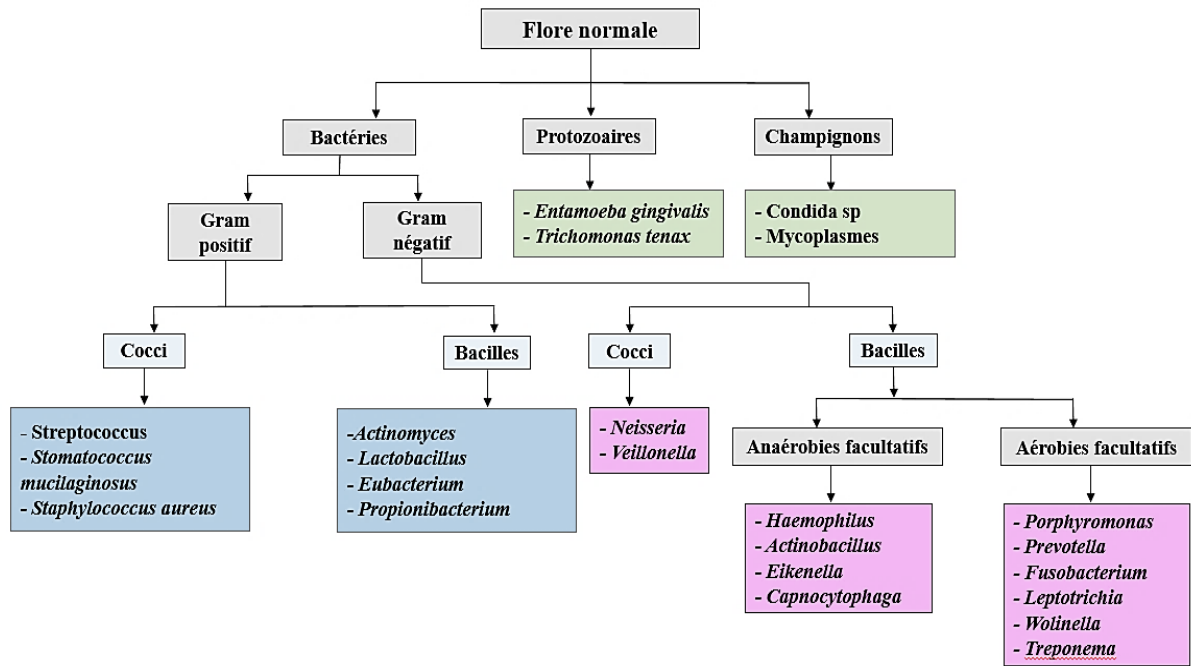


**Figure 03 :** Anatomie des glandes salivaires (Center for Advanced Parotid & Facial Nerve Surgery, 2023).

## **II- La flore bactérienne de la cavité buccale**

La cavité buccale humaine contient un écosystème microbien densément peuplé, appelé microbiote oral. Il comprend des commensaux, des symbiotes inoffensifs et des agents pathogènes opportunistes (Almeida et al., 2020). Cette microflore riche et diversifiée comprend des bactéries, des virus, des champignons et des protozoaires (Scannapieco et Frank, 2013).

Il existe 774 espèces de bactéries buccales dont 58% sont officiellement nommés, 16% sans nom mais cultivés et 26% ne sont connus que comme "phylotypes non cultivés" (HOMD 2022).



**Figure 04 :** Classification de la flore normale oral (Patil et al., 2013).

## II-1- La flore commensale

Le corps humain est colonisé par un large éventail de micro-organismes qui sont collectivement appelés le microbiome commensal. Il aboutit à une condition mutuellement bénéfique dans laquelle l'hôte peut bénéficier des régulations physiologiques, métaboliques et immunologiques fournies par le microbiote, tandis que le microbiote commensal dépend absolument de l'hôte (Li et al., 2019). Le microbiote buccal est l'une des parties importantes du microbiome humain, et il se réfère spécifiquement aux micro-organismes résidant dans la cavité buccale (Zhang et al., 2018).

La composition du microbiote commensal oral chez les personnes en bonne santé est généralement stable. *Streptococcus spp.*, *Neisseria spp.*, *Veillonella spp.*, *Actinomyces spp.*, sont les genres dominants (Almeida al., 2020).

## II-2- La flore non commensale a Gram négatif

Les bactéries non buccales (non commensales) sont des bactéries pathogènes transitoires ou non résidentes qui ne sont généralement pas considérées comme faisant partie intégrante du microbiote buccal. Cependant, l'invasion et la colonisation de la cavité buccale par des bactéries non buccales telles que les staphylocoques, les entérocoques et les bâtonnets entériques à Gram négatif (GNR) est possible, dépeignent un déséquilibre de la flore buccale dans la cavité buccale (Peter et al., 2022).

### **III- Origines de contamination par les bactéries non commensales à Gram négatif**

#### **III-1- Consommation de nourritures contaminées**

Les bactéries non buccales se trouvent couramment dans d'autres parties du corps humain (narines ou intestin). Elles peuvent accidentellement être introduites dans la bouche par les aliments, l'eau, le contact avec des objets à mâcher et à mastiquer, etc. (**Zaatout, 2021**).

La cavité buccale est constamment exposée à des matériaux externes au cours de sa fonction de prise d'air, de boisson et de nourriture, donc fréquemment exposée à divers micro-organismes (**Le et al., 2020**).

#### **III-2- Microbiote intestinale**

Les microorganismes entériques peuvent être transmis par voie fécale-orale, par contact direct ou par exposition indirecte via des éléments et aliments contaminés. Le profil du microbiote de la main se recoupe avec les profils du microbiote oral et intestinal, ce qui suggère que la main est un vecteur de transmission microbienne fécale-orale (**Park et al., 2021**).

Les mains contaminées jouent un rôle majeur dans la transmission fécale-orale des microorganismes et des maladies. Certaines études ont établi que les mains peuvent être porteuses de différents types d'organismes pathogènes. Le lavage des mains est censé réduire la transmission des infections en éliminant les micro-organismes potentiels ainsi que la saleté, qui pourrait également abriter des microorganismes et permettre leur survie pendant de plus longues périodes (**Shaffer et Lozupone, 2018**).

### **IV- Facteurs influençant l'installation des non commensaux a Gram négatif dans la cavité buccale**

#### **IV-1- Facteurs liés à l'hospitalisation et à la résistance aux antibiotiques**

L'environnement hospitalier peut avoir un effet sur l'hygiène bucco-dentaire des personnes hospitalisées, de nombreux patients ont des difficultés à pratiquer l'hygiène bucco-dentaire et doivent compter sur le personnel hospitalier. En ayant une bonne hygiène bucco-dentaire, un patient aura moins de bactéries dans la bouche (**Danckert et al., 2015**).

Une épidémie de *A. baumannii* résistant aux antibiotiques en raison de l'utilisation de l'eau du robinet contaminée des éviers d'hygiène pour les soins bucco-dentaires dans une unité de soins intensifs a été signalée au Japon par Umezawa et al (2015). De plus, les patients nourris avec des tubes PEG pourraient subir une réduction de l'activité de mastication et de la

sécrétion salivaire, favorisant ainsi la colonisation pathogène à l'intérieur de la cavité buccale (Le et al., 2020).

L'équilibre du microbiote oral appelé "homéostasie microbienne" peut être détruit par un certain nombre de facteurs, tel que les traitements et l'antibiothérapie, ces facteurs pourraient entraîner une prolifération de micro-organismes non oraux (dysbiose) et des infections opportunistes pourraient suivre (Arirachakaran et al., 2018).

La prescription inutile et excessive d'antibiotiques en médecine générale et en dentisterie en particulier peut entraîner plusieurs problèmes graves, tel que la résistance bactérienne et le détournement du microbiote normal bactérien. En outre, cela pourrait conduire à une résistance bactérienne orale qui est considérée comme une préoccupation croissante en dentisterie et en médecine (Ahmadi et al., 2021).

Le milieu hospitalier est un réservoir puissant et un vecteur de microorganismes résistants aux antibiotiques. Les agents pathogènes peuvent persister sur ses surfaces pendant des mois voire des années, acquérir de nouveaux gènes de résistance aux antibiotiques par transfert horizontal de gènes et initier des épidémies d'infections nosocomiales en se propageant aux patients via les travailleurs de la santé et les visiteurs (Blake et al., 2020).

Antibiotiques	Taux de prescription (%)
Amoxicilline	51.1
Amoxicillin + clavulanic acid	24
Clindamycine	6.6
Azithromycine	5.3
Clarithromycin	4.4
Doxycycline	3.6
Spiramycin	2.2
Erythromycine	1.2
Ciprofloxacin	0.2
Cefadroxil	0.1
Minocycline	0.1
Cefuroxime	0
Autres	1.1

**Figure 05 :** Les taux de prescription des différents antibiotiques par les dentistes (Ahmadi et al., 2021).

#### IV-2- Facteurs liées à l'utilisation de prothèses et implants

Les complications les plus courantes liées aux implants commencent à l'interface implant-os. La péri-implantite est une inflammation chronique à médiation immunitaire liée au biofilm affectant les sites d'implantation et se caractérise par la perte de l'os de support de l'implant. Semblable à la formation de biofilm sur les dents naturelles, la colonisation

bactérienne se produit quelques minutes après la procédure d'implantation et tout au long du cycle de vie d'un implant. Sans aucun doute, l'ostéointégration est une compétition entre les organismes infectieux qui cherchent à contaminer, coloniser et finalement former des biofilms sur la surface de l'implant contre les propres tissus endogènes du corps qui cherchent à se développer sur les implants via l'ostéogenèse (Kligman et al., 2021).

Derafshiet et Coll ont montré que les prothèses pouvaient agir comme réservoir de bactéries non commensales telles que *Enterobacter cloacae* (Ghapanchi et al., 2019).

#### **IV-3- Facteurs liées à l'hygiène bucco-dentaires**

La cavité buccale des personnes hospitalisées, en particulier ceux en soins résidentiels, peuvent servir de réservoir pour les pathogènes opportunistes. Une mauvaise hygiène buccale augmente la possibilité de la présence de micro-organismes pathogènes virulents dans la cavité buccale, un déséquilibre dans le microenvironnement buccal augmente la prolifération des micro-organismes pathogènes associés à la gingivite et a d'autres maladies bucco-dentaires (Khadka et al., 2021).

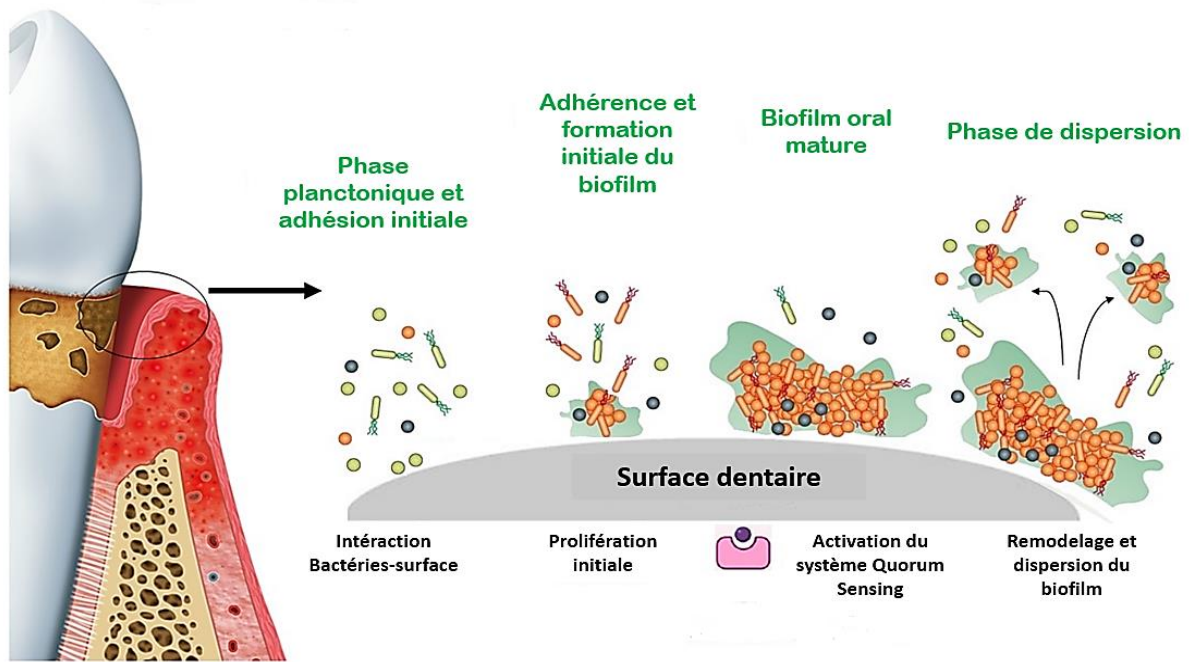
Une hygiène buccale fiable et complète est une stratégie de prévention couramment recommandé par Centers for Disease Control (CDC), Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology (APIC), Institute for Healthcare Improvement (IHI), et l'American Association of Critical Care Nurses (AACN) (Khezri et al., 2014).

### **V- Interactions entre la flore commensale et la flore non commensale dans la cavité buccale**

#### **V-1- Le biofilm buccal**

Un biofilm oral est un consortium polymicrobien de nombreuses espèces bactériennes, incorporées dans une matrice polymérique qui dérive soit de leurs propres produits métaboliques, soit de composants de l'hôte qui y sont piégés, comme les glycoprotéines salivaires. Selon la localisation du biofilm par rapport à la marge gingivale libre, un biofilm peut être supragingival ou sous-gingival.

- ✓ Le biofilm supragingival : Se développe à la surface de l'émail dentaire au-dessus de la marge gingivale.
- ✓ Le biofilm sous-gingival : Se développe sous la marge gingivale et dans la poche parodontale, qui est une caractéristique pathologique de la maladie parodontale (Thurnheer et Belibasakis, 2015).



**Figure 06 :** Formation d'un biofilm a la surface d'une dent (Polizzi et al., 2022).

### V-2- Interactions antagonistes

Dans un espace limité avec des ressources nutritionnelles limitées, les bactéries buccales ont développé une gamme de stratégies pour survivre et persister dans la cavité buccale. Par exemple, *S. mutans* peut abaisser le pH pour inhiber la croissance d'organismes commensaux bénéfiques et synthétise une variété de bactériocines qui peuvent inhiber la croissance de plusieurs espèces de bactéries couramment présentes dans la bouche humaine.

L'antagonisme entre les commensaux et les bactéries pathogènes est un facteur majeur qui affecte l'écologie buccale. Les bactéries orales qui peuvent interférer avec la croissance et la virulence des agents pathogènes jouent un rôle central dans la formation et la stabilité des communautés orales associées à la santé (Huang et al., 2018).

### V-3- Transfert de gènes de résistance

Les commensaux sont porteurs de nombreux types de gènes de résistance, de plus en plus de preuves indiquent que de grandes quantités de matériel génétique, y compris des gènes de résistance aux antibiotiques, se transfèrent facilement d'un organisme à l'autre entre les espèces microbiennes. Parmi les voies de transfert de gènes connues, la transformation et la conjugaison semblent relativement fréquentes parmi les cellules densément peuplées des biofilms, tels que ceux que l'on trouve dans le long des surfaces dentaires (Marshall et al., 2009).

## **VI- Comment éviter l'installation des bacilles a Gram négatif dans la cavité buccale**

Les travailleurs du domaine de la santé impliqués dans les soins bucco-dentaires doivent être conscients des BGN résistants et accorder une attention particulière à la prévention de la transmission et au contrôle des infections afin de diminuer la diffusion de ces microorganismes ou des éléments de résistance mobiles dans les ESLD (**Le et al., 2020**).

L'environnement hospitalier peut avoir un effet sur l'hygiène bucco-dentaire des personnes hospitalisées, cependant le milieu hospitalier doit encourager un bon nettoyage de la bouche, des dents et des gencives. En ayant une bonne hygiène bucco-dentaire, un patient aura moins de bactéries dans la bouche (**Danckert et al., 2015**).

Le brossage des dents accompagné d'un bain de bouche antimicrobien peut être très efficace, la chlorhexidine (CHX) est le plus efficace bain de bouche antimicrobien et a été approuvé par American Food and Drug Administration (**FDA**) et American Dental Association (**ADA**), est considéré comme l'or standard parmi les rince-bouche et est maintenant largement utilisé comme norme de soins pour les patients (**Khezri et al., 2014**).

En dentisterie, les informations précises sur les microorganismes buccaux, le caractère des infections buccales et la pharmacocinétique des antibiotiques réduit le risque de prescription incorrecte d'antibiotiques. Certaines méthodes alternatives existent pour le traitement des infections telles que la thérapie au laser de bas niveau et la thérapie photodynamique pour réduire l'utilisation d'antibiotiques (**Ahmadi et al., 2021**).



# *Matériel et Méthodes*

## **I- Cadre et objectifs d'étude**

L'objectif de notre étude est d'isoler et identifier des bactéries à Gram négatif non commensales dans la cavité buccale résistantes aux carbapénèmes et aux C3G chez les patients hospitalisés et étudier également le pouvoir de formation de biofilm par ces souches isolées.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Microbiologie 2 de l'université de A.MIRA de Bejaïa durant 45 jours (du mois de Mai au mois de Juin 2023). Les prélèvements ont été collectés à partir du service Médecine interne de l'EPH AKLOUL Ali d'Akbou chez des patients adultes hommes et femmes.

## **II- Techniques de prélèvement**

### **II-1- Prélèvements de la salive**

Les prélèvements ont été réalisés le matin. Prélever pour chaque patient des crachats de la salive dans un flacon stérile contenant 2ml du bouillon nutritif.

### **II-2- Prélèvements de la cavité buccale**

Un écouvillonnage de la cavité buccale (la surface des dents, la gencive, le corps de la langue, le palais osseux et le plancher de la bouche) a été effectué à l'aide d'un écouvillon stérile, puis remettre ces écouvillons dans des tubes à essai stériles contenant 3 ml du bouillon nutritif.

Chaque prélèvement a été accompagné d'une fiche de renseignement rempli sur place (**Annexe I**).

## **III- Criblage de bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes**

### **III-1- Sélection de souches résistantes à l'értapénème sur milieu CarbaMTL-Broth**

Le milieu CarbaMTL-broth (Mairi, Touati, Levigne) permet la sélection des bacilles à Gram négatif producteurs de carbapénémases et l'inhibition des souches productrices de céphalosporinases et des bactéries à Gram positif. Ce bouillon contient 0.5 µg/ml d'értapénème, 250 µg/ml de cloxacilline et 64µg/ml de vancomycine (**Mairi et al., 2019**).

A partir des bouillons d'enrichissement positifs, 50µl ont été prélevés et ajoutés à 1 ml du bouillon Carba MTL et incubés à 37°pendant 24h.

### III-2- Isolement et purification des souches

A partir des bouillons MTL positifs (**Annexe II**), on ensemence avec chaque un une boîte du milieu Mac Conkey ou milieu VRBL « Violet Rouge Bile Lactose » additionné de vancomycine (pour la réduction des contaminations par les Gram positif). Après incubation à 37° pendant 24h, la lecture des boites a été réalisée selon les caractères cultureux (forme, couleur et aspect) et chaque type de colonies (souche) a été repiqué successivement sur la même gélose jusqu'à obtention d'une culture pure.

### IV- Identification des souches a Gram négatif

Après isolement et purification des souches, l'identification bactérienne a été réalisée comme suit :

- ✓ Ensemencement de la gélose Chromagar TM orientation. Ce milieu est utilisé pour la mise en évidence d'activités enzymatiques par l'apparition d'une coloration spécifique. Après incubation à 37 °C pendant 24h, les groupes bactériens ont été reconnus en fonction de la différence de couleur.
- ✓ Recherche de la production de l'uréase, de la production d'indole et de la fermentation des sucres (TSI) ;
- ✓ Ensemencement de la gélose EMB pour l'observation de l'éclat vert métallique pour les souches de *E. coli* ;
- ✓ Croissance et visualisation de la pigmentation sur gélose cétrimide pour les souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

### V- Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

La sensibilité des souches vis-à-vis des différentes familles d'antibiotiques a été déterminée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations de l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (**EUCAST, 2023**) et du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**CA-SFM, 2013**).

A partir des cultures fraîches (24h) des souches à tester, des suspensions bactériennes ont été réalisées en dissociant 3 à 4 colonies dans 5ml d'eau physiologique pour obtenir un inoculum d'environ 10<sup>8</sup> UFC/ml (**EUCAST 2023**). Des boites du milieu Mueller Hinton ont été ensemencées avec les suspensions préparées par la méthode d'écouvillonnage, puis des disques d'antibiotiques de différentes familles (**Tableau IV**) ont été déposés à la surface des géloses à l'aide d'une pince stérile.

Les boîtes ont été ensuite incubées pendant 24H à 37°C. Au total, 10 antibiotiques appartenant à différentes familles ont été testés (**Tableau I et II**). Les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques ont été mesurés et l'interprétation en bactérie Sensible (**S**), Intermédiaire (**I**) ou Résistante **R** a été effectuée selon les critères définis par l'EUCAST (2023) et le comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2013).

**Tableau I** : Les antibiotiques testés pour les souches d'entérobactéries et leur diamètres critiques.

Antibiotiques	Abréviation	La charge en µg	La marque	Diamètres critiques selon (CA-SFM, 2013) et (ECAST, 2023)	
				S <sub>≥</sub>	<R
Amoxicilline + acide clavulanique	AMC	20/10	Bioanalyse	19	19
Céfotaxime	CTX	30	Bioanalyse	26	23
Céftazidime	CAZ	30	Bioscan	26	21
Céfoxitine	FOX	30	Bioanalyse	18	15
Aztréoname	AZT	30	HIMEDIA	26	21
Ertapénème	ETP	10	OXOID	≥28	<26
Temocilline	TEM	30	Bio-Rad	50	17

**Tableau II** : Les antibiotiques testés pour les souches de *P. aeruginosa* et leur diamètres critiques.

Antibiotiques	Abréviation	La charge en µg	La marque	Diamètres critiques selon (CA-SFM, 2013) et (ECAST, 2023)	
				S <sub>≥</sub>	<R
Céftazidime	CAZ	30	Bioscan	26	21
Imipénème	IMP	10	Liofilchem	50 <sub>≥</sub>	<20
Ticarcilline + acide clavulanique	TCC	10	Sirscan	50	18
Méropénème	MRP	10	Liofilchem	24	18

## VI- Caractérisation des phénotypes de résistance aux B-lactamines

### VI-1- Recherche de la production de $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE)

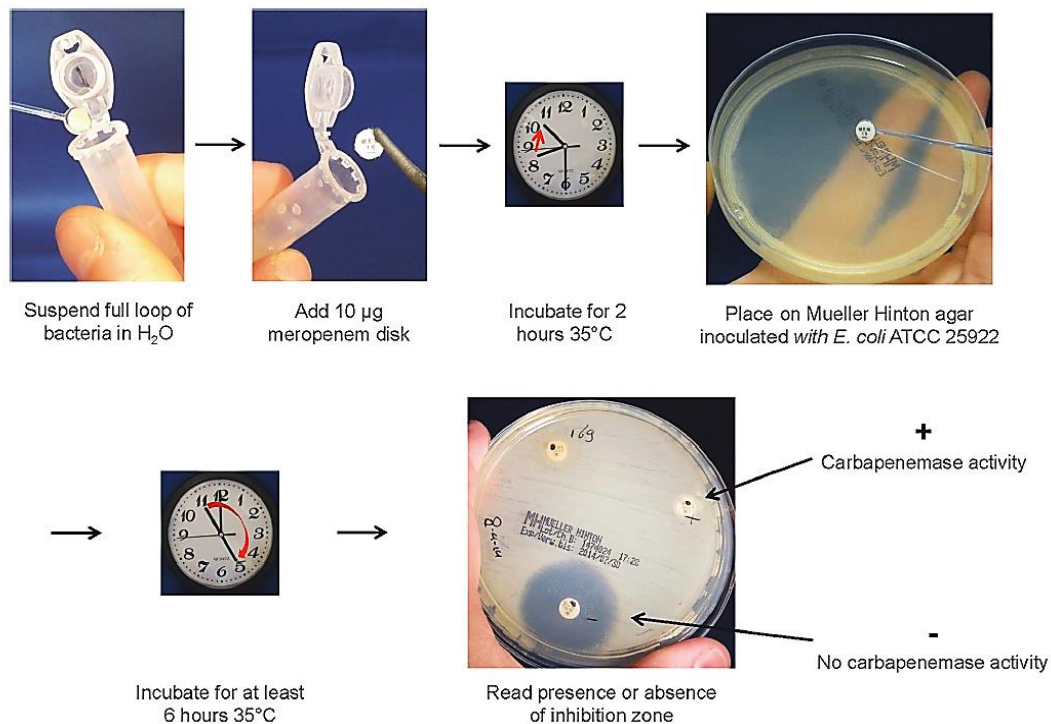
Le test de synergie a été le premier test spécifiquement conçu pour détecter la production de BLSE chez les entérobactéries (Iqbal *et al.*, 2017, Jarlier *et al.*, 1988). Le test est effectué sur gélose MH avec un disque de 30  $\mu$ g de céfotaxime (et/ou ceftazidime et/ou aztréonam) et un disque d'amoxicilline-acide clavulanique (contenant 10 $\mu$ g de clavulanate) positionné à une distance de 20mm (centre à centre). Le test est considéré comme positif lorsqu'une diminution de la sensibilité au céfotaxime est associée à une nette augmentation de la zone d'inhibition du céfotaxime devant le disque contenant le clavulanate, se traduisant souvent par une zone de forme caractéristique appelée « bouchon de champagne » ou « trou de serrure » (Iqbal *et al.*, 2017, Jarlier *et al.*, 1988).

### VI-2- Recherche de la production de Carbapénémases par le test CIM modifié (Carbapeneme Inactivation Method)

Le CIM modifié est utilisé pour identifier phénotypiquement les bactéries productrices de carbapénémases. Il permet de détecter l'activité de la carbapénémase chez les bacilles Gram-négatifs en huit heures, une détection fiable de l'activité de la carbapénémase codée par divers gènes chez les espèces d'entérobactéries et également chez les non-fermenteurs (*P.aeruginosa* et *A.baumannii*) (Van Der Zwaluw *et al.*, 2015).

Des suspensions des souches à tester ont été réalisées en suspendant une boucle d'inoculation dans 500  $\mu$ l d'eau physiologique stérile, puis un disque d'értapénème (10  $\mu$ g) a été immergé dans la suspension et incubé pendant 3h à 37°C. Réalisé également un témoin négatif (*E. coli* ATCC 25922) sensible et un témoin positif d'une souche résistante productrice de carbapénémase. Après incubation, le disque est retiré de la suspension et placé sur une gélose Mueller Hinton déjà inoculée avec la souche d'*E. coli* (ATCC 25922) sensible aux antibiotiques, puis incubée à 37°C pendant 24h.

La lecture se fait par comparaison des zones d'inhibition des souches testées et des témoins utilisés. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et interprétés, selon les recommandations de l'EUCAST (2023), en sensible (S) ; intermédiaire (I) et résistant (R).



**Figure 07 :** Schéma du test CIM (Van Der Zwaluw *et al.*, 2015).

Le test CIM modifié a été réalisé selon les recommandations de **EUCAST (2023)** et du Clinical Laboratory Standards Institut (**CLSI 2020**).

## VII- Etude de la formation du biofilm sur gélose au rouge Congo

Le test sur gélose au rouge Congo (CRA) a été mis au point par **Freeman *et al.*, (1989)**. Le CRA est un simple test qualitatif procédé pour la détection de biofilm avec un avantage des colonies restent viables (**Sultan et Nabel, 2019**).

Le milieu est composé de bouillon cœur-cerveille (37 g/l), de saccharose (50 g/l), d'agar (10 g/l) et du Rouge Congo (BDH Ltd) 0,8 g/l. Le colorant rouge Congo est autoclavé (121°C pendant 15 minutes) séparément et ensuite ajouté lorsque l'agar refroidi à 55°C. Un résultat positif est indiqué par des colonies noires avec une consistance cristalline sèche et les colonies des non producteurs de biofilm généralement restent de couleur rouge (**Freeman *et al.*, 1989**).

Les boîtes préparées ont étéensemencées avec des colonies jeunes de 24h des souches a testés. Après incubation à 37°C pendant 24h, la production de biofilm est caractérisée par l'apparition de colonies noires, tandis que les colonies bordeaux et rouges caractérisent les souches non productrices de biofilm (**Nasr *et al.*, 2012**).

# *Résultats*

## I- Répartition des prélèvements

Durant cette étude, 62 échantillons provenant de la cavité buccale de patients hospitalisés au niveau de EPH Akbou dans la wilaya de Bejaia ont été collectés. Ces échantillons ont été réalisés par écouvillonnage des différentes parties de la cavité buccale ainsi qu'un prélèvement de salive. La répartition des échantillons selon le sexe, la nature du prélèvement et l'antibiothérapie est rapporté dans le tableau ci-dessous.

**Tableau III** : Répartition des échantillons par prélèvement.

Numéro du Prélèvement	Date	Sexe	ATB	Nature du prélèvement
P n° 01	07/05/2023	F	Non	Ecouvillonnage + salive
P n° 02	07/05/2023	F	Non	Ecouvillonnage + salive (P)
P n° 03	07/05/2023	F	Oui	Ecouvillonnage
P n° 04	07/05/2023	F	Non	Ecouvillonnage + salive
P n° 05	07/05/2023	F	Oui	Ecouvillonnage + salive (P)
P n° 06	07/05/2023	F	Oui	Ecouvillonnage + salive
P n° 07	07/05/2023	F	Oui	Ecouvillonnage + salive
P n° 08	07/05/2023	F	Non	Ecouvillonnage + salive
P n° 09	07/05/2023	F	Oui	Ecouvillonnage + salive
P n° 10	07/05/2023	F	Non	Ecouvillonnage + salive (sans D)
P n° 11	07/05/2023	F	Oui	Ecouvillonnage + salive (P)
P n° 12	04/06/2023	H	Non	Ecouvillonnage +salive
P n° 13	04/06/2023	H	Non	Ecouvillonnage +salive
P n° 14	04/06/2023	H	Non	Ecouvillonnage +salive
P n° 15	04/06/2023	H	Non	Ecouvillonnage +salive
P n° 16	04/06/2023	H	Oui	Ecouvillonnage +salive
P n° 17	04/06/2023	H	Oui	Ecouvillonnage +salive (P)
P n° 18	05/06/2023	H	Non	Ecouvillonnage +salive
P n° 19	05/06/2023	F	Oui	Ecouvillonnage +salive
P n° 20	05/06/2023	F	Non	Ecouvillonnage +salive
P n° 21	05/06/2023	F	Non	Ecouvillonnage +salive
P n° 22	20/05/2023	H	Oui	Ecouvillonnage
E1	20/05/2023	H	Oui	Ecouvillonnage
E2	20/05/2023	H	Non	Ecouvillonnage



<b>E3</b>	20/05/2023	H	Non	Ecouvillonnage
<b>E4</b>	20/05/2023	H	Oui	Ecouvillonnage
<b>E5</b>	20/05/2023	H	Non	Ecouvillonnage
<b>E6</b>	20/05/2023	H	Oui	Ecouvillonnage
<b>H1</b>	20/05/2023	H	Oui	Ecouvillonnage
<b>H2</b>	20/05/2023	H	Non	Ecouvillonnage
<b>H3</b>	20/05/2023	H	Non	Ecouvillonnage
<b>H4</b>	20/05/2023	H	Non	Ecouvillonnage
<b>H5</b>	20/05/2023	H	Non	Ecouvillonnage
<b>H6</b>	20/05/2023	H	Oui	Ecouvillonnage
<b>H7</b>	20/05/2023	F	Non	Ecouvillonnage
<b>H8</b>	20/05/2023	F	Non	Ecouvillonnage
<b>S3*</b>	20/05/2023	F	Oui	Ecouvillonnage
<b>S17*</b>	20/05/2023	F	Non	Ecouvillonnage
<b>S32*</b>	20/05/2023	F	Non	Ecouvillonnage
<b>S14*</b>	20/05/2023	F	Non	Ecouvillonnage
<b>S12*</b>	20/05/2023	F	Non	Ecouvillonnage
<b>S8c</b>	20/05/2023	F	Oui	Ecouvillonnage

**F** : femme, **H** : homme, **ATB** : antibiothérapie, **P** : prothèse, **D** : dents.

## II- Criblage de bacilles à Gram négatifs résistants aux carbapénèmes

L'enrichissement sur bouillon nutritif été positif pour tous les échantillons dont 47 été positif sur milieu CabaMTL-Broh (**figure 08**). Un total de 52 souches de bacilles à Gram négatif a été isolées dont 9 souches appartiennent à la famille des *Pseudomonadaceae* et 43 souches appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*.

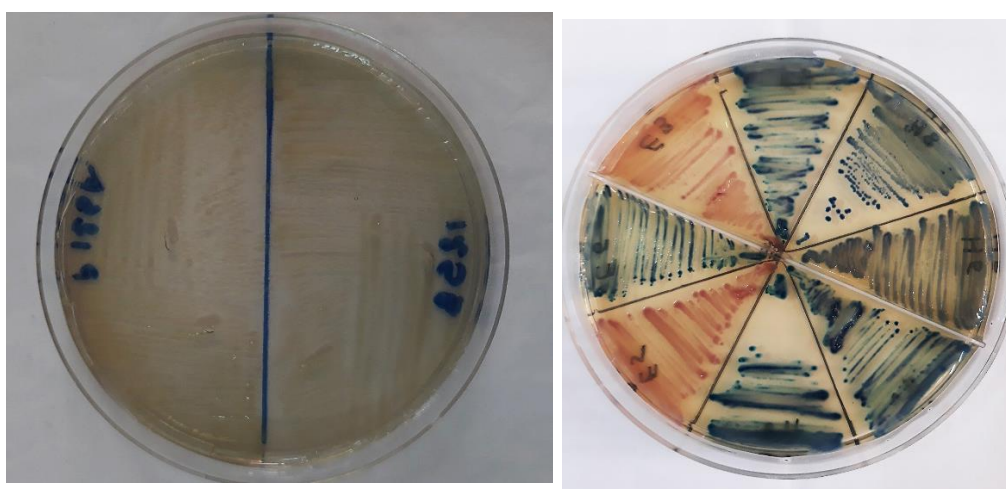


**Figure 08** : Résultats du bouillon MTL (positif + et négatif -).

### III- Identification des souches a Gram négatif

Sur la base des caractéristiques biochimiques et l'aspect des souches d'entérobactéries sur milieu chromagar TM orientation, 03 souches d'*E.coli* et 40 souches appartenant au groupe K-E-S pour « *Klebseilla-Enterobacter-Serratia* » ont été identifiés dont 18 souches été des *K. pneumoniae*, 18 souches été des *Enterobacter spp* et 04 souches été des *K. oxytoca*.

L'identification des souches de *E. coli* a été confirmée par la recherche de l'éclat métallique sur gélose EMB et les 09 souches de *P. aeruginosa* par la croissance et la production de pigmentation bleu verte sur gélose cétrimide (figure ci-dessous). Les résultats de l'identification sont rapportés dans l'**annexe III**.



Croissance et pigmentation de *P. aeruginosa* sur le milieu cétrimide.

Aspect de *E.coli* et KES sur chromagar.

**Figure 09** : Aspect des souches de *P.aeruginosa* sur cétrimide et des entérobactéries sur milieu Chromagar orientation.

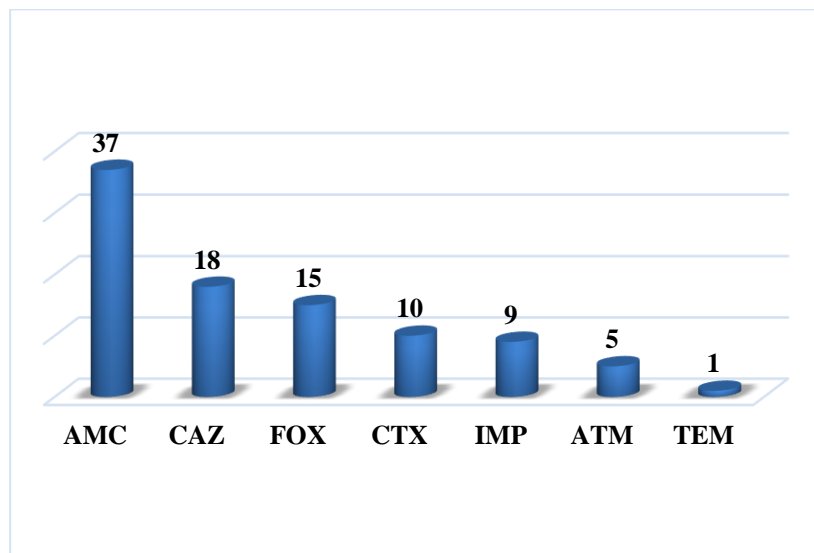
### IV- Etude de la sensibilité des souches de bacilles à Gram négatif aux carbapénèmes

La sensibilité des souches d'entérobactéries vis-à-vis de l'ertapénème et des souches de *P. aeruginosa* vis-à-vis du méropénème a été testée par la méthode de l'antibiogramme standard.

Après interprétation des résultats, 21 souches d'entérobactéries été résistantes à l'ertapénème, dont une seule souche (**P22**) été résistante à la TEM, alors que toutes les souches de *P. aeruginosa* été sensibles au méropénème (**Annexe IV**).

## V- Etude de la sensibilité des souches résistantes aux autres antibiotiques

Les souches résistantes à l'értapénème ont montré également une résistance *vis-à-vis* des C3G à savoir le céftazédime et le céfotaxime avec un taux de de 18% et 10% respectivement. Ces souches sont également résistantes à AMC et à la FOX (figure ci-dessous). Ainsi, toutes les souches de *P. aeruginosa* été résistantes à l'imipinème.



**Figure 10 :** La résistance des souches aux autres antibiotiques.

**AMC:** Amoxicilline+Acide clavulanique, **FOX:** Céfoxitine, **CTX:** Céfotaxime, **CAZ :** Céftazidime, **ATM:** Aztréonèm, **IMP :** imipinème, **TEM :** Temocilline.

## VI- Répartition des souches productrices de carbapénèmases selon l'origine du prélèvement et les caractéristiques des patients

Un taux élevé de souches d'entérobactéries résistantes à l'értapénème a été isolées de la cavité buccale comparé à nombre de souches isolées à partir de la salive (tableau ci-dessous).

Ces souches ont été retrouver chez 11 femmes et 9 hommes hospitalisés au niveau du service de médecine interne. D'après le questionnaire (annexe I), 4 femmes et 4 homme été sous antibiothérapie. Trois femmes et 6 hommes ont présenter des maladies antécédentes (la tension, goitre, Alzheimer,...). Le tableau ci-dessous montre la répartition des souches résistantes par types de prélèvement ainsi que les caractéristiques des patients hospitalisés.

**Tableau IV** : Répartition des souches résistantes par prélèvement et caractéristique des patients.

Code	Nature du prélèvement	Sexe	Service	ATB	Souches
<b>P2c</b>	Ecouvillonnage	F	Médecine interne F	Non	<i>Enterobacter</i>
<b>P2B</b>	Ecouvillonnage	F	Médecine interne F	Non	<i>Enterobacter</i>
<b>S3*</b>	Ecouvillonnage	F	Médecine interne F	Oui	<i>K. pneumoniae</i>
<b>S17*</b>	Ecouvillonnage	F	Médecine interne F	Non	<i>K. pneumoniae</i>
<b>S32*</b>	Ecouvillonnage	F	Médecine interne F	Non	<i>K. pneumoniae</i>
<b>S14*</b>	Ecouvillonnage	F	Médecine interne F	Non	<i>K. pneumoniae</i>
<b>S12*</b>	Ecouvillonnage	F	Médecine interne F	Non	<i>K. pneumoniae</i>
<b>S8c</b>	Ecouvillonnage	F	Médecine interne F	Oui	<i>Enterobacter</i>
<b>H2</b>	Ecouvillonnage	H	Médecine interne F	Non	<i>K. pneumonia</i>
<b>E4</b>	Ecouvillonnage	H	Médecine interne F	Oui	<i>K. pneumonia</i>
<b>H4</b>	Ecouvillonnage	H	Médecine interne F	Non	<i>Klebseilla spp</i>
<b>E1</b>	Ecouvillonnage	H	Médecine interne H	Oui	<i>K. pneumoniae</i>
<b>P21s</b>	Salive	F	Médecine interne F	Oui	<i>Enterobacter</i>
<b>P20B</b>	Ecouvillonnage	F	Médecine interne F	Non	<i>Enterobacter</i>
<b>P19Sb</b>	Salive	F	Médecine interne F	Oui	<i>Enterobacter</i>
<b>P22</b>	Ecouvillonnage	H	Médecine interne H	Oui	<i>Enterobacter</i>
<b>P19sA</b>	Salive	F	Médecine interne F	Oui	<i>Enterobacter</i>
<b>P16B</b>	Ecouvillonnage	H	Médecine interne H	Oui	<i>Enterobacter</i>
<b>P15sB</b>	Salive	H	Médecine interne H	Non	<i>Enterobacter</i>
<b>P20S</b>	Salive	F	Médecine interne F	Non	<i>K. pneumoniae</i>
<b>P18sA</b>	Salive	H	Médecine interne H	Non	<i>Enterobacter</i>

**F** : femme, **H** : homme, **ATB** : antibiothérapie

## VII- Détermination des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines

### VII-1- Recherche de production d'une carbapénémase par test CIM

La recherche de carbapénémases a été réalisée pour les 21 souches d'entérobactéries résistantes à l'ertapénème dont 6 souches ont été probablement productrices de carbapénémases, et une seule souche (**P22**) avec CIM négatif a été résistante à la TEM ce qui indique une présence probable d'OXA-48. Le tableau suivant représente les diamètres des zones d'inhibitions des souches positives.

**Tableau V** : Les diamètres des zones d'inhibitions des souches CIM positif.

Code	Antibiothérapie	Diamètre CIM	Souches	Nature du prélèvement
<b>H2</b>	Non	Positif (12)	<i>K. pneumoniae</i>	Ecouvillonnage
<b>E4</b>	Oui	Positif (contacte)	<i>K. pneumoniae</i>	Ecouvillonnage
<b>P22</b>	Oui	Positif (10)	<i>Enterobacter</i>	Ecouvillonnage
<b>P19sB</b>	Oui	Positif (13)	<i>Enterobacter</i>	Salive
<b>P15sB</b>	Non	Positif (13)	<i>Enterobacter</i>	Salive
<b>P16B</b>	Oui	Positif (13)	<i>Enterobacter</i>	Ecouvillonnage

### VII-2- Recherche de la production d'une BLSE par le test de synergie

Le test de synergie a été réalisé sur les 21 souches d'entérobactérie résistantes isolées dont une seule souche (**S8c**) a présenté une image de synergie indiquant la production probable d'une BLSE (figure ci-dessous). Cette souche a été isolée à partir de la cavité buccale.



**Figure 11** : Test de synergie positif.

Les souches ne présentant pas une image de synergie étaient résistantes à la FOX, ce qui implique la présence probable d'une céphalosporinase naturelle ou plasmidique. La figures ci-dessous représentant un exemple de l'aspect de la production d'une céphalosporinase sur gélose Mueller Hinton chez une souche d'*Enterobacter spp* de l'échantillon (P2B).



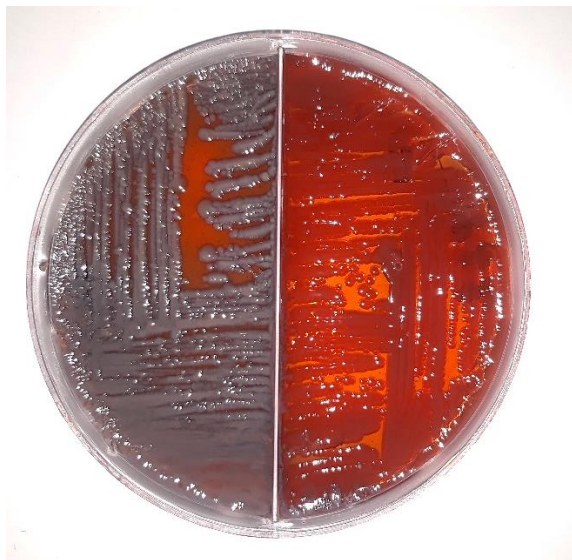
**Figure 12 :** Aspect de présence d'une céphalosporinase chez *Enterobacter spp* (P2B).

### VIII- Recherche de la production de biofilm sur gélose au rouge Congo

La recherche de la production de biofilm sur gélose au Rouge Congo a été réaliser pour les souches productrices de carbapénèmases. Deux phénotypes ont été observés à savoir des colonies grises qui indique un résultat modérément positif (Raksha et al., 2020) et des colonies rouges qui indique un résultat négatif.

**Tableau VI :** Résultats de l'évaluation de production de biofilm sur gélose au Rouge Congo.

Souches	Résultat sur Rouge Congo	Interprétation
H2	Colonies rouges muqueuses	Négatif
E4	Colonies grises muqueuses	Modérément positif
P22	Colonies rouges muqueuses	Négatif
P19sB	Colonies grises muqueuses	Modérément positif
P15sB	Colonies rouges muqueuses	Négatif
P16B	Colonies rouges muqueuses	Négatif
E1	Colonies grises muqueuses	Négatif



**Figure 13** : Résultat du rouge Congo montrant un résultat positif à gauche (**P19sB**) et un résultat négatif à droite (**P22**).

# *Discussion*



Les antibiotiques ont constitué une découverte thérapeutique importante pour la sante humaine. Cependant, le mauvais usage de ces agents antimicrobiens et leurs utilisations accrues ont eu pour conséquence de faire apparaître certaines formes de résistance des souches microbiennes contrebalançant les effets des antibiotiques. En effet, certaines souches arrivent à rétablir une multirésistance *vis-à-vis* de plusieurs antibiotiques à la fois donnant lieu à ce qu'on appelle les bactéries multi résistantes aux antibiotiques « BMR » (Bouyahya et al., 2017).

La composition du microbiote oral chez les personnes en bonne santé est généralement stable. Cependant, la diversité microbienne peut varier en raison de pressions sélectives, dont quelques-unes sont des modifications alimentaires, des maladies et une exposition aux antibiotiques (Almeida et al., 2020). Les perturbations du microbiote buccal dans des conditions particulières peuvent contribuer à la croissance d'agents pathogènes non buccaux qui sont difficiles à éliminer en raison de leur plus grande résistance aux antimicrobiens (Zaatout, 2021).

Durant notre étude 52 bacilles à Gram négatif ont été isolés à partir de la cavité buccale de patients adultes admis au service de médecine interne de EPH d'Akhou, dont 43 entérobactéries et 9 souches de *P. aeruginosa*. Parmi ces entérobactéries, 21 souches ont montré une résistance *vis-à-vis* de l'értapénème. Le et ces collaborateurs (2020) ont rapporté la présence de bactéries résistantes aux antibiotiques dans la l'écosystème buccale des patients admis dans des établissements de soins de longue durée. Ces patients présentent un risque potentiel d'infections pulmonaires, dans lesquelles certains types de bactéries à Gram négatifs telles que *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* été impliquées (Le et al., 2020).

Concernant les autres molécules d'antibiotiques, des taux de résistance élevés ont été enregistrés chez les souches d'entérobactéries vis-à-vis de l'Amoxicilline+Acide clavulanique (86%) et du céftazidime (41%), des taux modérés vis-à-vis de la céfoxitine (35%) et des taux faibles vis-à-vis de la céfotaxime (23%) et de l'aztréonam (11%). Chez *P. aeruginosa* un taux de résistance de 55,5% a été obtenus vis-à-vis de céftazidime.

En dentisterie, les prescriptions d'antibiotiques sont soit prophylactiques, préventif ou thérapeutiques. Ces prescriptions d'antibiotiques augmentent à un rythme alarmant ces dernières années. L'amoxicilline à large spectre est l'un des antibiotiques le plus couramment prescrits, ce qui est inquiétant car ces antibiotiques à spectre élargie sont plus susceptibles d'induire le développement de la résistance (Stein et al., 2018).

En Algérie, peu de travaux publiés ont rapporté la présence des bacilles à Gram négatif résistant aux antibiotiques dans la cavité buccale. Toutefois, l'étude réalisée par Zaatout (2021) a rapporté la présence des bactéries non orales dans la cavité buccale, notamment les entérobactéries, *S. aureus*, *Enterococcus* et *P. aeruginosa*. Toutefois, plusieurs études ont rapporté la contamination des fruits et des légumes consommés crus par des bactéries résistantes aux b-lactamines notamment aux C3G par production de BLSE et aux carbapénèmes par production d'OXA-48 (Zekar-Mesbah et al., 2017 ; Touati et al., 2017). Egalement les travaux de Yaici et ses collaborateurs (2017) ont rapporté la contamination des sandwichs par des bactéries productrices de BLSE dans la région de Bejaia. Ces constatations peuvent expliquer une des voies de contamination de ces bactéries dans la cavité buccale à travers la nourriture.

D'autres mécanismes de résistance des bacilles à Gram négatif aux carbapénèmes comprennent l'altération des porines, la modification de la cible, la surproduction de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) et la surexpression des pompes à efflux. La perte des principales protéines de la membrane externe est fréquemment observée chez les CRE, entraînant une réduction de la perméabilité de la membrane externe en raison de modifications structurelles des canaux de porines limitant l'absorption de molécules d'antibiotiques à travers la paroi cellulaire bactérienne. Ces changements structurels étaient dus à des mutations des porines, qui est un phénotype fréquemment observé chez les mutants d'isolats non producteurs de carbapénémases (Mmatli et al., 2020).

La capacité de formation de biofilm chez les souches d'entérobactéries permet de protéger les souches de la réponse immunitaire de l'hôte et de l'action des antibiotiques. Différents gènes sont liés à la formation de biofilm, notamment le gène *mrk* (type 3 fimbriae), *fimH-1* (type 1 adhésion fimbriale) (Mirzaie et Reza Ranjbar, 2021). La matrice de biofilm fournit une barrière à la pénétration des antibiotiques et, par conséquent, diminue la sensibilité des bactéries. Les exopolysaccharides et l'ADN extracellulaire jouent un rôle dans la résistance aux agents antimicrobiens, ou les  $\beta$ -lactamases sécrétées dans la matrice peuvent dégrader les antimicrobiens (Le et al., 2020).

Une étude de Rowe et al (2017) a démontré que les gènes *bla* GES et *bla* OXA sont exprimés à la fois dans les effluents hospitaliers et agricoles mais ils ne sont surexprimés que dans les effluents hospitaliers. Cette surexpression significative des ARG survenant dans un environnement fortement impacté par l'utilisation d'antibiotiques. Le contexte génétique des

ARG (par exemple la proximité du promoteur) et l'activité métabolique de la communauté échantillonnée, qui pourraient tous deux avoir un impact sur l'expression des gènes dans les communautés microbiennes. Par exemple, l'expression des ARG qui ont été observée dans cette étude pourrait être attribuée aux températures élevées des effluents hospitaliers et à l'excrétion récente de bactéries d'hôtes humains.

La cavité buccale est un environnement propice au transfert horizontal de gènes en raison de la proximité des bactéries dans la plaque et de la disponibilité d'ADN exogène traversant la cavité buccale. Les gènes codant pour la résistance à la tétracycline (*tet*) et aux macrolides (*erm* ou *mef*) sont les plus fréquents dans la cavité buccale, la résistance aux macrolides peut être due à la méthylation du ribosome couramment codé par des gènes appelés érythromycine ribosomale méthylase (*erm*) ou par efflux de macrolides (codé par *mef*) (**Brooks et al., 2022**).

# *Conclusion*

La présente étude a rapporté la présence de bacilles à Gram négatif résistantes aux carbapénèmes et aux C3G dans la cavité buccale de patients hospitalisés au niveau du service de médecine interne. La présence de microorganismes d'intérêt médicale liés à l'épidémiologie des infections nosocomiales et à la résistance aux antibiotiques été élevée.

Cette constatation attire la sonnette d'alarme sur la propagation de souches résistance aux carbapénèmes dans le microbiote orale et probablement dans microbiote intestinale. L'usage intensif et inutile des antibiotiques en médecine humaine, vétérinaire et en agriculture a largement contribué à l'apparition et la propagation de ces souches résistantes.

Dans notre étude, les résultats microbiologiques retrouvés indiquent l'existence d'un microbiote permanent due à la capacité de ces souches à former un biofilm et à résister à l'action bactéricide de la salive. Cette résistance est plus inquiétante dans les milieux hospitaliers et présente une menace majeure pour la santé humaine.

En perspective, les résultats de notre étude restent préliminaires et nécessite d'être complétés par :

- ✓ La réalisation d'un nombre plus important de prélèvement ainsi que la comparaison entre les résultats avant et après antibiothérapie.
- ✓ Etude des facteurs de virulence des souches et leur sensibilité aux certaines solutions désinfectantes.
- ✓ La confirmation de l'identification des souches par d'autres tests (indole à 44°C, méthodes moléculaires...).

# *Références bibliographiques*

## A

- Acharya, A., Chan, Y., Kheur, S., Jin, L. J., Watt, R. M., & Mattheos, N. (2017). Salivary microbiome in non-oral disease: A summary of evidence and commentary. *Archives of oral biology*, 83, 169–173. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.07.019>
- Ahmadi, H., Ebrahimi, A., & Ahmadi, F. (2021). Antibiotic therapy in dentistry. *International journal of dentistry*, 2021.
- Almeida, V. S. M., Azevedo, J., Leal, H. F., Queiroz, A. T. L., da Silva Filho, H. P., & Reis, J. N. (2020). Bacterial diversity and prevalence of antibiotic resistance genes in the oral microbiome. *PloS one*, 15(9), e0239664. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239664>
- Arirachakaran, P., Luangworakhun, S., Charalampakis, G., & Dahlén, G. (2019). Non-oral, aerobic, Gram-negative bacilli in the oral cavity of Thai HIV-positive patients on Highly-active anti-retrovirus therapy medication. *Journal of investigative and clinical dentistry*, 10(2), e12387. <https://doi.org/10.1111/jicd.12387>
- Arweiler, N. B., & Netuschil, L. (2016). The oral microbiota. *Microbiota of the human body: implications in health and disease*, 45-60.

## B

- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017). Resistance to antibiotics and mechanisms of action of essential oils against bacteria. *Phytothérapie*, 1-11.
- Brooks, L., Narvekar, U., McDonald, A., & Mullany, P. (2022). Prevalence of antibiotic resistance genes in the oral cavity and mobile genetic elements that disseminate antimicrobial resistance: A systematic review. *Molecular Oral Microbiology*, 37(4), 133-153.

## C

- Cruz, A. S. D. C., Fidelis, Y. P., de Mendonça Guimarães, D., Muller, H. S., Martins, V. D. P., & Lia, E. N. (2022). Oral health and the presence of infectious microorganisms in hospitalized patients: a preliminary observational study. *Annals of Medicine*, 54(1), 1908-1917.

## **D**

- Danckert, R., Ryan, A., Plummer, V., & Williams, C. (2016). Hospitalisation impacts on oral hygiene: an audit of oral hygiene in a metropolitan health service. *Scandinavian journal of caring sciences*, 30(1), 129–134. <https://doi.org/10.1111/scs.12230>

## **F**

- Freeman, D. J., Falkiner, F. R., & Keane, C. T. (1989). New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of clinical pathology*, 42(8), 872-874.

## **G**

- Ghannam, M. G., & Singh, P. (2023). *Anatomy, Head and Neck, Salivary Glands*. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Ghapanchi, J., Emami, A., Rezazadeh, F., Shakibasefat, H., & Pirbonyeh, N. (2019). Isolation of *Enterococcus faecalis* in the saliva samples of patient candidates for liver transplantation. *Dental research journal*, 16(5), 333–337.

## **H**

- Huang, X., Browngardt, C. M., Jiang, M., Ahn, S. J., Burne, R. A., & Nascimento, M. M. (2018). Diversity in Antagonistic Interactions between Commensal Oral Streptococci and *Streptococcus mutans*. *Caries research*, 52(1-2), 88–101. <https://doi.org/10.1159/000479091>

## **I**

- Iqbal, R., Ikram, N., Shoaib, M., Muhammad, J. A., Raja, T. M., Abid, A. N., ... & Faiza, N. (2017). Phenotypic confirmatory disc diffusion test (PCDDT), double disc synergy test (DDST), E-test OS diagnostic tool for detection of extended spectrum beta lactamase (ESBL) producing Uropathogens. *J Appl Biotechnol Bioeng*, 3(3), 344-349.



## J

- Jarlier, V., Nicolas, M. H., Fournier, G., & Philippon, A. (1988). Extended broad-spectrum  $\beta$ -lactamases conferring transferable resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Clinical Infectious Diseases*, 10(4), 867-878.

## K

- Kamrani, P., & Sadiq, N. M. (2022). Anatomy, Head and Neck, Oral Cavity (Mouth). In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Khadka, S., Khan, S., King, A., Goldberg, L. R., Crocombe, L., & Bettiol, S. (2021). Poor oral hygiene, oral microorganisms and aspiration pneumonia risk in older people in residential aged care: a systematic review. *Age and ageing*, 50(1), 81–87. <https://doi.org/10.1093/ageing/afaa102>
- Khezri, H. D., Zeydi, A. E., Firouzian, A., Baradari, A. G., Mahmoodi, G., Kiabi, F. H., & Moghaddasifar, I. (2014). The importance of oral hygiene in prevention of ventilator associated pneumonia (VAP): a literature review. *International Journal of Caring Sciences*, 7(1), 12-23.
- Kligman, S., Ren, Z., Chung, C. H., Perillo, M. A., Chang, Y. C., Koo, H., ... & Li, C. (2021). The impact of dental implant surface modifications on osseointegration and biofilm formation. *Journal of clinical medicine*, 10(8), 1641.

## L

- Le, M. N., Kayama, S., Yoshikawa, M., Hara, T., Kashiya, S., Hisatsune, J., Tsuruda, K., Onodera, M., Ohge, H., Tsuga, K., & Sugai, M. (2020). Oral colonisation by antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria among long-term care facility residents: prevalence, risk factors, and molecular epidemiology. *Antimicrobial resistance and infection control*, 9(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-0705-1>
- Li, N., Ma, W. T., Pang, M., Fan, Q. L., & Hua, J. L. (2019). The Commensal Microbiota and Viral Infection: A Comprehensive Review. *Frontiers in immunology*, 10, 1551. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01551>

## M

- Madani, M., Berardi, T., & Stoopler, E. T. (2014). Anatomic and examination considerations of the oral cavity. *The Medical clinics of North America*, 98(6), 1225–1238. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2014.08.001>
- Mairi, A., Touati, A., Pantel, A., Dunyach-Remy, C., Sotto, A., De Champs, C., & Lavigne, J. P. (2019). Performance of a new in-house medium Carba MTL-broth for the rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of infection in developing countries*, 13(7), 591–602. <https://doi.org/10.3855/jidc.11305>
- Mairi, A., Pantel, A., Ousalem, F., Sotto, A., Touati, A., & Lavigne, J. P. (2019). OXA-48-producing Enterobacterales in different ecological niches in Algeria: clonal expansion, plasmid characteristics and virulence traits. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(7), 1848-1855.
- Marshall, B. M., Ochieng, D. J., & Levy, S. B. (2009). Commensals: underappreciated reservoir of antibiotic resistance. *Microbe*, 4(5), 231-238.
- Mesbah Zekar, F., Granier, S. A., Marault, M., Yaici, L., Gassilloud, B., Manceau, C., ... & Millemann, Y. (2017). From farms to markets: Gram-negative bacteria resistant to third-generation cephalosporins in fruits and vegetables in a region of North Africa. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1569.
- Mirzaie, A., & Ranjbar, R. (2021). Antibiotic resistance, virulence-associated genes analysis and molecular typing of *Klebsiella pneumoniae* strains recovered from clinical samples. *AMB Express*, 11, 1-11.
- Mmatli, M., Mbelle, N. M., Maningi, N. E., & Osei Sekyere, J. (2020). Emerging transcriptional and genomic mechanisms mediating carbapenem and polymyxin resistance in Enterobacteriaceae: a systematic review of current reports. *MSystems*, 5(6), 10-1128.

## N

- Nasr, R. A., AbuShady, H. M., & Hussein, H. S. (2012). Biofilm formation and presence of *icaAD* gene in clinical isolates of staphylococci. *Egyptian journal of medical human genetics*, 13(3), 269-274.

## P

- Park, S. Y., Hwang, B. O., Lim, M., Ok, S. H., Lee, S. K., Chun, K. S., Park, K. K., Hu, Y., Chung, W. Y., & Song, N. Y. (2021). Oral-Gut Microbiome Axis in Gastrointestinal Disease and Cancer. *Cancers*, 13(9), 2124. <https://doi.org/10.3390/cancers13092124>
- Patil, S., Rao, R. S., Amrutha, N., & Sanketh, D. S. (2013). Oral microbial flora in health. *World J Dent*, 4(4), 262-6.
- Peter, I. U., Okolie, S. O., Okike, B. M., Nwuzo, A. C., Chukwu, E. B., Mohammed, I. D., ... & Edemekong, C. I. (2022). Phenotypic characterization and antibiogram of non-oral bacteria isolates from patients attending dental clinic at Federal College of Dental Technology and Therapy Medical Center Enugu. *International Journal of Pathogen Research*, 11(2), 7-19.
- Polizzi, A., Donzella, M., Nicolosi, G., Santonocito, S., Pesce, P., & Isola, G. (2022). Drugs for the Quorum Sensing Inhibition of Oral Biofilm: New Frontiers and Insights in the Treatment of Periodontitis. *Pharmaceutics*, 14(12), 2740. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics1412274>.

## R

- Raksha, L., Gangashettappa, N., Shantala, G. B., Nandan, B. R., & Sinha, D. (2020). Study of biofilm formation in bacterial isolates from contact lens wearers. *Indian journal of ophthalmology*, 68(1), 23–28. [https://doi.org/10.4103/ijo.IJO\\_947\\_19](https://doi.org/10.4103/ijo.IJO_947_19)
- Rowe, W. P., Baker-Austin, C., Verner-Jeffreys, D. W., Ryan, J. J., Micallef, C., Maskell, D. J., & Pearce, G. P. (2017). Overexpression of antibiotic resistance genes in hospital effluents over time. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(6), 1617-1623.

## S

- Sarkar, A., Xu, F., & Lee, S. (2019). Human saliva and model saliva at bulk to adsorbed phases - similarities and differences. *Advances in colloid and interface science*, 273, 102034. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.102034>
- Scannapieco, F. A. (2013). The oral microbiome: its role in health and in oral and systemic infections. *Clinical Microbiology Newsletter*, 35(20), 163-169.

- Shaffer, M., & Lozupone, C. (2018). Prevalence and Source of Fecal and Oral Bacteria on Infant, Child, and Adult Hands. *mSystems*, 3(1), e00192-17. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00192-17>
- Stein, K., Farmer, J., Singhal, S., Marra, F., Sutherland, S., & Quiñonez, C. (2018). The use and misuse of antibiotics in dentistry: A scoping review. *The Journal of the American Dental Association*, 149(10), 869-884.
- Sultan, A. M., & Nabel, Y. (2019). Tube method and Congo red agar versus tissue culture plate method for detection of biofilm production by uropathogens isolated from midstream urine: Which one could be better?. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 20(1), 60-66.

### **T**

- Thurnheer, T., & Belibasakis, G. N. (2015). Integration of non-oral bacteria into in vitro oral biofilms. *Virulence*, 6(3), 258-264.
- Touati, A., & Mairi, A. (2020). Carbapenemase-producing Enterobacterales in Algeria: a systematic review. *Microbial Drug Resistance*, 26(5), 475-482.

### **V**

- Van der Zwaluw, K., de Haan, A., Pluister, G. N., Bootsma, H. J., de Neeling, A. J., & Schouls, L. M. (2015). The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PloS one*, 10(3), e0123690.

### **Y**

- Yaici, L., Haenni, M., Métayer, V., Saras, E., Zekar, F. M., Ayad, M., ... & Madec, J. Y. (2017). Spread of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the community through ready-to-eat sandwiches in Algeria. *International journal of food microbiology*, 245, 66-72.

### **Z**

- Zaatout, N. (2021). Presence of non-oral bacteria in the oral cavity. *Archives of microbiology*, 203(6), 2747-2760.

- Zhang, Y., Wang, X., Li, H., Ni, C., Du, Z., & Yan, F. (2018). Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 99, 883–893. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.146>

# *Annexes*

## Annexe I : Fiches de renseignements des patients hospitalisés.



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
**Université A. MIRA – Bejaïa**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Microbiologie**

## Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Numéro : 3 La date : 07/05/2023. Antibiothérapie : Oui  
L'âge : 77 ans. Le service : Médecine interne, EPH Akbou.  
Le sexe : Femme Le Prélèvement : Ecouvillonnage. Salive  
Raison d'hospitalisation : AVC.  
Maladies antécédentes : Diabète, stention, néphrite, maladie cardiaque.



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
**Université A. MIRA – Bejaïa**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Microbiologie**

## Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Numéro : 04 La date : 07/05/2023. Antibiothérapie : Non.  
L'âge : 21 ans. Le service : Médecine interne, EPH Akbou.  
Le sexe : Femme Le Prélèvement : Ecouvillonnage + Salive.  
Raison d'hospitalisation : Diabétique.  
Maladies antécédentes : Goutte.



جامعة بجاية  
Tasdawit n Bgayet  
Université de Béjaïa



جامعة بجاية  
Tasdawit n Bgayet  
Université de Béjaïa

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA – Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

### Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Numéro : 17 La date : 04/06/2023 Antibiothérapie : Oui  
 L'âge : 36 ans Le service : Médecine Interne .  
 Le sexe : H Le Prélèvement : Ecouvillonnage + Salive .  
 Raison d'hospitalisation : Chirurgie .  
 Maladies antécédentes : Croûte .



جامعة بجاية  
Tasdawit n Bgayet  
Université de Béjaïa



جامعة بجاية  
Tasdawit n Bgayet  
Université de Béjaïa

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA – Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

### Fiche de renseignement pour un prélèvement bucco-dentaire

Numéro : 18 La date : 04/06/2023 Antibiothérapie :  
 L'âge : 46 ans Le service : Médecine Interne .  
 Le sexe : H Le Prélèvement : Ecouvillonnage + Salive .  
 Raison d'hospitalisation : Problème de poumons .  
 Maladies antécédentes : Sclérodermie .



## Annexe II : Résultats du bouillon CarbaMTL.



## Annexe III : Résultats d'identification des souches bactériennes.

Code	Uréase	TSI	Indole	Aspect sur Chromagar	Espèce probable
P6B	-	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>Enterobacter</i> sp
P5A	+	+	+	Colonies bleu métalliques	<i>Klebseilla oxytoca</i>
P2c	-	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>Enterobacter</i> sp
P9	-	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>Enterobacter</i> sp
P2A	-	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>Enterobacter</i> sp
P11*	+	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>K. pneumoniae</i>
P11A	-	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>Enterobacter</i> sp.
P1	-	-	-	Colonies bleu métalliques	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P6A	+	+	+	Colonies bleu métalliques	<i>Klebseilla oxytoca</i>
P4	-	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>Enterobacter</i> sp.
P3	+	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>K. pneumoniae</i>
P2B	-	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>Enterobacter</i> sp.
P20A	-	-	-	Colonies muqueuses brunâtres	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P13sA	-	-	-	Colonies muqueuses brunâtres	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P16A	-	-	-	Colonies muqueuses brunâtres	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P15sA	-	-	-	Colonies muqueuses brunâtres	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P18	-	-	-	Colonies muqueuses brunâtres	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P15A	-	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>Enterobacter</i> sp.
P15B	-	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>Enterobacter</i> sp.

<b>P16sA</b>	-	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>Enterobacter</i> sp.
<b>P16B</b>	-	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>Enterobacter</i> sp.
<b>P15sB</b>	-	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>Enterobacter</i> sp.
<b>P20s</b>	+	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>K. pneumoniae</i>
<b>P18sA</b>	-	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>Enterobacter</i> sp.
<b>P12A</b>	-	-	-	Colonies muqueuses brunâtres	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>S3*</b>	+	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>K. pneumoniae</i>
<b>S17*</b>	+	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>K. pneumoniae</i>
<b>S32*</b>	+	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>K. pneumoniae</i>
<b>S14*</b>	+	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>K. pneumoniae</i>
<b>S12*</b>	+	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>K. pneumoniae</i>
<b>H8</b>	+	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>K. pneumoniae</i>
<b>H2</b>	+	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>K. pneumoniae</i>
<b>S8c</b>	+	+	+	Colonies bleu métalliques	<i>Klebseilla oxytoca</i>
<b>E3</b>	-	+	-	Colonies roses	<i>E. Coli</i>
<b>H6</b>	+	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>K. pneumoniae</i>
<b>E4</b>	+	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>K. pneumoniae</i>
<b>E6</b>	+	+	-	Colonies bleu métalliques	<i>K. pneumoniae</i>
<b>E5</b>	-	+	-	Colonies roses	<i>E. Coli</i>
<b>H4</b>	+	+	+	Colonies bleu métallique	<i>Klebseilla oxytoca</i>
<b>H1</b>	+	+	-	Colonies bleu métallique	<i>K. pneumoniae</i>
<b>H5</b>	+	+	-	Colonies bleu métallique	<i>K. pneumoniae</i>
<b>E1</b>	+	+	-	Colonies bleu métallique	<i>K. pneumoniae</i>
<b>H3</b>	+	+	+	Colonies bleu métallique	<i>Klebseilla oxytoca</i>
<b>E2</b>	-	+	-	Colonies roses	<i>E. coli</i>
<b>P21s</b>	-	+	-	Colonies bleu métallique	<i>Enterobacter</i> sp
<b>P20B</b>	-	+	-	Colonies bleu métallique	<i>Enterobacter</i> sp
<b>P19sB</b>	-	+	-	Colonies bleu métallique	<i>Enterobacter</i> sp

---

<b>P22</b>	-	+	-	Colonies bleu métallique	<i>Enterobacter</i> sp
<b>P13sB</b>	+	+	-	Colonies bleu métallique	<i>K. pneumoniae</i>
<b>P19sA</b>	-	+	-	Colonies bleu métallique	<i>Enterobacter</i> sp
<b>P21</b>	+	+	-	Colonies bleu métallique	<i>K. pneumoniae</i>
<b>P17sA</b>	-	-	-	Colonies muqueuses brunâtres	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>P17sB</b>	-	-	-	Colonies muqueuses brunâtres	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

**Annexe IV** : Les diamètres des zones d'inhibition des souches d'entérobactéries obtenus.

<b>Souche</b>	<b>CAZ</b>	<b>AMC</b>	<b>CTX</b>	<b>ATM</b>	<b>ETP</b>	<b>FOX</b>	<b>TEM</b>
<b>S3*</b>	24 (S)	R	23 (R)	30 (S)	19 (R)	21 (S)	NT
<b>S17*</b>	R	R	R	12 (R)	16 (R)	R	NT
<b>S32*</b>	21(R)	R	21 (R)	32 (S)	18(R)	22 (S)	NT
<b>S14*</b>	R	R	R	R	14 (R)	R	NT
<b>S12*</b>	28 (S)	R	25 (S)	33 (S)	18 (R)	22 (S)	NT
<b>H8</b>	23 (S)	R	32 (S)	35 (S)	28 (S)	15 (R)	NT
<b>H2</b>	16 (R)	R	10 (R)	20 (R)	26 (S)	17 (S)	NT
<b>S8c</b>	18 (R)	R	BLSE+	BLSE+	2 (R)	25 (S)	NT
<b>E3</b>	23 (S)	19 (R)	26 (S)	31 (S)	30 (S)	20 (S)	NT
<b>H6</b>	28 (S)	R	32 (S)	32 (S)	28 (S)	20 (S)	NT
<b>E4</b>	R	R	R	16 –R	10 (R)	R	NT
<b>E6</b>	26 (S)	R	35 (S)	35 (S)	30 (S)	R	NT
<b>E5</b>	12 (R)	R	14 (R)	21 (R)	30(S)	21 (S)	NT
<b>H4</b>	25 (S)	20 (S)	37 (S)	35 (S)	28 (S)	15 (R)	NT
<b>H1</b>	30 (S)	R	37 (S)	40 (S)	31 (S)	23 (S)	NT
<b>H5</b>	20 (R)	10 (R)	30 (S)	36 (S)	28 (S)	30 (S)	NT
<b>E1</b>	17 (R)	R	27 (S)	30 (S)	20 (R)	R	NT
<b>H3</b>	23 (S)	R	32 (S)	35 (S)	32 (S)	18 (S)	NT
<b>E2</b>	26 (S)	R	34 (S)	33 (S)	28 (S)	26 (S)	NT
<b>P21s</b>	21 (R)	R	28 (S)	30 (S)	25 (R)	26 (S)	25
<b>P20B</b>	25 (S)	17 (R)	S	S	25 (R)	24 (S)	25
<b>P19Sb</b>	20 (R)	R	30 (S)	30 (S)	24 (R)	R	27
<b>P22</b>	25 (S)	R	30 (S)	S	R	R	R
<b>P13sB</b>	28 (S)	R	S	S	27 (S)	30 (S)	30

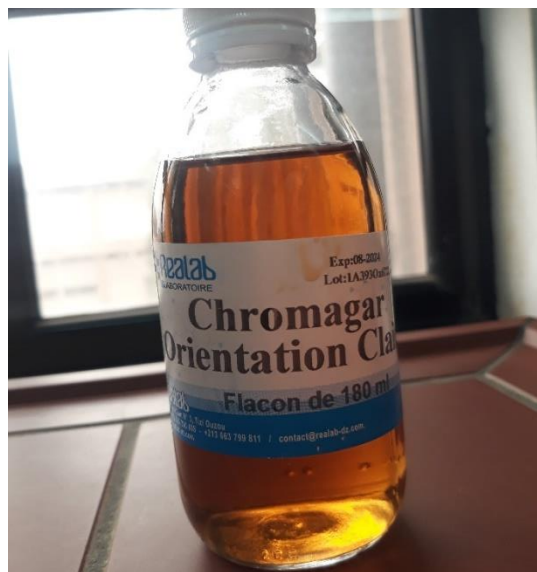
<b>P19sA</b>	23 (S)	R	S	S	25 (R)	R	27
<b>P21</b>	25 (S)	20 (S)	S	S	28 (S)	26 (S)	25
<b>P15B</b>	27 (S)	R	S	S	30 (S)	R	30
<b>P16sA</b>	S	R	S	S	S	S	S
<b>P16B</b>	22 (S)	R	30 (S)	S	20 (R)	R	23
<b>P15sB</b>	20 (R)	R	30 (S)	S	22 (R)	R	24
<b>P20s</b>	24 (S)	R	30 (S)	S	25 (R)	R	28
<b>P18sA</b>	25 (S)	R	S	S	25 (R)	R	30
<b>P6B</b>	26 (S)	11 (R)	30 (S)	32 (S)	28 (S)	10 (R)	NT
<b>P5A</b>	50 (S)	50 (S)	50 (S)	50 (S)	42 (S)	32 (S)	NT
<b>P2c</b>	24 (S)	18 (R)	23 (R)	24 (S)	22 (R)	19 (S)	NT
<b>P9</b>	38 (S)	R	34 (S)	32 (S)	30 (S)	R	NT
<b>P2A</b>	24 (S)	13 (R)	24 (S)	28 (S)	31 (S)	R	NT
<b>P11*</b>	26 (S)	18 (R)	31 (S)	32 (S)	30 (S)	23 (S)	NT
<b>P11A</b>	25 (S)	R	27 (S)	26 (S)	38 (S)	R	NT
<b>P1</b>	27 (S)	22 (S)	21 (R)	36 (S)	30 (S)	21 (S)	NT
<b>P6A</b>	30 (S)	22 (S)	30 (S)	32 (S)	32 (S)	26 (S)	NT
<b>P4</b>	50 (S)	R	32 (S)	50 (S)	32 (S)	R	NT
<b>P3</b>	28 (S)	R	36 (S)	36 (S)	54 (S)	R	NT
<b>P2B</b>	24 (S)	R	22 (R)	26 (S)	20 (R)	R	NT

**R** : résistant, **S** : sensible, **NT** : non testé.

**Annexe IV :** Les diamètres des zones d'inhibition des souches de *P. aeruginosa* obtenus.

Souche	CAZ	MRP	IMP	TCC
<b>P17sA</b>	18 (R)	S	R	19 (S)
<b>P17sB</b>	20 (R)	S	R	20 (S)
<b>P20A</b>	20 (R)	S	R	R
<b>P13sA</b>	20 (R)	S	R	R
<b>P16A</b>	24 (S)	S	R	R
<b>P15sA</b>	22 (S)	S	R	17 ®
<b>P18</b>	25 (S)	S	R	R
<b>P15A</b>	17 (R)	S	R	R
<b>P12A</b>	23 (S)	S	R	R

**Annexe V :** Milieu Chromagar Orientation utilisé.



## Annexe VI : Phénotypes de résistance des souches résistantes.

Souches	Carbapénèmases	BLSE	OXA-48	Autres MR
P2c				X
P2B				X
S3*				X
S17*				X
S32*				X
S14*				X
S12*				X
S8c		X		X
H2	X			
E4	X			
H4				X
E1				X
P21s				X
P20B				X
P19Sb	X			
P22	X		X	
P19sA				X
P16B	X			
P15sB	X			
P20S				X
P18sA				X

MR : mécanismes de résistance.

**Annexe VII : Composition du milieu cetrimide**

<b>Composition gélose cetrimide</b>	
<b>Ingrédients</b>	<b>gramme/litre</b>
Peptone de gélatine	20 g
Chlorure de magnésium	1,4 g
Sulfate de potassium	10g
Cétrimide	0,3 g
Glycérol	10ml
<u>Gélose</u>	13,6g

**Annexe VIII : Composition du milieu Mac Conkey.**

<b>Composition gélose MacConkey</b>			
<b>Ingrédients</b>	<b>gramme/litre</b>	<b>Ingrédients</b>	<b>gramme/litre</b>
Peptone (Digestion pancréatique de gélatine)	17g	Rouge neutre	30 mg
Protéose peptone (viande et caséine)	3g	Violet de cristal	1 mg
Lactose monohydraté	10g	Gélose	13.5 g
Sels biliaires	1.5g	Eau distillée	1 litre
Chlorure de sodium	5 g	pH Final	7.1 +/- 0.2

**Annexe IX : Composition du milieu EMB**

<b>Composition gélose EMB</b>	
<b>Ingrédients</b>	<b>Gramme/litre</b>
Digeste peptique de tissu animal	10 000
Phosphate dipotassique	2.000
Lactose	5 000
Sucrose	5 000
Éosine – Y	0,400
Bleu de méthylène	0.065
<u>Gélose</u>	13.500



## Résumé :

La cavité buccale humaine abrite une flore bactérienne normale complexe et diversifiée. Plusieurs facteurs peuvent influencer l'installation d'une flore exogène non commensale de bacilles à Gram négatif dans la cavité buccale, ces microorganismes peuvent être résistants aux antibiotiques et producteurs de biofilm. Le but de notre étude est la recherche d'une colonisation de la cavité buccale et de la salive des patients hospitalisés par des bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes et aux C3G. Les différents tests d'identifications et l'antibiogramme standard nous ont permis d'identifier des souches résistantes d'entérobactéries et des souches de *P. aeruginosa* sensibles, ainsi la méthode de la gélose au rouge Congo nous a permis de distinguer les souches résistantes aux antibiotiques productrices de biofilm.

## Abstract:

The human oral cavity is home to a complex and diverse normal bacterial flora. Several factors can influence the installation of a non-commensal exogenous flora of Gram-negative bacilli in the oral cavity; these microorganisms can be resistant to antibiotics and produce biofilm. The aim of our study is to search for colonization of the oral cavity and saliva of hospitalized patients by Gram-negative bacilli resistant to carbapenems and C3Gs. The various identification tests and the standard antibiogram allowed us to identify resistant strains of enterobacteria and sensitive strains of *P. aeruginosa*, thus the method of Congo red agar allowed us to distinguish the resistant strains producers of biofilm.

## ملخص:

يعتبر تجويف الفم البشري موطنًا لأنواع بكتيرية طبيعية معقدة ومتنوعة. يمكن أن تؤثر عدة عوامل على استقرار سلالات خارجية من عصيات سالبة الجرام في تجويف الفم ، ويمكن أن تكون هذه الكائنات الحية الدقيقة مقاومة للمضادات الحيوية وتنتج غشاء حيوي. الهدف من دراستنا هو البحث عن استعمار تجويف الفم ولعاب المرضى في المستشفى بواسطة عصيات سالبة الجرام مقاومة للكاربابينيمات وسيفالوسبورينات الجيل الثالث.

سمحت لنا اختبارات التحديد المختلفة ومقياس المضادات الحيوية بتحديد السلالات المقاومة والسلالات الحساسة، وبالتالي سمحت لنا طريقة أجار الكونغو الأحمر بتمييز السلالات المقاومة المنتجة للبيوفيلم.

