

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



Réf :

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

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Fondamentale

Présenté par :

Melle AMOURA Chaima & Melle AMRANE Nesrine

Thème

**Recherche de bacilles à Gram négatif résistants aux
carbapénèmes et virulents dans la cavité buccale**

Soutenu le :29/06/2024

Devant le jury composé de :

Nom et prénom : MOUICI Kahina	Grade MCB	Président
SALMI Adouda	Grade MCA	Examineur
ZENATI Karima	Grade MCA	Encadreur

Année Universitaire : 2023/2024

Dédicaces

Je dédie ce modeste mémoire à deux personnes qui me sont les plus chers dans ce monde qui m'ont guidé et orienté pour atteindre ce point à vous mes parents,

Mon père «amoura Kamel »et ma mère «ben berkane Karima»

merci de m'avoir aidé et encouragé tout au long de ma vie, vous qui m'avez tous offert, le possible et l'impossible, pour que je puisse arriver là où je suis aujourd'hui,, que Dieu vous procure bonne santé et longue vie.

A mes chères sœur : Kamelia, Sara

Mes adorables et les plus duces Qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études et de les trouvé toujours a mes cotes. Quoi que je dise je ne saurai pas vous remercier comme il faut.

A mon unique frère : Zakaria

Mon cher petite merci encore de m'encourager et d'être la pour moi, dieu te garde pour nous.

A ma famille et mes grands parents

Merci pour tous vous encouragement, soutien, conseils sans oublie mon cousin Dr Amin pour son aide.

A mon 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 souvenir

Chaima

Dédicaces

Du fond de mon cœur, je dédie humblement ce travail à tous ceux qui me sont chers, à tous ceux qui m'ont guidé jusqu'à ce jour mémorable.

A mon cher Papa {Amrane Rachid}

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 nous a laissé la chance de vivre ce bonheur ensemble et de t'exprimer ma fierté et mon respect. J'espère tu me vois et que t'es fière de ta fille adorée.

A ma chère Maman {siad Nabila}

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 franchissant, les obstacles de la vie, Quoi que je fasse ou que je dis, je ne seras 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.

A mes chères sœurs {Hanane et Nada}

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 {Saliha zaghar}

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 fiancé { Bader saadoun}

Qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études, que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A ma deuxième famille

Mon beau-père{Saadoun Faride}, ma belle-mère{Bidouhani Naima}, mon beau-frère{Saadoun Amine} et ma belle-sœur{Saadoun Hana} qui est devenu comme ma grande sœur, merci pour votre gentillesse, votre soutien et votre amour.

A mon binôme {Chaima Amoura}

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

Nesrine

Remerciements

*Tout d'abord, Nous tenons à remercier 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,
Mme ZENATI épse BELHADI K.**

D'avoir accepté de diriger et de suivre ce travail, et pour son soutien, sa disponibilité, sa compétence et ses précieux conseils pour l'élaboration du présent travail.

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

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

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

Mme MOUICI Kahina, 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 **Mme SALMI Adouda**, 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 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 et pour toute personne qui a contribué et aidé de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Merci beaucoup

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 10

Matériel et Méthodes

I. Cadre et objectifs d'étude..... 7

II. Méthodes de prélèvement..... 17

 II.1.Prélèvements de salive 17

 II.2.Prélèvements de la cavité buccale 17

 II.3.Collecte d'échantillon pathologique 18

III. Criblage de bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes 18

IV. Identification des souches résistantes 18

V. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques 19

VI. Recherche de la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) 20

VII. Détection de quelques facteurs de virulence 20

Résultats

I. Répartition des prélèvements 23

II. Criblage de bacilles à Gram négatifs résistants aux carbapénèmes..... 23

III. Identification des souches a Gram négatif 24

IV. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques 24

V. Recherche de la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) 26

VI. Recherche des facteurs de virulence 27

VII. Répartition de souches résistantes et virulentes selon l'origine du prélèvement 28

Discussion 31

Conclusion 35

Références bibliographiques 37

Annexes

Liste des abréviations

ATB : Antibiotique

AMC: Amoxicilline-Clavulanate

BGN : Bacille à Gram Négatif

BLSE : β -Lactamases à Spectre Etendu

CAZ : Céfotaxime

CT : Colistine

CTX: Céfotaxime

C3G: Céphalosporines de 3^{ème} Génération

EUCAST: European Comity on Antibiotic Susceptibility Testing

MTL: Mairi-Touati-Lavigne

ESLD : Etablissement de Soins de Longue Durée

HOMD : Human oral Microbiome Database

CRE :Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae*

NDM-1: New Delhi Metallo-bétalactamase

EPS: Exopolysaccharides

Liste de figures

Figure 01 : Aspects des souches isolées sur gélose Mac Conkey 23

Figure 02 : Différents aspect des souches isolées sur gélose chromagar orientation et sur gélose EMB 23

Figure 03 : Test de synergie négatif chez la souche *E. coli*(MP7). 25

Figure 04 : Mise en évidence de l'activité lipolytique..... 26

Figure 05 : Mise en évidence de l'activité protéolytique 27

Figure 06 : Mise en évidence de l'activité hémolytique 27

Figure 07 : Aspect négatif du String test chez la souche *E.coli* (Mp7) 28

Figure 08 : Diagramme circulaire des souches productrices de biofilm..... 28

Liste des tableaux

Tableau I : Répartition des prélèvements par structures de soins et types de prélèvement.... **16**

Tableau II : Antibiotiques testés sur les souches d'entérobactéries et *A. baumannii* **18**

Tableau III : Répartition des prélèvements positif sur milieu Carba-MTL par structures de soins et par origines de prélèvement **22**

Tableau IV : Sensibilité des souches *Enterobacteriaceae* aux antibiotiques **24**

Tableau V : Répartition des souches *A. baumannii* résistantes à l'imipénème et par structures de soins et par types de prélèvement..... **25**

Tableau VI : Répartition des souches résistantes par origine de prélèvement. **30**

Introduction

Introduction

La cavité buccale, la principale porte d'entrée vers le corps humain, est un environnement complexe et dynamique (Zaatout, 2021). Elle contient plusieurs niches très différentes avec des communautés microbiennes distinctes. Cette dernière est habitée par un large éventail de microorganismes, dont des bactéries, des champignons, des virus, des archées et des protozoaires et possède le microbiote le plus important et le plus diversifié après l'intestin (Zhang et al., 2018 ; Kitamoto et al., 2020 ; Zaatout, 2021, Etienne-Mesmin et al., 2023). Ces microorganismes présentent des relations de commensalisme, de symbiose et de pathogénicité avec l'hôte (Cruz et al., 2022).

La cavité buccale est la partie de la bouche située derrière les gencives et les dents, délimitée au-dessus par les palais durs et mous et en bas par la langue et par la membrane muqueuse la reliant à la partie interne de la mandibule. Elle est constituée des lèvres et de leur paroi interne, de la muqueuse buccale, des dents, des gencives, des deux tiers antérieurs de la langue et du palais dur (Chaudhari et al., 2023).

La complexité de sa structure anatomique (muqueuses spécialisées, l'émail des dents et le flux salivaire), sa connectivité avec l'extérieur et son environnement humide contribuent à la complexité et à la spécificité écologique du microbiote implanté (Li et al., 2022). Par conséquent, tous les microorganismes qui pénètrent dans la bouche ne peuvent pas persister et former le microbiote buccal (Katkowska et al., 2023).

L'environnement présent dans la bouche favorise la colonisation par de microorganismes. Il fournit une source d'eau, de nutriments ainsi qu'une température modérée qui font de la bouche un habitat propice à une grande variété de bactéries (Chaudhari et al., 2023). Également, des facteurs endogènes et exogènes complexes affectent la variabilité et la diversité des microorganismes qui le colonise et le maintiennent dans un équilibre dynamique. Environ 700 espèces bactériennes ont été rapportées dont la plupart sont cultivables, bien que seulement 58 % soient officiellement nommées dans la base de donnée «The Human Microbiome Oral Database » (<http://www.homd.org> – HOMD V3, consulté le 08 Mai 2024).

Chez l'homme en bonne santé, le noyau du microbiome oral est dominé par les membres de six phylums, qui représentent plus de 90 % des taxons identifiés à savoir les membres du phylum *Bacillota* (Firmicutes), *Pseudomonadota* (Proteobacteria), *Actinobacteriota* (Actinobacteria) *Fusobacteriota* (Fusobacteria), *Bacteroidota* (bacteroidetes) et *Spirochaetota* (spirochaetes) (Kitamoto et al., 2020 et Leão et al., 2023). Ces communautés coexistent harmonieusement avec l'hôte, et cette symbiose est avantageuse pour les deux. Toutefois, cette homéostasie peut être plus ou moins modifiée par

notre comportements ou par d'autres facteurs biologiques tels que l'alimentation, hygiène bucco-dentaire, le stress, le tabac, antibiothérapie, le flux salivaire, la formation de biofilm, le site anatomique ainsi que l'état des différentes surfaces buccales (muqueuses, gencives, dents) qui se modifient naturellement avec l'âge (**Cruz et al., 2022**).

La bouche peut servir de point d'entrée à divers agents pathogènes dans le cadre de sa fonction de prise d'air, de boissons, d'alimentations et de parole, ainsi, les sources de contamination par des bactéries non commensal sont divers (**Le et al., 2020**).Egalement, une contamination manu-portée peut être à l'origine de la présence des bactéries d'origine intestinale dans la cavité buccale vue que le profil du microbiote de la main se chevauche fortement avec celui du microbiome oral et intestinal (**Etienne-Mesmin et al.,2023**). Cependant, un déséquilibre de la flore microbienne contribue à la croissance de divers agents pathogènes cliniquement importants, qui sont généralement considérés comme des bactéries « non orales » (**Zaatout, 2021**).

La salive, produite par les glandes salivaires, est cruciale pour maintenir la santé bucco-dentaire. Elle lubrifie la muqueuse buccale, combat les microorganismes pathogènes par la sécrétion, facilite la mastication, la déglutition, la parole et maintient l'équilibre du pH(**Mea et al., 2023**). La salive contient en moyenne 100 millions de bactéries par millilitre, provenant de 600 espèces différentes (**Ghannam et Singh, 2022**). Elle contribue à la formation de la pellicule d'email acquise, modulant l'adhésion des microorganismes et la composition du microbiote buccal. De plus, la salive possède une activité antimicrobienne grâce à diverses protéines et peptides (mucines, lysozyme, immunoglobuline) éliminant les microorganismes exogènes et fournissant des nutriments aux bactéries colonisatrices (**Pedersen et Belstron,2019**).

L'équilibre homéostatique entre l'hôte et la communauté microbienne buccale est crucial pour la santé bucco-dentaire. Ce maintien est assuré par des mécanismes de communication et de régulation bidirectionnels tout au long de la vie(**Li et al., 2022**). Tout déséquilibre peut entraîner des problèmes tels que les caries, les candidoses, la parodontite, les maladies de la muqueuse buccale et l'amygdalite(**Zhang et al., 2018 ; Li et al., 2022**). De plus, les microorganismes buccaux peuvent migrer vers d'autres parties du corps, contribuant à diverses maladies systémiques telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète, le cancer, la pneumonie, les maladies gastro-intestinales et certaines maladies neurologiques(**Zhang et al.,2018 ; Peng, 2022**). Bien que le microbiote buccal et intestinal

Introduction

soient physiquement séparés, des recherches suggèrent que le microbiote buccal fait partie de l'écosystème microbien global de l'intestin (**Etienne-Mesmin et al., 2023**).

Les biofilms buccaux sont des assemblages complexes de microorganismes imbriqués dans un ensemble diversifié de constituants organiques et minéraux provenant de la salive, du liquide gingival et des sécrétions bactériennes. Ils sont responsables d'une action cariogène et sont associés au développement de pathologies courantes telles que la carie dentaire, les inflammations gingivales (**Choudhari et al., 2023**) et limite fortement la durée de vie des prothèses dentaire (**Alexanderet al., 2020**). Malgré les diverses approches thérapeutiques utilisées pour gérer les biofilms buccaux et les infections associées, la résistance aux antibiotiques de certaines bactéries rend certaines procédures inefficaces (**Rath et al., 2021**).

Lorsque l'hygiène bucco-dentaire est compromise, par exemple lors d'une hospitalisation où le patient est alité ou dans le coma, cela peut entraîner une détérioration de la santé bucco-dentaire en raison de l'accumulation de biofilm buccal sur les dents et les prothèses dentaires (**Terezakis et al., 2010 ; Needleman et al., 2012**).Egalement, certains traitements dont le traitement contre le cancer peuvent provoquer la mucité buccale. La relation directe entre la bouche, les voies respiratoires et digestives peut favoriser la transmission de microorganismes, augmentant ainsi le risque d'infections nosocomiales, en particulier chez les personnes ayant une mauvaise hygiène bucco-dentaire, les patients intubés et ceux dont le système immunitaire est affaibli (**Cruz et al.,2022**).

Les bacilles à Gram négatif présentent un risque élevé de colonisation en raison de leur multirésistance aux antibiotiques et sont parmi les principales causes d'infections nosocomiales. Ces bactéries sont classées dans le groupe ESKAPE dont *Acinetobacterbaumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et les entérobactéries productrices de BLSE, de carbapénèmases et de céphalosporinases (AmpC) 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 ;Katkowska et al., 2023**).

L'étude de la pathogenèse de ces bacilles à Gram négatif dans l'écosystème buccal a montré qu'ils peuvent persister dans l'environnement sous-gingival après un débridement parodontal et une intervention chirurgicale, qu'ils sont impliqués en tant qu'agents pathogènes clés dans les cas de maladies parodontales réfractaires, qu'ils sont détectés plus fréquemment et en proportions plus élevées chez les patients dont les implants sont défailants, et qu'ils sont

généralement associés à des infections de la muqueuse buccale chez les patients immunodéprimés (**Zaatout, 2021**).

Les antibiotiques, en particulier les β -lactamines comme l'amoxicilline et l'association amoxicilline/acide clavulanique, sont largement prescrits en dentisterie pour traiter les infections dentaires. Cependant, l'utilisation fréquente de ces antibiotiques peut entraîner le développement de résistances, en particulier à l'acide clavulanique (**Basic et al., 2024**). D'autres familles d'antibiotiques telles que les tétracyclines, le métronidazole, les macrolides et la clindamycine sont également utilisées pour traiter ces infections (**Qiu et al., 2020 ; Ahmadi et al., 2021**).

Les carbapénèmes sont les molécules de choix pour le traitement des infections causées par des bactéries pathogènes productrices de BLSE et d'AmpC. Ces enzymes sont prédominants parmi les souches de la famille des Enterobacterales et ont été associés à des phénotypes de multirésistances responsables d'infections graves et mortelles ainsi que d'épidémies liées aux hôpitaux et aux communautés (**Bradford, 2001**). Toutefois, la production de carbapénémases a encore réduit les options thérapeutiques disponibles pour le traitement de infections causées par des pathogènes d'intérêt clinique appartenant à la famille des *Enterobacterales*, *P. aeruginosa* et *A. baumannii* (**Owusu et al., 2023**).

De nombreuses variantes de carbapénémases ont été détectées, les plus prédominantes étant les enzymes KPC (carbapénémases de classe A), NDM et VIM (métallo-bêta-lactamases de classe B) et les enzymes de type OXA-48 (carbapénémases de classe D) (**Kula et al., 2014**). Les enzymes de classe A résistent aux carbapénèmes et sont inhibés par l'acide clavulanique, quoique faiblement, tandis que les enzymes de classe B sont inhibés par EDTA et reste sensible à l'aztréonam (**Wilson et al., 2018**). En revanche, les carbapénémases de classe D, sont principalement rapportées chez *A. baumannii*, *P. aeruginosa* à l'exception de l'OXA-48 qui est rapportée uniquement chez la famille des Enterobacterales (**Owusu et al., 2023**)

En Algérie, les études antérieures ont principalement évalué le portage de bactéries à Gram négatif à partir d'échantillons fécaux ou rectaux d'origine humaine (**Touati et al., 2008 ; Bakou et al., 2015**) ou animale (**Yousfi et al., 2016, Bachiri et al., 2017 ; Mairi et al., 2019**). La contamination des fruits et légumes consommés crus par des bacilles à Gram négatif résistantes aux carbapénèmes (*bla*-OXA-48 et *bla*-VIM-4), aux C3G (*bla*-CTX-M-15) et à la colistine (*mcr*-1) a été signalée (**Touati et al., 2017 ; Mesbah-Zekar, 2017 ; Chelaghma et**

Introduction

al., 2022). De plus, la contamination des sandwichs par des souches d'entérobactéries productrices de BLSE (*bla*-CTX-M-15 et *bla*CTX-M-14) (**Yaici et al., 2017**) et d'OXA-48 (**Mairi et al., 2019**) a également été rapportée. Les études menées par Chaalal et ses collaborateurs en 2021, ainsi que par Yaici en 2017, ont mis en évidence la contamination de la viande de poulet et du lait de vache crus par des souches productrices d'OXA-48 et de NDM-5 respectivement. Ces recherches suggèrent une possible voie de contamination par ces GNB multirésistantes de la cavité buccale lors de leur consommation par la population.

Pour ces raisons et compte tenu du manque études et d'information sur la prévalence de la présence de ces bacilles à Gram négatif non oraux résistants aux carbapénèmes en Algérie, la présente étude a pour objectif d'évaluer la prévalence de la colonisation orale par ces bactéries potentiellement associés aux infections hospitalières et à la résistance aux antibiotiques. Elle porte également sur la caractérisation de certains facteurs de virulence chez les patients hospitalisés ou consultant dans des cabinets de chirurgie-dentaire.

- ✓ La recherche et l'identification des bacilles à Gram négatif résistants au carbapénèmes et BLSE dans la cavité buccale, la salive et les prélèvements pathologiques.
- ✓ La détermination la sensibilité des souches aux antibiotiques.
- ✓ La détection des mécanismes de virulence des souches résistantes.

Matériel et Méthodes

I. Cadre et objectifs d'étude

Il s'agit d'un travail mené sur une période allant du 15/04/2024 au 30/05/2024 au niveau du laboratoire de Microbiologie 2 de l'Université A.MIRA de Bejaia. Des prélèvements de la cavité buccale et de salive ont été effectués chez deux catégories de patients. La première catégorie concerne les patients hospitalisés et la 2^{ème} catégorie concerne les patients consultants chez des chirurgiens-dentistes. Le tableau ci-dessous représente la répartition des prélèvements par structure de soin et types de prélèvement.

Tableau I : Répartition des prélèvements par structure de soin et types de prélèvement.

Types de prélèvement	H .Akbou	H. Kherrata	Dentiste Barache	Dentiste Zerarga	Dentiste Mehdi	Dentiste Athmani
Ecouvillonnage de la cavité buccal	29	40	7	3	9	7
salive	29	40	7	3	10	7
Dents	0	0	5	3	4	4
Abcès	0	0	2	0	0	1
Kystes	0	0	0	0	0	1

II. Méthodes de prélèvement

II.1.Prélèvements de salive : Pour chaque patient, un prélèvement de crachat a été réalisé dans des boites stériles contenant 2 ml du bouillon nutritif. Les prélèvements ont été acheminés directement au laboratoire de Microbiologie.

II.2.Prélèvements de la cavité buccale : Un prélèvement oral a été effectué en frottant les deux côtés des joues, des gencives, de la langue, de la surface des dents et du palais à l'aide d'un écouvillon stérile. L'écouvillon a été réintroduit dans un tube à essai stérile contenant 2 ml du bouillon nutritif puis directement transportés au laboratoire de Microbiologie.

II.3.Collecte d'échantillon pathologique : Des extractions de dents, d'abcès et de kystes ont été collectées au niveau des cabinets des chirurgiens-dentistes dans des tubes à essais stériles contenant 3 ml du bouillon nutritif.

III. Criblage de bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes

III.1. Sélection de souches résistantes à l'ertapénème par bouillon Carba MTL Brouth

A partir des bouillons d'enrichissement positifs, 50µl ont été prélevés et ajoutés à 1ml du bouillon CarbaMTL(Mairi, Touati, Levigne)et incubés à 37°C /24h.Ce milieu contient 0.5 µg/ml d'ertapénème, 250 µg/ml de cloxacilline et 64 µg/ml de vancomycine et permet la sélection des bacilles à Gram négatifs producteurs de carbapénémases. Il permet également d'inhiber les souches productrices de céphalosporinases et des bactéries à Gram positives (Mairi et *al.*, 2019).

III.2. Isolement et purification des souches

Les bouillons MTLpositifs après 24h d'incubation à 37C°, ont été ensemencés sur des boîtes contenant de la gélose Mac Conkey ou milieu VRBL « Violet Rouge Bile Lactose » Après incubation, les boîtes ont été examinées selon les caractères culturels des souches obtenus (forme, couleur, aspect, l'odeur). Le repiquage a été effectué pour chaque type de colonies successivement sur la même gélose jusqu'à obtention d'une culture pure.

IV. Identification des souches résistantes

L'identification bactérienne a été réalisée en premier lieu par un criblage sur gélose Chromagar TM orientation. Ce milieu contient des substrats chromogènes permettant la coloration de la colonie suite à une dégradation par une enzyme bactérienne spécifique et la libération du chromophore. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, les groupes bactériens ont été reconnus en fonction de la différence de couleur (**Annexe II; III**). L'identification des espèces a été réalisée comme suit ;

1. Les colonies de couleur bleu métallique appartenant au groupe KES ont été distinguées sur la base de présence de l'uréase, production d'indole, utilisation du citrate comme seul source de carbone et de la fermentation des sucres sur milieu TSI;
2. Les colonies de couleur rose suspectée d'être *E. coli* ont été confirmées par le repiquage sur gélose EMB pour l'observation du reflet vert métallique et de la recherche de la production d'indole à 44°C;
3. Les colonies de couleur blanc laiteux et suspectées d'être des *A. baumannii* ont été confirmées par la croissance à 44°C, utilisation du citrate comme seul source de carbone et de la fermentation négative des sucres sur milieu TSI

V. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

La sensibilité des souches *vis-à-vis* de deux familles d’antibiotiques (tableau N°2)a été déterminée par la méthode de l’antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations de l’EuropeanCommittee on AntimicrobialSusceptibilityTesting et du Comité de l’antibiogramme de la Société Française deMicrobiologie (EUCASTCA-SFM, 2023).

À partir d’une culture bactérienne de 24h, on réalise une suspension en dissociant 4 à 5 colonies dans 4 ml d’eau physiologique stérile pour un inoculum d’environ 0.5 Mac Ferland ($\approx 10^8$ cellules/ml). Les boîtes Muller Hinton ont étéensemencées avec les souches à tester par écouvillonnage et des disques d’antibiotiques ont été déposés à la surface des géloses à l’aide d’une pince stérile. La sensibilité des souches *A. baumannii* a été test uniquement *vis-à-vis* de l’imipénème.

Les boîtes ont été ensuite incubées pendant 24h à 37°C. 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) et et le comité de l’antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (EUCAST CA-SFM, 2023).

Tableau II : Antibiotiques testés *vis-à-vis* des souches d’entérobactéries et *A. baumannii*.

Antibiotiques	Abréviation	Charge en μg	Marque	Diamètres critiques selon (CA-SFM, 2023) et (ECAST, 2023)			
				Entérobactérie		<i>A. baumannii</i>	
				S \geq	<R	S \geq	<R
Amoxicilline +acide clavulanique	AMC	20/10	Bioanalyse	19	19	-	-
Céfotaxime	CTX	30	Bioanalyse	26	23	-	-
Céftazidime	CAZ	30	Bioscan	26	21	50	17
Céfoxitine	FOX	30	Bioanalyse	18	15	-	-
Imipénème	IMP	10	Liofilchem	22	19	50 \geq	<20
Ertapénème	ETP	10	OXOID	≥ 28	<26	-	-

VI. Recherche de la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE)

Le test de synergie consiste à placer des disques de Céfotaxime et Céfotaxime et Céfotaxime à une distance de 20 mm centre à centre d'un disque Amoxicilline-acide clavulanique. Le test est considéré comme positif lorsqu'une image synergie est observée entre les disques de Céfotaxime et/ou céftazidime, aztréonam et le disque d'amoxicilline-acide clavulanique, ce qui donne souvent une zone de forme caractéristique appelée "bouchon de champagne (Jarlier et al., 1988).

VI. Détection de quelques facteurs de virulence

VII.1. Recherche de la production de lipase : Les isolats ont été repiqués sur une gélose additionnée de Tween 80. Après 24 heures d'incubation à 37°C, l'apparition d'une zone claire autour des colonies indique un résultat positif (Wand et al., 2011).

VII.2. Recherche sur la production de protéase : Les isolats ont été repiqués sur une gélose additionnée de lait écrémé. Après 24 heures d'incubation à 37°C, l'apparition d'une zone claire autour des colonies indique une protéolyse de la caséine (Noomi, 2018).

VII.3. Recherche de l'hémolysine : Les isolats ont été repiqués sur gélose au sang contenant 5% (vol/vol) de sang de mouton. Après 24 heures d'incubation à 37°C, l'apparition d'une zone claire autour des colonies indique la présence de l'activité hémolytique (Jasm et Yassein, 2020).

VII.4. Test d'hyperviscosité : Le phénotype d'hyperviscosité des souches bactérienne a été déterminé à l'aide d'un string test modifié. La formation d'un filament visqueux d'au moins 0.5 cm a été considérée comme positive (Mazloun et al., 2016).

VII.5 Recherche de la formation de biofilm sur microplaques

Les isolats ont été cultivés dans 3 ml de bouillon nutritif pendant 24h à 37°C puis une dilution à 1/100 a été réalisée. Des aliquotes de 50 μ L ont été transférées dans les puits d'une microplaque en polystyrènes de 96 puits contenant au préalable 100 μ L du bouillon Mueller Hinton. Les plaques ont été par la suite incubées à 37 °C pendant 24 heures. Ensuite, les

plaques ont été délicatement lavées trois fois avec 300 μL d'eau physiologique stérile, suivi d'une coloration au cristal violet à 1 % pendant 15 minutes. Au final les plaques ont été lavées par immersion dans un bac d'eau 10 fois pour éliminer le cristal violet non lié. Les biofilms colorés ont été solubilisés dans 200 μL d'acide acétique glacial à 33% pendant 15 minutes, puis dilués 10 fois. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 590 nm avec spectrophotomètre (**Le et al ., 2020**).

La classification des résultats obtenus présente sur la base du DO témoin. Les souches ont été classées comme suit : $\text{DO} \leq \text{Dot}(\text{Témoin})$: non formatrice du biofilm, $\text{DOt} \times 2 \leq \text{DO} \leq \text{DOt} \times 4$: Modérée, $\text{DOt} \times 4 \leq \text{DO}$: Fortement formatrice du biofilm (**Christensen et al., 1985**)

Résultats

I. Répartition des prélèvements

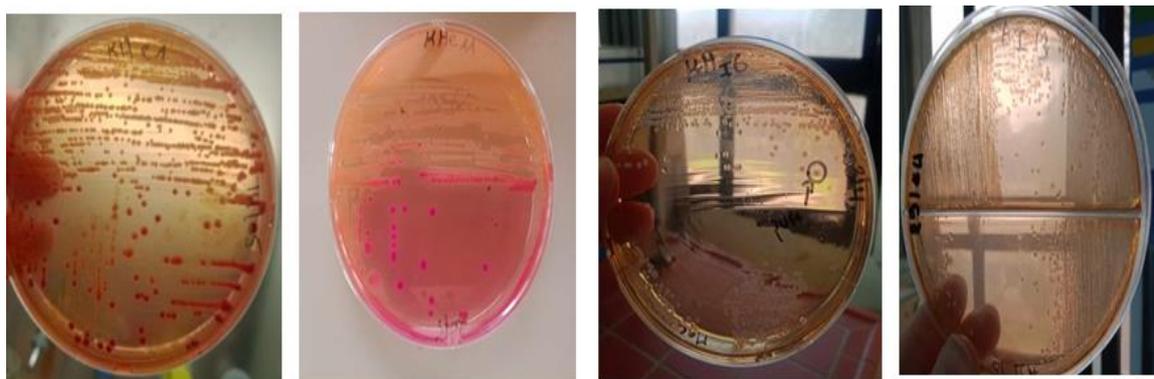
Durant cette étude, 212 échantillons ont été analysés dont 100 ont été effectués chez les patients hospitalisés (EPH Akbou et EPH Kherrata) et 112 ont été effectués chez des patients consultants chez des chirurgiens-dentistes. La répartition du nombre de prélèvement par structures de soins et par origine de prélèvement est représentée en Annexe I.

II. Criblage de bacilles à Gram négatifs résistants aux carbapénèmes

L'enrichissement sur bouillon nutritif a été positif pour 207 échantillons, parmi lesquels 92 étaient positifs sur milieu CarbaMTL. À partir des échantillons positifs obtenus sur bouillon MTL, un total de 23 souches de bacilles à Gram négatif ont été isolées et purifiées sur gélose Mac Conkey. Parmi ces souches, 15 sont des bactéries non fermentaires (figure 1a) et 8 appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (figure 1b). Le tableau ci-dessous présente la répartition des prélèvements positifs sur milieu Carba-MTL et du nombre des souches isolées par structures de soins et par origine de prélèvement.

Tableau III : Répartition des prélèvements positif sur milieu Carba-MTL et du nombre de souches isolées par structures de soins et par origine de prélèvement.

Structures de soins	Nombres de prélèvement	Origines de prélèvement	MTL positif	Nombre de souches
EPH Akbou	57	Ecouvillonnage	7	29
		Salive	20	28
EPH Kherrata	80	Ecouvillonnage	29	40
		Salive	21	40
Dentistes	112	Ecouvillonnage	2	26
		Salive	5	27
		prélèvement pathologiques	8	20



a: Aspect des souches d'entérobactéries

b. Aspect des souches non fermentaire

Figure 01 : Aspects des souches isolées sur gélose Mac Conkey

III. Identification des souches a Gram négatif

Trois groupes bactériens ont été identifiés en se basant sur les caractéristiques biochimiques et l'aspect des souches bactériennes sur gélose chromagar TM orientation.

Une souche d'*E. coli* dont les colonies étaient de couleur rose a été confirmée par la présence d'éclat métallique sur gélose EMB et la production d'indole à 44°C. Parmi les 07 souches appartenant au groupe K-E-S pour « Klebsiella-Enterobacter-Serratia » 04 étaient des *Enterobacterspp.* et 03 des *K. oxytoca*.

Les caractérisations biochimiques et aspect des souches sur gélose chromagar-TM orientation sont rapportées en (AnnexeII ; AnnexeIII).



Couleur rose sur gélose chromagar : *E. coli*(MP7)

Couleur bleu métallique : groupe *KES* (Bs6, Ae11, Khs12, Khe, Ae8)

Aspect vert métallique de la souche *E. coli*(Mp7)

Figure 02 : Différents aspect des souches isolées sur gélose chromagar orientation et sur gélose EMB

IV. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

IV.1. Etude de la sensibilité des souches d'entérobactéries

La sensibilité des souches d'entérobactéries résistantes à 0.5µg/ml d'ertapénème a été testée par la méthode de l'antibiogramme standard sur gélose Mueller Hinton. Après interprétation des résultats, 07/08 souches ont montré une résistance à l'ertapénème ainsi qu'une sensibilité réduite vis-à-vis des céphalosporines de 3ème génération (CTX et/ou CAZ) testées (tableau IV). Toutes les souches ont présenté une résistance à l'amoxicilline. Les souches de *K. oxytoca* étaient sensibles à la céfoxitine, tandis que les souches d'*Enterobactersp.* étaient résistantes.

Tableau IV : Sensibilité des souches d'entérobactéries aux antibiotiques

Code	Espèce	Structure de soin	Origine	AMC		CAZ		CTX		ERT/IMP		FOX	
Ae11	<i>K. oxytoca</i>	EPH Akbou	Cavité buccale	6	R	24	I	32	S	6	R	26	S
Ae8	<i>K. oxytoca</i>	EPH Akbou	Cavité buccale	6	R	ND	ND	25	I	21	I	25	S
KHe11	<i>K. oxytoca</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	6	R	24	I	30	S	23	S	23	S
KHe12	<i>Enterobactersp.</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	6	R	23	I	6	R	6	R	6	R
KHs12	<i>Enterobactersp.</i>	EPH Kherrata	Salive	6	R	6	R	6	R	6	R	6	R
bs6	<i>Enterobactersp.</i>	Dentiste Athmani	Salive	6	R	6	R	20	R	6	R	6	R
KHe1	<i>Enterobactersp.</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	6	R	6	R	35	S	6	R	27	S
MP7	<i>E. coli</i>	Dentiste Mehdi	Dents	6	R	6	R	6	R	6	R	6	R

IV.2. Etude de la sensibilité des souches d'*A.baumannii* à l'imipénème

Les souches d'*A. baumannii* isolées dans cette études sont toutes résistante à l'imipénème. Le tableau ci-dessous montre la répartition des souches résistantes par structures de soins et par types de prélèvement.

Tableau V : Répartition des souches *A. baumannii* résistantes à l'imipénème par structures de soins et par types de prélèvement

Code	Espèce	Structure de soin	Origine	IMP	
AII3	<i>A. baumannii</i>	EPH Akbou	Salive	6	R
KHII9	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Salive	6	R
KHII21	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Salive	6	R
KHI19	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	6	R
KHI11	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	6	R
KHI12	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	6	R
KHI21	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	6	R
KHI1	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	6	R
AII4	<i>A. baumannii</i>	EPH Akbou	Salive	6	R
KHII19	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Salive	6	R
AII12	<i>A. baumannii</i>	EPH Akbou	Salive	6	R
AII7	<i>A. baumannii</i>	EPH Akbou	Salive	6	R
KHI8	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	6	R
AII2	<i>A. baumannii</i>	EPH Akbou	Salive	6	R
AII11	<i>A. baumannii</i>	EPH Akbou	Salive	6	R

V. Recherche de la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE)

Le test de synergie réalisé sur les 08 souches d'entérobactéries était négatif. Pour les souches *d'Enterobactersp.* naturellement résistantes à la céfoxitine, l'absence d'une synergie ne signifie pas nécessairement l'absence de production de BLSE (voir figure ci-dessous). Cependant, il est recommandé de réaliser un test de synergie en présence de 250 μ g/ml de cloxacilline pour le confirmer.



Figure 03 : Test de synergie négatif chez la souche *E. coli* MP7

VII. Recherche des facteurs de virulence

VII.1. Recherche de l'activité lipolytique

La production de lipase, se traduisant par la formation d'un halo clair autour des colonies, a été observée chez 17 souches dont 3 *K. oxytoca*, 4 *Enterobactersp.*, 10 *A.baumannii* (Annexe IV). La figure ci-dessus illustre un résultat de production de lipase positif et négatif.



Figure 04 : Mise en évidence de l'activité lipolytique

(-) : Absence; (+) : Production modérée ; (++) : Production importante

VII.2. Recherche de l'activité protéolytique

La production de protéase qui se manifeste par la dégradation de la caséine et l'apparition d'une zone claire autour de la colonie a été observée uniquement chez 03 souches d'entérobactérie à savoir la souche Ae8 (*K. oxytoca*), Khe11(*K. oxytoca*), Mp7(*E.coli*) (Annexe IV) .La figure ci-dessus illustre un résultat de production de protéase positif et négatif.

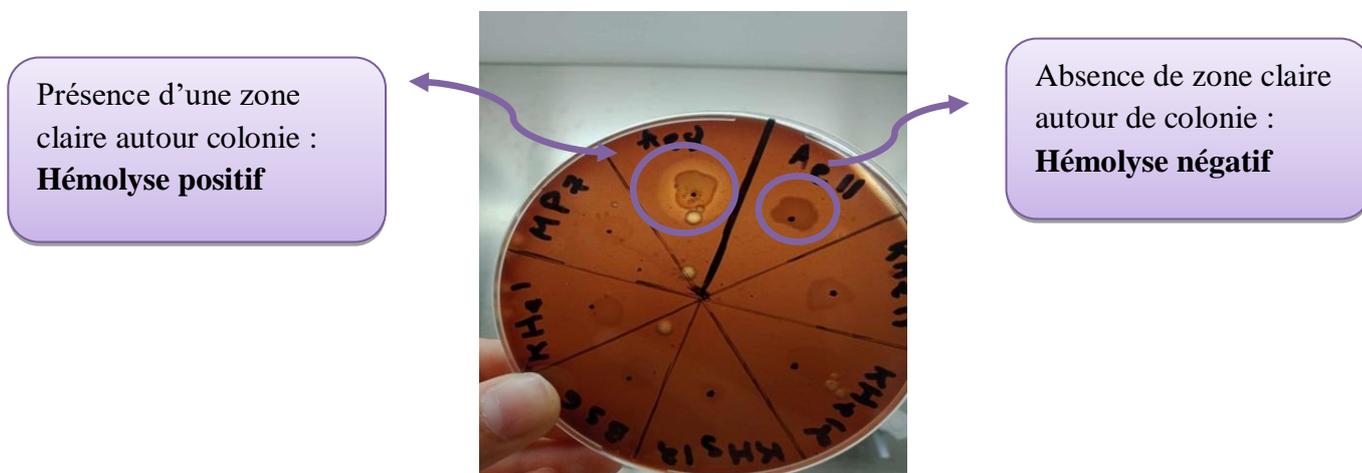


Figure 05 : Mise en évidence de l'activité protéolytique

(-) : Absence de protéolyse ; (+) : présence de protéolyse

VII.3. Recherche de l'activité hémolytique

L'apparition d'une zone claire autour des colonies a été observée uniquement chez la souche *E. coli* (Ae8) ce qui indique la présence d'une activité hémolytique de type B (Annexe IV). La figure ci-dessous illustre les résultats obtenus concernant la recherche de l'activité hémolytique.



Présence d'une zone claire autour colonie :
Hémolyse positif

Absence de zone claire autour de colonie :
Hémolyse négatif

Figure 06 : Mise en évidence de l'activité hémolytique

VII.4. Recherche de l'hyperviscosité

Le test de string a révélé l'absence du caractère d'hyperviscosité chez toutes les souches d'entérobactéries et d'*A. baumannii* testées (figure 07).



Figure 07 :Aspect négatif du String test chez la souche Mp7(*E.coli*)

VII.5.Recherche de la formation de biofilm sur microplaques

La recherche de la production de biofilm sur microplaques a montré que 17souches sont capable de former un biofilm dentaire dont 11 souches sont des *A.baumannii*, 2 souches de *K. oxytoca* et 4souche d'*Enterobactersp.* Les résultats obtenus sont représentés en **annexe V**. La figure ci-dessous montre le pourcentage de souches formatrices ou non de biofilm.

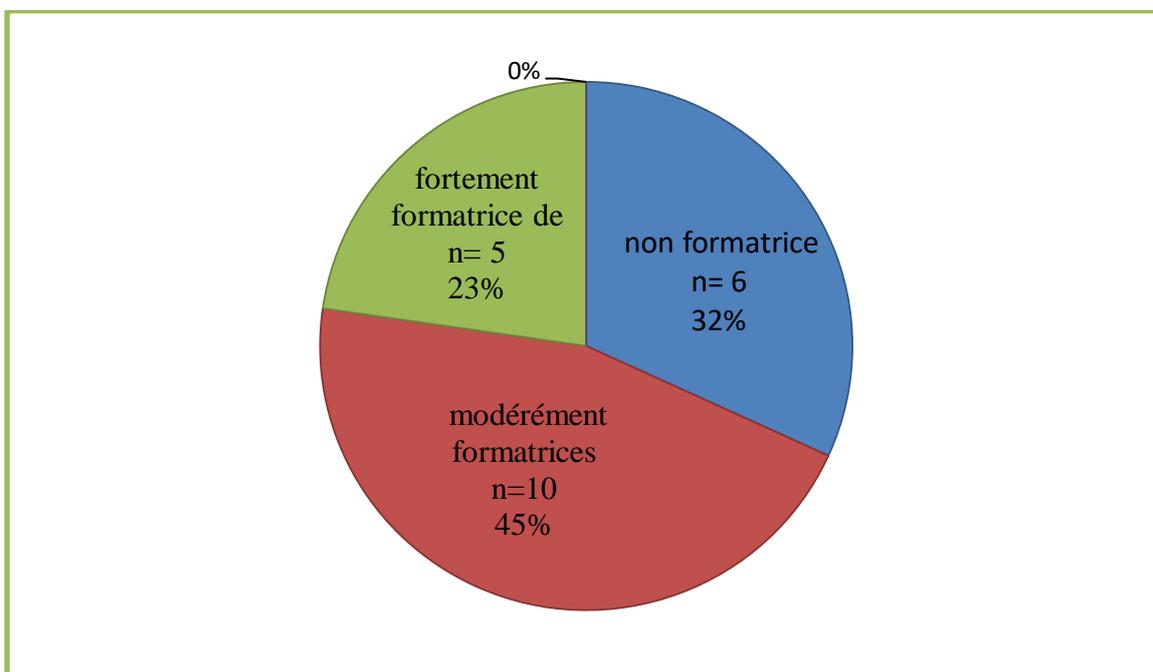


Figure 08 : Diagramme circulaire des souches formatrices ou non de biofilm

VII. Répartition de souches résistantes et virulentes selon l'origine du prélèvement

D'après le tableau suivant, on remarque un nombre élevé (21/24) de souches résistantes aux carbapénèmes isolées de patients hospitalisés. Tandis que, une souche de *E. coli* et une souche d'*Enterobactersp.* ont été isolées de dents et de salives de patients consultant chez les chirurgien-dentiste.

On remarque également que le nombre de souches résistantes aux carbapénèmes est de 22 sur 23, ce qui représente un taux élevé, et que 20 sur 23 sont résistantes au C3G. La souche **K. oxytoca** (Ae8) possède un pouvoir protéolytique, lipolytique et hémolytique, ce qui en fait une souche très virulente capable de causer des dommages à l'hôte. De plus, 17 souches ont un pouvoir lipolytique et 3 souches produisent des protéases. La formation de biofilm a été observée chez 17 souches, ce qui indique que ces souches sont également virulentes et protégées lors d'une antibiothérapie.

Résultats

Tableau VI : Répartition de souches résistantes et virulentes par l'origine de prélèvement.

Code	Espèce	Structure de soin	Origine de prélèvement	Résistance	Résistance	Facteurs de virulences				
				aux C3G	aux carbapénèmes	Lipase	Protéase	Hémolyse	hyperviscosité	Biofilm
Ae11	<i>K. oxytoca</i>	EPH Akbou	Cavité buccale	-	R	++	-	-	-	+
Ae8	<i>K. oxytoca</i>	EPH Akbou	Cavité buccale	-	R	++	+	+	-	-
KHe11	<i>K. oxytoca</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	-	S	+	+	-	-	+
KHe12	<i>Enterobactersp.</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	+	R	++	-	-	-	+
KHs12	<i>Enterobactersp.</i>	EPH Kherrata	salive	+	R	++	-	-	-	+
bs6	<i>Enterobactersp.</i>	dentiste	salive	+	R	+	-	-	-	+
KHe1	<i>Enterobactersp.</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	+	R	+	-	-	-	+
MP7	<i>E. coli</i>	dentiste	Dent	+	R	-	+	-	-	-
AII3	<i>A. baumannii</i>	EPH Akbou	salive	+	R	+	-	-	-	+
KHII9	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	salive	+	R	+	-	-	-	+
KHII21	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	salive	+	R	++	-	-	-	+
KHI19	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	+	R	+	-	-	-	+
KHI11	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	+	R	++	-	-	-	+
KHI12	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	+	R	-	-	-	-	+
KHI21	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	+	R	+	-	-	-	-
KHI1	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	Cavité buccale	+	R	+	-	-	-	+
AII4	<i>A. baumannii</i>	EPH Akbou	salive	+	R	++	-	-	-	-
KHII19	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	salive	+	R	+	-	-	-	+
AII12	<i>A. baumannii</i>	EPH Akbou	salive	+	R	-	-	-	-	+
AII7	<i>A. baumannii</i>	EPH Akbou	salive	+	R	-	+	-	-	+
KHI8	<i>A. baumannii</i>	EPH Kherrata	salive	+	R	-	-	-	-	+
AII2	<i>A. baumannii</i>	EPH Akbou	salive	+	R	+	-	-	-	-
AII11	<i>A. baumannii</i>	EPH Akbou	salive		R	-	-	-	-	-

Discussion

La bouche humaine présente des caractéristiques anatomiques et physiologiques favorisant la prolifération microbienne (Leao et al., 2015). Selon l'étude sur la charge mondiale de morbidité, la santé bucco-dentaire représente un défi majeur et souvent négligé pour la santé publique mondiale (Bernabe et al., 2017). L'utilisation excessive d'antibiotiques est identifiée comme l'un des principaux facteurs contribuant à l'augmentation de la résistance aux antibiotiques, favorisant ainsi l'émergence de pathogènes résistants capables de développer une multirésistance à plusieurs antibiotiques simultanément (Charra et al., 2019)."

Chez les personnes en bonne santé, la colonisation sporadique des bacilles à Gram négatif dans la cavité buccale n'est pas considérée comme faisant partie naturellement du microbiote buccal. Cependant, leur présence dans ce site représente un risque potentiel qui peut augmenter dans des conditions spécifiques telles que l'hospitalisation, les troubles bucco-dentaires (dysbiose) et d'autres infections systémiques (katkowska et al., 2023).

Durant notre étude, nous avons isolé 23 bacilles à Gram négatif à partir de la cavité buccale de patients admis aux services de médecine interne des EPH d'Akbou et Kherrata, ainsi que d'autres services de dentisterie. Parmi eux, nous avons identifié 8 entérobactéries et 15 souches d'*Acinetobacter baumannii*. Le et ses collaborateurs (2020) ont également signalé la présence de bactéries résistantes aux antibiotiques dans l'écosystème buccal des patients admis dans établissement de soins longue durée, incluant des types de bactéries à Gram négatif comme *Acinetobacter*, *Enterobacteriaceae* et *Pseudomonas spp.* Une étude similaire menée par Leao et ses collaborateurs (2015) a également révélé un taux élevé de colonisation par les bacilles à Gram négatif dans la cavité buccale, comprenant notamment des entérobactéries et des non-fermenteurs comme *Acinetobacter* et *Pseudomonas*.

Malgré les travaux publiés qui rapportent la présence des bacilles à Gram négatif résistant aux antibiotiques dans la cavité buccale sont rares en algérie, Zaatout (2021) a rapporté la présence des bactéries non orales dans la cavité buccale, notamment les *Entérobactériaceae*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* et *P. aeruginosa*. . Cependant, plusieurs études ont documenté la colonisation par ces bactéries résistantes dans divers environnements. Tafoukt et ses collaborateurs (2017) ont observé la contamination des eaux de rivières par des Entérobactéries produisant des enzymes de type OXA-48(Tafoukt et al.,2017) , également Bandou et ses collaborateurs (2023) qui ont identifié *Escherichia coli* et *Salmonella* dans les fientes d'oiseaux domestiques à Tizi-Ouzou (Bandou et al., 2023).

Les antibiotiques ont sans aucun doute révolutionné la médecine ainsi que la santé et la survie des patients atteints d'infections potentiellement mortelles, étant néanmoins exempts d'effets indésirables potentiels, ainsi que du risque de dysbiose oral, de résistance aux antimicrobiens et des conséquences qui en résultent pour la santé du patient et pour les finances publiques (Contaldo et al., 2023). Concernant les molécules d'antibiotiques étudiées, des taux de résistance élevés ont été enregistrés chez les souches d'entérobactéries vis-à-vis de l'Amoxicilline+Acide clavulanique (100%) et des taux réduits vis-à-vis de la céfoxitine, céfotaxime et ceftazidime (50%) et (75%) pour l'ertapénème. Chez *Acinetobacter baumannii* un taux de résistance de 100% a été obtenu vis-à-vis de l'imipénème.

Des études antérieures ont démontré qu'environ 12 % des dentistes prescrivent de manière adéquate des antibiotiques comme intervention et traitement prophylactiques. À cet égard, des rapports précédents ont mentionné que l'antibiotique le plus couramment prescrit dans la pratique dentaire est l'amoxicilline suivie de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique avec une proportion (51.1%) ce qui est inquiétant car ces antibiotiques à spectre élargi sont plus susceptibles d'induire le développement de la résistance (Ahmadi et al., 2021)

Dans l'étude de Kajihara et ses collaborateurs (2023), il a été démontré que 54,5 % (97/178) des participants étaient porteurs d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques (ARB) et que 42,7 % (76/178) étaient porteurs d'entérobactéries produisant des β -lactamases à spectre étendu (BLSE). La proportion de porteurs d'entérobactéries produisant des BLSE (42,7 %) dans cette étude était élevée. En revanche, notre étude n'a pas détecté de BLSE parmi les souches d'entérobactéries, contrairement à une étude chinoise de 2014 qui a signalé une proportion élevée de BLSE (46,9 %) (Kajihara et al., 2023).

Notre étude a révélé que toutes les souches d'entérobactéries étaient résistantes à l'ertapénème et que toutes les souches d'*Acinetobacter* étaient également résistantes à l'imipénème, indiquant ainsi la production de carbapénémases par ces souches. Santucci et ses collaborateurs (2023) confirment que la prescription des CP était conforme aux recommandations nationales dans 73% des cas, plus souvent dans les services de réanimation, pédiatrie et hématologie que dans les services de médecine et surtout de chirurgie. Cela mène à l'apparition de la résistance aux carbapénèmes avec un taux élevé dans les cas hospitaliers. (Santucci et al., 2023).

Les facteurs de virulence jouent un rôle important dans le mécanisme de pathogénicité qui permettent de causer des dommages à l'hôte offrent des avantages aux microorganismes et leur confèrent des caractéristiques qui leur permettent de survivre dans différentes niches avec différentes pressions sélectives (**cepas et al., 2020**)

Les bactéries productrices de lipase présentent une activité lipolytique, ce qui leur confère un facteur de virulence en pathologie humaine. Dans notre étude, nous avons identifié 7 souches d'entérobactéries et 10 souches d'*Acinetobacter* produisant de la lipase. Une étude antérieure menée par Wand et ses collaborateurs (2011) a mis en évidence le rôle de la lipase dans la virulence des bactéries responsables de diverses infections humaines, y compris urinaires (**Wand et al., 2011**).

Les protéases appartiennent à un groupe d'enzymes catalytiques, dont la fonction est d'hydrolyser les liaisons peptidiques des protéines. Elle joue un rôle primordial dans la virulence des souches bactériennes (**Kolar, 2013**). Dans notre étude, nous avons mis en évidence la production de protéase chez 3 souches d'entérobactéries. Ce qui est en accord avec ceux de Hassan et ses collaborateurs (2011), qui ont également caractérisé la production de lipase par des entérobactéries associée au facteur de virulence. (**Hassan et al., 2011**).

L'hémolysine est une substance protéique pouvant causer une destruction des globules rouges, associée à la nécrotoxicité et à la cytotoxicité des cellules en formant des pores dans la membrane plasmique des érythrocytes (**Noomi, 2018**). La production d'hémolysine en tant que facteur de virulence chez les bactéries impliquées dans des infections a été démontrée par plusieurs études, notamment celles de Hassan et al. (2011), Rajkumar et al. (2016) et Noomi (2018). Noomi a rapporté une détection de production d'hémolysine chez 61,5 % des isolats étudiés. Dans notre étude, une seule souche parmi les isolats étudiés a été observée pour produire de l'hémolysine.

La formation de biofilms joue un rôle crucial dans la survie et la sélection des bactéries dans leur environnement, tout en les protégeant contre la phagocytose et les mécanismes de défense de l'hôte, ce qui pose de nombreux défis en santé publique (**Hassan et al., 2011**). La matrice de biofilm constitue une barrière à la pénétration des antibiotiques, ce qui motive de nombreuses équipes de recherche à étudier le développement des biofilms et les facteurs de virulence associés (**Le et al., 2020**). Dans notre étude, nous avons identifié 15 souches étaient positives pour la formation de biofilms sur des microplaques en polystyrène, 10 sont modérément positif et 5 souches sont fortement positif.

Conclusion

Conclusion

Cette étude a mis en évidence la présence de bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes et virulents dans la cavité buccale des patients hospitalisés au service de médecine interne (hommes, femmes, pédiatres) et de dentisterie. Ces micro-organismes présentent un intérêt médical significatif en raison de leur implication dans l'épidémiologie des infections nosocomiales et leur forte résistance aux antibiotiques.

Menée au laboratoire de microbiologie 2 de l'Université de Bejaia, l'étude a porté sur 23 souches, comprenant 1 *E. coli*, 3 *K. oxytoca*, 4 *Enterobacter sp* et 15 souches d'*Acinetobacter baumannii*. Les résultats ont permis d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques ainsi que certains facteurs de virulence (lipolyse, protéolyse, hémolysine, formation de biofilms) de ces souches présentes dans la cavité orale des patients.

Les résultats microbiologiques indiquent la présence d'un microbiote persistant, en raison de la capacité de ces souches à former des biofilms et à résister à l'action bactéricide de la salive. Cette résistance est particulièrement préoccupante en milieu hospitalier et constitue une menace majeure pour la santé publique, notamment en ce qui concerne la propagation de souches résistantes aux carbapénèmes et virulentes dans le microbiote oral, et potentiellement intestinal.

Les résultats obtenus au cours de notre étude restent préliminaires et méritent d'être approfondis et complétés par :

- ✓ La réalisation d'un nombre plus important de prélèvements ainsi que la comparaison entre les résultats avant et après antibiothérapie.
- ✓ L'évaluation de la sensibilité à certaines solutions désinfectantes pour la bouche (bain de bouche) et d'autres facteurs de virulence tels que les sidérophores, les capsules.
- ✓ La confirmation de l'identification des souches par d'autres tests, comme les tests de réduction des nitrates ou des méthodes moléculaires.

Références bibliographiques

A

- Ahmadi, H., Ebrahimi, A., & Ahmadi, F. (2021). Antibiotic therapy in dentistry. *International journal of dentistry*, 2021.
- Ansiliero, R., Gelinski, J. M. L. N., Samistraro, Q. L., Baratto, C. M., Almeida, C. A., & Locatelli, C. (2021). Pathogenic microbial profile and antibiotic resistance associated with periodontitis <https://doi.org/10.1007/s12088-020-00914-2>
- Atmania, B., & Hamidia, M. (2023). Étude de la sensibilité à la colistine chez *Klebsiella pneumoniae* à l'EHS Salim Zemirli

B

- Bachiri, T., Bakour, S., Ladjouzi, R., Thongpan, L., Rolain, J. M., & Touati, A. (2017). High rates of CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in wildboars and Barbary macaques in Algeria. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.10.005>
- Bakour, S., Olaitan, A. O., Ammari, H., Touati, A., Saoudi, S., Saoudi, K., & Rolain, J. M. (2015). Emergence of colistin- and carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ST2 clinical isolate in Algeria: first case report. <https://doi.org/10.1089/mdr.2014.0214>
- Bandou, A. et Rahal, W. (2023). Portage d'*Escherichia coli* et *Salmonella* spp présents au niveau des fientes d'origine aviaire dans la wilaya de Tizi-ouzou
- Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. <https://doi.org/10.1128/cmr.14.4.933-951.2001>
- Bolla, C., Di Pietrantonj, C., Ferrando, E., Pernecco, A., Salerno, A., & Orsi, M. et Chichino, G. (2020). Exemple de programme de gestion des antimicrobiens dans un hôpital communautaire en Italie <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2019.11.008>
- 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.
- Blake, B. E., & Fenton, S. E. (2020). Early life exposure to per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) and latent health outcomes: A review including the placenta as a target tissue and possible driver of peri- and postnatal effects. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2020.152565>

C

- Cepas, V. et Soto, SM (2020). Relation entre virulence et résistance chez les bactéries Gram-négatives <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100719>
- 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.
- Chelaghma, W., Loucif, L., Bendjama, E., Cherak, Z., Bendahou, M. et Rolain, JM (2022). Occurrence de bactéries Gram négatives résistantes aux céphalosporines, aux carbapénèmes et à la colistine à spectre étendu dans les légumes frais, un problème croissant pour la santé humaine en Algérie. ; <https://doi.org/10.3390/antibiotics11080988>
- Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D.M., & Beachey, E. H. (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. <https://doi.org/10.1128/jcm.22.6.996-1006.1985>
- Contaldo, M., D'Ambrósio, F., Ferraro, GA, Di Stasio, D., Di Palo, MP, Serpico, R. et Simeone, M. (2023). Les antibiotiques en dentisterie <https://doi.org/10.3390/ijerph20116025>
- Choudhari, S., Krithikadatta, J., Vejendla, I., Swathi, S. et Doble, M. (2023). Interactions microbiennes dans le biofilm oral : évaluation des interventions thérapeutiques et de l'émergence de la résistance [DOI: 10.7759/48021](https://doi.org/10.7759/48021)
- Charra, F., Berthelot, P., & Bergheau, F. (2019). Impact of amoxicillin and oral amoxicillin-clavulanic acid defined daily doses on consumption indicators. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2018.10.009>

D

- Denzer, L., Schrotten, H. et Schwerk, C. (2020). Du gène à la protéine : comment les facteurs de virulence bactérienne manipulent l'expression des gènes de l'hôte pendant l'infection. <https://doi.org/10.3390/ijms21103730>
- Diaz, PI et Valm, AM (2020). Les interactions microbiennes dans les communautés orales médient les propriétés émergentes des biofilms. <https://doi.org/10.1177/00220345198>
- Etienne-Mesmin, L., Meslier, V., Uriot, O., Fournier, E., Deschamps, C., Denis, S., ... & Almeida, M. (2023). In vitro modelling of oral microbial invasion in the human colon. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04344-22>

G

- Grandjean, M. L., & Srinivasan, M. (2021). L'avenir de la santé bucco-dentaire des personnes âgées est entre nos mains <https://doi.org/10.5167/uzh-211414>
- Ghannam, M. G., & Singh, P. (2023). Anatomy, Head and Neck, Salivary Glands. In StatPearls. StatPearls Publishing.

H

- Hassan, R., El-Naggar, W., El-Sawy, E., & El-Mahdy, A. (2011). Characterization of some virulence factors associated with Enterbacteriaceae isolated from urinary tract infections in Mansoura Hospitals.

J

- Jarlier, V., Nicolas, M. H., Fournier, G., & Philippon, A. (1988). Extended broad spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Clinical Infectious Diseases*, 10(4), 867-878.
- Jasm Mohammed, S., & Yassein, S. N. (2020). Characterization of some virulence factors of candida albicans isolated from subclinical bovine mastitis.

K

- Kajihara, T., Yahara, K., Yoshikawa, M., Haruta, A., Kawada-Matsuo, M., Le, MNT, et Sugai, M. (2023). Colonisation orale et rectale par des bactéries Gram négatives résistantes aux antimicrobiens et leur association avec la mort chez les résidents des établissements de soins de longue durée <https://doi.org/10.1159/000525759>
- Kassebaum, N. J., Smith, A. G., Bernabé, E., Flamingo, T. D., Reynolds, A. E., Vos, T., ... & GBD 2015 Oral Health Collaborators. (2017). Global regional, and national prevalence, incidence, and disability-adjusted life years for oral conditions for 195 countries, 1990-2015: systematic analysis for the global burden of diseases, injuries, and risk factors. <https://doi.org/10.1177/0022034517693566>

- Katkowska, M., Garbacz, K., Kwapisz, E., Suligowska, K., Kusiak, A., Cichońska, D., Świetlik, D. (2023). High oral carriage of multidrug resistant Gram-negative bacilli in adolescents: the SOPKARD-Junior study. 10.3389/fcimb.2023.1265777
- Kolar, SL, Antonio Ibarra, J., Rivera, FE, Mootz, JM, Davenport, JE, Stevens, SM, ... et Shaw, LN (2013). Les protéases extracellulaires sont des médiateurs clés de la virulence de *Staphylococcus aureus* via la modulation globale de la stabilité des déterminants de la virulence. <https://doi.org/10.1002/mbo3.55>
- 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>
- Kassebaum, N. J., Smith, A. G., Bernabé, E., Fleming, T. D., Reynolds, A. E., Vos, T., GBD 2015 Oral Health Collaborators. (2017). Global, regional, and national prevalence, incidence, and disability-adjusted life years for oral conditions for 195 countries, 1990–2015: a
- Kitamoto, S., Nagao-Kitamoto, H., Hein, R., Schmidt, T. M., & Kamada, N. (2020). The bacterial connection between the oral cavity and the gut diseases. <https://doi.org/10.1177/0022034520924633>
- Katkowska, M., Garbacz, K., Kwapisz, E., Suligowska, K., Kusiak, A., Cichońska, D., Świetlik, D. (2023). High oral carriage of multidrug resistant Gram-negative bacilli in adolescents: the SOPKARD-Junior study. 10.3389/fcimb.2023.1265777

L

- 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>
- Leão, I., De Carvalho, TB, Henriques, V., Ferreira, C., Sampaio-Maia, B. et Manaia, CM (2023). Pseudomonadota dans la cavité buccale : un aperçu du lien environnement-humain.

M

- 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.

- MesbahZekar, 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 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01569>

N

- NawlZaatout (2021) Presence of non-oral bacteria in the oral cavity <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02300-y>
- Najafi, K., Ganbarov, K., Gholizadeh, P., Tanomand, A., Rezaee, MA, Mahmood, SS, ... et Kafil, HS (2020). Infection de la cavité buccale par *Enterococcus faecalis* : facteurs de virulence et pathogénèse. DOI : [10.1097/MRM.0000000000000168](https://doi.org/10.1097/MRM.0000000000000168)
- Needleman, I., Ashley, P., Petrie, A., Fortune, F., Turner, W., Jones, J., ... et Porter, S. (2013). Santé bucco-dentaire et impact sur les performances des athlètes participant aux Jeux Olympiques de Londres 2012 : une étude transversale <https://doi.org/10.1136/bjsports-2013-092891>
- Noomi, B. S. (2018). Detection of virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* in different animals by using bacteriological and molecular methods.

P

- Pedersen, A. M. L., & Belstrøm, D. (2019). The role of natural salivary defences in maintaining a healthy oral microbiota. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.08.010>
- Peng, X., Cheng, L., You, Y., Tang, C., Ren, B., Li, Y., ... & Zhou, X. (2022). Oral microbiota in human systemic diseases <https://doi.org/10.1038/s41368-022-00163-7>
- Piwat, S., Basic, A., Pahumunto, N., Teanpaisan, R., & Dahlen, G. (2024). Periodontal diseases in Thai schoolchildren. Clinical and microbiological observations <https://doi.org/10.1007/s10266-023-00817-w>
- Park, SY, Hwang, BO, Lim, M., Ok, SH, Lee, SK, Chun, KS, ... et Song, NY (2021). Axe du microbiome buccal-intestinal dans les maladies gastro-intestinales et le cancer. <https://doi.org/10.3390/cancers13092124>

- Pacios, O., Blasco, L., Bleriot, I., Fernandez-Garcia, L., Ambroa, A., López, M., ... & Tomás, M. (2020). (p) ppGpp and its role in bacterial persistence: new challenges. <https://doi.org/10.1128/aac.01283-20>

R

- Rath, S., Bal, SCB et Dubey, D. (2021). Biofilm oral : mécanisme de développement, multirésistance aux médicaments et leur gestion efficace grâce à de nouvelles techniques [10.5041/RMMJ.10428](https://doi.org/10.5041/RMMJ.10428)

S

- Savadogo, OM, Ouattara, K., Pare, S., Ouedraogo, I., Sawadogo-Kaboré, S., Barron, J. et Zombre, NP (2016). Structure, composition spécifique et diversité des ligneux dans deux zones contrastées en zone Sahélienne du Burkina Faso <https://doi.org/10.4000/vertigo.17282>
- Soares, A., Alexandre, K. et Etienne, M. (2020). Tolérance et persistance de *Pseudomonas aeruginosa* dans les biofilms exposés aux antibiotiques : mécanismes moléculaires, stratégies antibiotiques et perspectives thérapeutiques
- Smith, DR et Opatowski, L. (2021). Mesures de confinement du COVID-19 et incidence des maladies bactériennes invasives. [https://doi.org/10.1016/S2589-7500\(21\)00085-6](https://doi.org/10.1016/S2589-7500(21)00085-6)
- Santucci, J., Baldolli, A., Isnard, C., Thibon, P., Saint-lorant, G., & de la Blanchardière, A.(2023). Évaluation du bon usage des carbapénèmes dans un centre hospitalier universitaire. <https://doi.org/10.1016/j.mmifmc.2023.03.136>

T

- Tafoukt, R., Touati, A., Leangapichart, T., Bakour, S. et Rolain, JM (2017). Caractérisation des entérobactéries productrices de type OXA-48 isolées de l'eau des rivières en Algérie. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.07>
- Terezakis, E., Needleman, I., Kumar, N., Moles, D., & Agudo, E. (2011). The impact of hospitalization on oral health: a systematic review <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01727.x>
- Touati, A., Brasme, L., Benallaoua, S., Gharout, A., Madoux, J., & De Champs, C. (2008). First report of qnrB-producing *Enterobacter cloacae* and qnrA-producing *Acinetobacter baumannii* recovered from Algerian hospitals. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2007.10.002>

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. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.01.011>
- Yousfi, M., Touati, A., Mairi, A., Brasme, L., Gharout-Sait, A., Guillard, T. et De Champs, C. (2016). Emergence d'*Escherichia coli* producteur de carbapénémase isolée d'animaux de compagnie en Algérie. <https://doi.org/10.1089/mdr.2015.0196>

Z

- Zhang, S., Liao, X., Ding, T., & Ahn, J. (2024). Role of β -Lactamase Inhibitors as Potentiators in Antimicrobial Chemotherapy Targeting Gram-Negative Bacteria. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13030260>
- Zhang, H., Seikaly, H., Biron, VL et Jeffery, CC (2018). Utilité de la TEP-CT pour détecter les métastases ganglionnaires dans le carcinome épidermoïde de la cavité buccale à un stade précoce cN0. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2018.04.003>
- Zhou, H., Zhang, Y., Qiu, Y., Wu, H., Qin, W., Liao, Y., ... & Cheng, H. (2020). Stretchable piezoelectric energy harvesters and self-powered sensors for wearable and implantable devices. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112569>
- Zanardo, M., Cozzi, A., Cardani, R., Renna, LV, Pomati, F., Asmundo, L., ... et Sardanelli, F. (2023). Réduire les résidus de produits de contraste dans les eaux usées hospitalières : le protocole de l'étude GREENWATER. <https://doi.org/10.1186/s41747-023-00337-w>
- Zheng, Z., Shao, Z., Lu, L., Tang, S., Shi, K., Gong, F. et Liu, J. (2023). Ceftazidime/avibactam associé à la colistine : une nouvelle tentative de traitement de l'infection à bacilles Gram négatif résistants aux carbapénèmes. 3:709 <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08715-w>

Annexes

Annexe I : Répartition des échantillons selon lieu et l'origine de prélèvement

lieu prélèvement	code	origine de prélèvement	date	sexe	bouillon nutritive 50 ul	MTL 1ml	
H Akbou	AI1	écouvillon	10-mars	femme	+	+	
	AI2	écouvillon	10-mars	femme	+	-	
	AI3	écouvillon	10-mars	femme	+	-	
	AI4	écouvillon	10-mars	femme	+	-	
	AI5	écouvillon	10-mars	femme	+	-	
	AI6	écouvillon	10-mars	femme	+	-	
	AI7	écouvillon	10-mars	femme	+	-	
	AI8	écouvillon	10-mars	femme	+	-	
	AI9	écouvillon	10-mars	femme	+	-	
	AI10	écouvillon	10-mars	femme	+	-	
	AI11	écouvillon	10-mars	homme	+	-	
	AI12	écouvillon	10-mars	homme	+	-	
	AI13	écouvillon	10-mars	homme	+	-	
	AI14	écouvillon	10-mars	homme	+	-	
	AII1	salive	10-mars	femme	+	+	
	AII2	salive	10-mars	femme	+	+	
	AII3	salive	10-mars	femme	+	+	
	AII4	salive	10-mars	femme	+	+	
	AII5	salive	10-mars	femme	+	+	
	AII6	salive	10-mars	femme	+	+	
	AII7	salive	10-mars	femme	+	+	
	AII8	salive	10-mars	femme	+	+	
	AII9	salive	10-mars	femme	+	+	
	AII10	salive	10-mars	femme	+	+	
	AII11	salive	10-mars	homme	+	+	
	AII12	salive	10-mars	homme	+	+	
	AII13	salive	10-mars	homme	+	+	
	AII14	salive	10-mars	homme	+	-	
	h Kherrata	KHI1	écouvillon	12-mars	homme	+	+
		KHI2	écouvillon	12-mars	homme	+	+
KHI3		écouvillon	12-mars	homme	+	-	
KHI4		écouvillon	12-mars	homme	+	+	
KHI5		écouvillon	12-mars	homme	+	+	
KHI6		écouvillon	12-mars	homme	+	+	
KHI7		écouvillon	12-mars	femme	+	+	

KHI8	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHI9	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHI10	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHI11	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHI12	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHI13	écouvillon	12-mars	femme	+	-
KHI14	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHI15	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHI16	écouvillon	12-mars	femme	+	-
KHI17	écouvillon	12-mars	femme	+	-
KHI18	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHI19	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHI20	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHI21	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHI22	écouvillon	12-mars	femme	+	-
KHI23	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHI24	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHI25	écouvillon	12-mars	femme	+	+
KHII1	salive	12-mars	homme	+	-
KHII2	salive	12-mars	homme	+	+
KHII3	salive	12-mars	homme	+	-
KHII4	salive	12-mars	homme	+	+
KHII5	salive	12-mars	homme	+	-
KHII6	salive	12-mars	homme	+	+
KHII7	salive	12-mars	femme	+	-
KHII8	salive	12-mars	femme	+	+
KHII9	salive	12-mars	femme	+	+
KHII10	salive	12-mars	femme	+	+
KHII11	salive	12-mars	femme	+	+
KHII12	salive	12-mars	femme	+	+
KHII13	salive	12-mars	femme	+	-
KHII14	salive	12-mars	femme	+	-
KHII15	salive	12-mars	femme	+	-
KHII16	salive	12-mars	femme	+	-
KHII17	salive	12-mars	femme	+	+
KHII18	salive	12-mars	femme	+	+
KHII19	salive	12-mars	femme	+	+
KHII20	salive	12-mars	femme	+	-
KHII21	salive	12-mars	femme	+	+
KHII22	salive	12-mars	femme	+	+
KHII23	salive	12-mars	femme	+	+
KHII24	salive	12-mars	femme	+	-
KHII25	salive	12-mars	femme	+	-

dentiste barache	D11	écouvillon	06-mars	femme	+	-
	D12	écouvillon	07-mars	homme	+	-
	D14	écouvillon	08-mars	femme	+	-
	D15	écouvillon	24-mars	femme	+	-
	D16	écouvillon	24-mars	homme	+	-
	D17	écouvillon	25-mars	homme	+	-
	D18	écouvillon	31-mars	femme	+	-
	DII1	salive	06-mars	femme	+	-
	DII2	salive	07-mars	homme	+	-
	DII4	salive	08-mars	femme	+	-
	DII5	salive	24-mars	femme	+	-
	DII6	salive	24-mars	homme	+	-
	DII7	salive	25-mars	homme	+	+
	DII8	salive	31-mars	femme	+	+
	DIII1	abcès	06-mars	femme	+	-
	DIII3	abcès	07-mars	femme	+	+
	DIII4	dent	08-mars	femme	+	-
	DIII5	dent	24-mars	femme	+	-
DIII6	dent	24-mars	homme	+	-	
DIII7	dent	25-mars	homme	+	-	
DIII8	dent	31-mars	femme	+	-	
dentiste zerarga	DKI1	écouvillon	10-mars	femme	+	-
	DKI2	écouvillon	10-mars	femme	+	-
	DKI3	écouvillon	13-mars	femme	+	-
	DKII1	salive	10-mars	femme	+	-
	DKII2	salive	10-mars	femme	+	-
	DKII3	salive	13-mars	femme	+	-
	DKIII1	dent	10-mars	femme	+	-
	DKIII2	dent	10-mars	femme	+	+
	DKIII3	dent	13-mars	femme	+	-
H Akbou	AE1	écouvillon	05-mai	femme	+	+
	AE2	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	AE3	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	AE4	écouvillon	05-mai	femme	+	+
	AE5	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	AE6	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	AE7	écouvillon	05-mai	femme	+	+
	AE8	écouvillon	05-mai	femme	+	+
	AE9	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	AE10	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	AE11	écouvillon	05-mai	femme	+	+
	AE12	écouvillon	05-mai	enfant	+	-
	AE13	écouvillon	05-mai	enfant	+	+

	AE14	écouvillon	05-mai	enfant	+	-
	AE15	écouvillon	05-mai	enfant	+	-
	AS1	salive	05-mai	femme	+	+
	AS2	salive	05-mai	femme	+	+
	AS3	salive	05-mai	femme	+	-
	AS4	salive	05-mai	femme	+	+
	AS5	salive	05-mai	femme	+	+
	AS6	salive	05-mai	femme	+	-
	AS7	salive	05-mai	femme	+	-
	AS8	salive	05-mai	femme	+	-
	AS9	salive	05-mai	femme	+	-
	AS10	salive	05-mai	femme	+	-
	AS11	salive	05-mai	femme	+	+
	AS12	salive	05-mai	enfant	+	+
	AS13	salive	05-mai	enfant	+	+
	AS14	salive	05-mai	enfant	+	+
	AS15	salive	05-mai	enfant	+	+
h Kherrata	KHE1	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	KHE2	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	KHE3	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	KHE4	écouvillon	05-mai	femme	+	+
	KHE5	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	KHE6	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	KHE7	écouvillon	05-mai	femme	+	+
	KHE8	écouvillon	05-mai	femme	+	+
	KHE9	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	KHE10	écouvillon	05-mai	homme	+	-
	KHE11	écouvillon	05-mai	homme	+	+
	KHE12	écouvillon	05-mai	homme	+	+
	KHE13	écouvillon	05-mai	homme	+	+
	KHE14	écouvillon	05-mai	homme	+	-
	KHE15	écouvillon	05-mai	homme	+	+
	KHS1	salive	05-mai	femme	+	+
	KHS2	salive	05-mai	femme	+	+
	KHS3	salive	05-mai	femme	+	-
	KHS4	salive	05-mai	femme	+	+
	KHS5	salive	05-mai	femme	+	-
	KHS6	salive	05-mai	femme	+	-
	KHS7	salive	05-mai	femme	+	-
	KHS8	salive	05-mai	femme	+	-
	KHS9	salive	05-mai	femme	+	+
	KHS10	salive	05-mai	homme	+	-
	KHS11	salive	05-mai	homme	+	+

	KHS12	salive	05-mai	homme	+	+
	KHS13	salive	05-mai	homme	+	-
	KHS14	salive	05-mai	homme	+	-
	KHS15	salive	05-mai	homme	+	psuedo
dentiste Mehdi	ME1	écouvillon	15-avr	homme	+	-
	ME2	écouvillon	15-avr	femme	+	-
	ME3	écouvillon	15-avr	femme	+	+
	ME4	écouvillon	15-avr	femme	+	-
	ME5	écouvillon	15-avr	homme	+	-
	ME6	écouvillon	15-avr	femme	-	-
	ME7	écouvillon	15-avr	femme	+	-
	ME8	écouvillon	07-mars	femme	+	+
	ME9	écouvillon	07-mars	femme	+	-
	ME10	salive	07-mars	femme	+	-
	MS1	salive	15-avr	homme	+	+
	MS4	salive	15-avr	femme	+	-
	MS5	salive	15-avr	femme	+	-
	MS6	salive	15-avr	homme	+	-
	MS7	salive	15-avr	femme	+	-
	MS8	salive	07-mars	femme	+	-
	MS9	salive	07-mars	femme	+	-
	MS10	salive	07-mars	femme	+	-
	MP4	salive	15-avr	homme	+	+
	MP5	dent	15-avr	femme	+	+
MP6	dent	15-avr	femme	+	+	
MP7	dent	15-avr	femme	+	-	
MP8	dent	07-mars	femme	+	+	
dentiste Athmani	BE1	écouvillon	28-avr	homme	-	-
	BE2	écouvillon	28-avr	femme	+	-
	BE3	écouvillon	29-avr	femme	-	-
	BE4	écouvillon	29-avr	femme	-	-
	BE5	écouvillon	01-mai	femme	+	-
	BE6	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	BE7	écouvillon	05-mai	femme	+	-
	BS1	salive	28-avr	homme	-	-
	BS2	salive	28-avr	femme	+	-
	BS3	salive	29-avr	femme	+	-
	BS4	salive	29-avr	femme	+	-
	BS5	salive	01-mai	femme	+	-
	BS6	salive	05-mai	femme	+	+
	BS7	salive	05-mai	femme	+	-
	BP1	dent	28-avr	homme	+	+
	BP2	dent	28-avr	femme	+	-

BP3	dent	29-avr	femme	+	+
BP4	kyste	29-avr	femme	+	-
BP6	abcès	05-mai	femme	+	-
BP7	kyste	05-mai	femme	+	-

Annexe II : Résultats d'identification des souches d'entérobactéries.

Code	Chromagar	Espèce	Citrate	Uréase	Indole	Lactose	Glucose	Gaz	H2S
MP7	Rose claire	<i>E. coli</i>	-	-	44°C	+	+	+	-
AE8	Bleu métallique groupe KES	<i>K. oxytoca</i>	+	+	+	+	+	+	-
AE11	Bleu métallique groupe KES	<i>K. oxytoca</i>	+	+	+	+	+	+	-
KHE11	Bleu métallique groupe KES	<i>K. oxytoca</i>	+	+	+	+	+	+	-
KHE1	Bleu métallique groupe KES	<i>Enterobactersp.</i>	+	-	-	+	+	+	-
KHE12	Bleu métallique groupe KES	<i>Enterobactersp.</i>	+	-	-	+	+	+	-
KHS12	Bleu métallique groupe KES	<i>Enterobactersp.</i>	+	-	-	+	+	+	-
BS6	Bleu métallique groupe KES	<i>Enterobactersp.</i>	+	-	-	+	+	+	-

Annexe III : Résultats d'identification des souches d'Acinitobacter

Code	Chromagar	Espèce	Citrate	Lactose	Glucose	Gaz	H2S	Croissance à 44° C
KH II 19	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+
A II 4	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+
KH I 21	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+
KH I 1	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+
A II 11	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+
KH I 8	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+
KH I 19	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+
KH II 21	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+
KH II 9	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+
A II 3	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+
A II 12	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+
A II 7	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+
KH I 12	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+
KH I 11	Blan laiteux	<i>A. baumannii</i>	+	-	-	-	-	+

Annexe IV : détection des facteurs de virulence des souches d'entérobactéries et d'Acinitobacter

Code	Espèce	Origine	Protéolyse	Lipolyse	Hémolyse	Srting	Biofilm
MP7	<i>E. coli</i>	pathologie	+	-	-	-	-
AE8	<i>K. oxytoca</i>	écouvillon	+	++	+	-	-
AE11	<i>K. oxytoca</i>	écouvillon	-	++	-	-	+
KHE11	<i>K. oxytoca</i>	écouvillon	+	+	-	-	+
KHE1	<i>Enterobactersp.</i>	écouvillon	-	+	-	-	+
KHE12	<i>Enterobactersp.</i>	écouvillon	-	++	-	-	+
KHS12	<i>Enterobactersp.</i>	salive	-	++	-	-	+
BS6	<i>Enterobactersp.</i>	salive	-	+	-	-	+
							+
KH II 19	<i>A. baumannii</i>	salive	-	+	-	-	+
A II 4	<i>A. baumannii</i>	salive	-	++	-	-	-
KH I 21	<i>A. baumannii</i>	écouvillon	-	+	-	-	-
KH I 1	<i>A. baumannii</i>	écouvillon	-	+	-	-	+
A II 11	<i>A. baumannii</i>	salive	-	-	-	-	-
KH I 8	<i>A. baumannii</i>	écouvillon	-	-	-	-	+
KH I 19	<i>A. baumannii</i>	écouvillon	-	+	-	-	+
KH II 21	<i>A. baumannii</i>	salive	-	++	-	-	+
KH II 9	<i>A. baumannii</i>	salive	-	-	-	-	+
A II 3	<i>A. baumannii</i>	salive	-	+	-	-	+
A II 12	<i>A. baumannii</i>	salive	-	-	-	-	+
KH I 12	<i>A. baumannii</i>	écouvillon	-	-	-	-	+
KH I 11	<i>A. baumannii</i>	écouvillon	-	++	-	-	+
A II 2	<i>A. baumannii</i>	salive	-	+	-	-	-
A II 7	<i>A. baumannii</i>	salive	-	+	-	-	+
(+) présence							
(++) activité plus importante							
(-) absence							

Annexe V : Résultats d'absorbance de biofilm par le spectrophotomètre pour les souches d'entérobactéries et d'Acinitobacter.

Code	DIO	Résultats
MP7	0.137	non formatrice de biofilm
AE8	0.119	non formatrice de biofilm
AE11	0.356	formatrice biofilm modérée
KHE11	0.354	formatrice biofilm modérée
KHE1	0.250	formatrice biofilm modérée

KHE12	0.246	formatrice biofilm modérée
KHS12	0.642	forte formatrice de biofilm
BS6	0.224	formatrice biofilm modérée
KH II 19	0.567	forte formatrice de biofilm
A II 4	0.114	non formatrice de biofilm
KH I 21	0.115	non formatrice de biofilm
KH I 1	0.268	formatrice biofilm modérée
A II 11	0.125	non formatrice de biofilm
KH I 8	0.345	formatrice biofilm modérée
KH I 19	0.286	formatrice biofilm modérée
KH II 21	0.225	formatrice biofilm modérée
KH II 9	0.537	forte formatrice de biofilm
A II 3	0.247	formatrice biofilm modérée
A II 12	0.439	forte formatrice de biofilm
KH I 12	0.530	forte formatrice de biofilm
KH I 11	0.641	forte formatrice de biofilm
A II 7	0.712	forte formatrice de biofilm
A II 2	0.114	non formatrice de biofilm
T -	0.1	non formatrice de biofilm

Annexe VI : Composition du milieu Mac Conkey.

Composition gélose MacConkey			
Ingrédients	gramme/litre	Ingrédients	gramme/litre
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 VII : Composition du milieu EMB

Composition gélose EMB	
Ingrédients	Gramme/litre
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 dynamique et complexe. Les bacilles à gram négatif sont considérés dans la cavité buccale comme une flore exogène non commensale qui peuvent être résistants et virulents et s'installer par plusieurs facteurs. Le but de notre étude est la recherche d'une colonisation de la cavité buccale par des bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes et virulents. Les différents tests d'identifications et l'antibiogramme standard nous ont permis d'identifier des souches d'entérobactéries et des souches de *A.baumannii* irésistantes aux carbapénèmes. Ces souches présentent également la capacité de nuire à l'homme à travers l'expression de certains facteurs de virulence notamment lipolyse, protéolyse, hémolyse et la formation de biofilm.

Abstract:

The human oral cavity is home to a complex and dynamic bacterial flora. Gram-negative bacilli are considered in the oral cavity as a non-commensal exogenous flora that can be resistant and virulent and become established by several factors: antibiotics smoking diet. The aim of our study was to investigate colonization of the oral cavity by carbapenem-resistant and virulent Gram-negative bacilli. The various identification tests and the standard antibiogram enabled us to identify resistant strains of enterobacteriaceae and strains of *A.baumannii*, while the virulence tests enabled us to distinguish strains producing lipolysis, proteolysis, hemolysin and biofilms.

ملخص :

تجويف الفم البشري هو موطن لنباتات بكتيرية معقدة وديناميكية. تُعتبر العصيات سالبة الجرام من النباتات الخارجية غير المتجانسة في تجويف الفم، والتي يمكن أن تكون مقاومة وفاتكة وتصبح خبيثة نتيجة لعدة عوامل: المضادات الحيوية، والتدخين، والنظام الغذائي، وما إلى ذلك. كان الهدف من دراستنا هو التحقيق في استعمار التجويف الفموي من قبل عصيات سالبة الجرام الخبيثة المقاومة للكاربابينيمات. مكنتنا اختبارات تحديد الهوية المختلفة ومخطط المضادات الحيوية القياسي من تحديد سلالات البكتيريا المعوية المقاومة للكاربابينيم وسلالات اليوماني المعوية. كما أن هذه السلالات لديها القدرة على إلحاق الضرر بالإنسان من خلال التعبير عن بعض عوامل الفوعة، ولا سيما تحلل الدهون والتحلل البروتيني. والهيموليسين وتكوين الأغشية الحيوية.