

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Biologie
Option : Génie biologie



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en génie
biologie

Thème

*Étude de la résistance aux
antibiotiques de souches
bactériennes isolée de dents.*

Présenté par :

Boulkaria Souad & Chelalou Cherifa

Soutenu le : **15 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Mr k. Aissat

Mr A. Touati

Mme K .Messaoudi

Mr T .Krim

Professeur

Professeur

MCB

Président

Encadreur

Examinatrice

Co promoteur

Année universitaire : 2014 / 2015



Remerciements

On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force nécessaire et la patience qui nous a permis de mener à bien ce travail ; Notre plus vifs remerciements vont d'abord à encadreur M_r A. Touati, de nous avoir fait l'honneur et le plaisir de diriger ce travail. Il a su nous guider avec patience, compréhension et rigueur. On lui en sera toujours reconnaissante.

Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres de jury : K. Aissat qui nous ont fait honneur par sa présence en qualité de président de jury, K. Messoudi d'avoir accepté d'examiner ce travail et de consacrer son temps pour l'évalué.

Nous témoignons Nos gratitude à Nos Co-promoteur Mr Toufik Kamel pour son aide, son soutien, et le temps qu'il a bien voulu consacrer à nous tenir compagnie au cours de la manipulation .Notre mémoire doit beaucoup à son efficacité mais aussi à sa patience, qu'elles trouvent dans c'est quelque phrase, toute Nos gratitude et tout notre respect.

SOUAD & CHERIFA



Dédicaces

On dédie ce travail à :

*Nos chers parents, que nulle dédicace ne peut exprimer
Nos sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur
encouragement contenu, leur aide, en témoignage de
nous profond amour et respect pour ses grands sacrifices.
Que dieu leur réserve la bonne santé et une longue vie.*

A

*Ma chère sœur Souad et mon petit frère Massi à qui je
leur souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de
réussite.*

*A nos chers amis : Samira, Soumia, Lila, Samra, Souhila
qui sans leur encouragement ce travail n'aura jamais vu
le jour.*

Que dieu nous garde toujours unis.

A

*Toute la promotion Génie biologie de la promotion 2013/2014
et 2014/2015.*

A

Toute personne qui nous a aidés à faire notre projet.

CHERIFA



Dédicaces

Je dédie ce travail :

A

Mes très chers parents qui m'ont tout donnée. Qui ont tout jour été la pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance et tout. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma connaissance et tout mon amour.

A

Mes frères : M'Hamed et sa femme Samira, Amirouche

A

Mes chères sœurs : Kahina et son mari Yacine, Samira et son mari Nassim ainsi ma petite sœur Thiziri a qui je leur souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de réussite.

A

Mes nièces adorées : Anaïs et Elina ainsi mon neveu Islam

Mes cousines : Thinianna et Dia

Mon cousin : Karim et sa femme Hassiba, Brahim

Mes grands parents : Lona, Fatima, Hamid

Ma chère binôme cherifa

Mes tantes Noria, Dhawia, Saïda, Ghania, Zahia

Tous mes amies spécialement Souad et Fatima

Je n'oublierai pas mes amis de promotion de génie biologie

Souad

Table de matiere

Table de matière.	I
Liste des abréviations	II
Liste des tableaux.	III
Liste des Figure	IV

Introduction	1
---------------------------	----------

Matériels et méthodes

1. Souche bactérienne.....	5
2. Identification des souches	5
3. étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	6
4. Recherche de la production des β -lactamase a Spectre étendu.....	7
5. DD-test sur la gélose MH additionne de cloxacilline	7
6. Recherche de la production de carbapénémase (Carba NP test).....	8

Résultats et Discussion

1. Recueil de souches bacilles a Gram négatif.....	9
2. Fréquence des souches étudiées	9
3. Fréquences des souches isolées.....	10
4. Répartition des patients selon le sexe.....	11
5. Répartition de la population selon l'âge.....	12
6. Repartition des patiants selon les cabinets dentaires.....	14
7. Répartition de la population selon traitement de l'infection par des antibiotiques.....	14
8. Résistance aux antibiotiques chez Enterobacteriaceae	15
9. Résistance aux antibiotiques pour les souches résistantes isolées	16
10.Prévalence des BLSE.....	18
11.DD-test sur Miller Hinton a la cloxacilline.....	19

Conclusion et perspectives

Référence bibliographie

Annexe

Liste des figures

Figure N°1: Répartition de l'ensemble des entérobactéries multi-résistantes.....	10
Figure N° 2 : Répartition des patients selon les cabinets dentaires.....	11
Figure N° 3 : Répartition selon tranches d'âge.....	13
Figure N°4: Sensibilité aux β -lactamines de souches entérobactéries aux antibiotiques.....	14
Figure N°5 : Sensibilité aux antibiotiques de souches entérobactéries résistantes.....	15
Figure N° 6 : DD-test sur gélose Mueller Hinton	16
Figure N° 7 : DD-test sur <i>Mueller Hinton</i> à la cloxacilline pour la souche <i>Enterobacter Cloacae</i> présentant un phénotype de céphalosporinase hyper produite.....	18

Liste des tableaux

Tableau I : Liste des antibiotiques testés06
Tableau II : Fréquence des souches étudiées09
Tableau III : Répartition des patients selon les cabinets dentaires 10
Tableau III : Répartition selon le sexe 12
Tableau IV : Répartition selon les tranches d'âge.....	12
Tableau V : répartition de la population selon le traitement de l'infection par des antibiotiques ..	14

Liste des abréviations

AMC : Amoxicilline- Acide Clavulanique

BLSE : β - lactamase à spectre élargi

EUCAST: recommandations du comité européen de l'antibiogramme

CAZ: Céfotaxime

CTX : Céfotaxime

IMP : Imipénème

MEM : Méropénème

GN : Gentamycine

CTX ou FOX : Céfoxitine

ATM : Aztréoname

FEP : Céfépime

C3G : céphalosporine de 3eme génération

C4G : céphalosporine de 4 éme génération

CTAB : Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide

MH:Muller Hinton

TSI: Tree Sugar and Ion

E: entérobactérie

La cavité buccale est l'un des sites les plus sceptiques du corps humain, sa flore présente la gamme des germes la plus étendue de l'organisme.

En plus, la cavité buccale est un milieu à très forte teneur en bactéries, en contact direct avec l'extérieur. Premier lieu de filtration des aliments, elle présente aussi toute les conditions requises a la prolifération des micro-organismes, et qui constitue un écosystème complexe riche en bactéries, A noté aussi c'est un écosystème fragile présentant un milieu favorable a la prolifération microbienne : humidité, température constante a 37 °C, ph neutre, surfaces d'adhésions pour aérobies et anaérobies, présence d'élément nutritifs.

Le milieu buccal est caractérisé par son extraordinaire complexité : on considère que plus de 300 espèces bactériennes peuvent être répertoriées, en plus de nombreux virus et champignons.

On comptabilise plus de 10^{10} bactéries par ml présentes dans la salive, le fluide gingival, les surfaces muqueuses et dentaires ainsi que des levures (Julia S., 2013).

Le tout constitue de multiples niches écologiques variables en quantité et en composition suivant leur localisation (muqueuse, la langue, dents, plaque dentaire). Elles sont toutes en étroite relation avec le système de défense de l'individu (Masson, 1994).

Cependant, la plaque bactérienne est essentiellement composée de bactéries qui adhèrent aux surfaces supra et sous gingivales. Si elle n'est pas régulièrement éliminée, la plaque peut devenir du tartre par combinaison avec les phosphates et les calciums salivaires.

Cette flore buccale se compose de micro-organismes dit commensaux, ou flore résidente, nom pathogène, avec lesquels une symbiose est établie, avec d'autres pathogènes dits opportunistes.

Les bactéries opportunistes vont profiter d'un déséquilibre au sein de la cavité buccale pour se multiplier et créer l'infection localisée ou foyer infectieux primaire.

Ce milieu est facilement dérégulé par les traitements médicamenteux, l'âge, un défaut ou un excès d'hygiène, le tabac, le mode d'alimentation, les changements hormonaux (SIXOU M, DIOUF A, ALVARES D, 2007).

A l'intérieur de ce vaste système, certaines espèces bactériennes commensales et pathogène ont tendance à se regrouper aux niveaux des sites les plus favorables à leur croissance, en fonction :

- De leurs exigences métaboliques et respiratoires, donc de leur mode et de leurs conditions de croissance, de leurs possibilités d'adhérence spécifique (entre bactéries, ou sur un support muqueux ou minéralisé)
- De leurs besoins réciproques réalisant de véritables symbioses.

Les maladies parodontales sont donc induites par une agression bactérienne qui déclenche une réaction inflammatoire complète, dont les conséquences seront à la fois une contre-offensive antibactérienne et une destruction tissulaire (Florien et al., 2008).

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique en Algérie. En effet ces dix dernières années, une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques en particulier chez les bacilles à gram- est constatée. Plusieurs mécanismes sont à la base de cette multirésistance aux antibiotiques. L'hydrolyse enzymatique reste cependant le mécanisme prépondérant et en particulier la production de β -lactamase (H. Rodriguez-Villa-Lobos *, M.-J. Struelens).

Les β -lactamines sont les antibiotiques les plus utilisés dans la pratique clinique courante. Dans le cas des bacilles à gram- , la résistance bactérienne aux β -lactamines est due principalement à la production d'enzymes (β -lactamases) capable d'hydrolyser l'anneau β -lactame commun à cette classe d'antibiotiques (pénicillines, céphalosporines , monobactams , carbapénèmes) (Baba Ahmed-Kazi Z. et Arlet G., 2014).

Les bactéries à gram négative résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G) occupent une place importante dans les infections nosocomiales notamment, mais également d'autres infections dentaires. Ces bactéries deviennent de plus en plus résistantes aux antibiotiques et commencent à franchir les limites de l'hôpital pour émerger dans la communauté.

La résistance aux β -lactamines chez les entérobactéries est dominée par la production de bêta-lactamase de type CTX-M-3 et CTX-M-15.

Les souches productrices de ces enzymes sont souvent à l'origine d'infections potentiellement s'éversé aussi bien en milieu hospitalier que communautaire. Les céphalosporinases plasmodiques identifiées sont CMY-2, CMY-12 et DHA-1.

L'isolement de souches d'entérobactéries productrices de carbapénémase reste rare en Algérie. Quelques entérobactéries productrices d'oxa-48 et VIM-19 ont été rapportées.

Cependant, les bactéries à gram- hébergent naturellement et ont acquis différents mécanismes limitant leur activité. Ces résistances sont liées à un défaut d'accumulation au contact de la cible suite à une imperméabilité ou à un efflux de l'antibiotique, à des modifications des protéines liant la pénicilline (PLP) ou à la production d'enzymes inactivatrices appelées β -lactamase. Ces enzymes sont capables d'ouvrir le cycle β -lactame en créant un intermédiaire acyl-enzyme instable, menant au final à la perte d'un groupement carboxyle.

Les β -lactamines antibiotiques restent des molécules essentielles à la prise en charge des infections dues aux entérobactéries. Cette large utilisation est principalement liée à leur faible toxicité, à leur pouvoir bactéricide et à la diversité des molécules (H. Rodriguez-Villa-Lobos *, M.-J. Struelens, 2006).

En effet, depuis l'introduction de la pénicilline G en thérapeutique dans les années 1940, un grand nombre de molécules incluant les pénicillines, les monoactâmes et les Carbapénèmes a été développé.

Les BLSE sont définies comme des enzymes appartenant à la classe A ou D de la classification d'Ambler, capables d'hydrolyser les pénicillines, céphalosporines de première, deuxième, troisième et quatrième génération (C1G, C2G, C3G et C4G) et l'aztréonam au début des années 1980, seules les enzymes plasmidiques TEM-1, TEM-2, SHV-1 connus

Elles n'hydrolysent pas les Carbapénèmes et sont inhibées *in vitro* par les inhibiteurs des β -lactamase (acide clavulanique, tazobactam et sulbactam). Les gènes de structure sont portés par des éléments génétiques mobiles tels que de grands plasmides (100Kb ou plus), intégrons ou transposons. Ces éléments sont transférables entre souches de la même espèce ou entre espèces.

La majorité des BLSE sont dérivées de mutations ponctuelles dans la séquence génétique codant pour le site actif des β -lactamases TEM-1 et SHV-1, mais de nombreuses enzymes nom apparentées ont été décrites (OXA, CTX-M, PER, VEB, GES, BES, TLA, SFO, et IBC) (H. Rodriguez-Villa-Lobos *, M.-J. Struelens ; 2006)

Les β -lactamase à spectre étendu (BLSE SHV-2 et TEM-3) ont été découvertes à cette époque chez *Klebsiella pneumoniae*, soit peu après l'introduction en clinique des céphalosporines de troisième génération. En quelques années, les β -lactamases ont évolué parallèlement à l'utilisation massive des β -lactamines (H. Rodriguez-Villa-Lobos *, M.-J. Struelens ; 2006).

Dans les années quatre-vingt-dix, des souches de *K. pneumoniae*, **d'entérobacter cloacae** des BLSE ont rapidement diffusé provoquant des épidémies hospitalières. Le renforcement des mesures d'hygiène et l'isolement géographique et technique des patients colonisés et /ou infectés (H. Rodriguez-Villa-Lobos *, M.-J. Struelens ; 2006).

La surveillance des infections par bacilles à gram négatif producteurs de BLSE est recommandée en cabinets dentaires. La maîtrise de la dissémination de ces souches est réalisable même en situation endémique par la mise en œuvre de stratégies combinant l'usage raisonné des antibiotiques, la promotion de l'hygiène des dents (H. Rodriguez-Villa-Lobos *, M.-J. Struelens, 2006).

Le but de notre travail est de caractériser les profils de résistance aux antibiotiques émergents, et la surveillance de la résistance des bacilles Gram- impliqués dans les infections dentaires. Pour ce faire, nous avons adopté le plan suivant :

- L'isolement et l'identification d'une collection de bacilles Gram- isolés au niveau de plaque dentaire.
- Détermination des profils de résistance aux différentes familles d'antibiotiques (β -lactamines).

1. Souche bactérienne:

Durant la période de Mars à Mai 2015, des échantillons de dents recueillies chez différents dentistes (privés) de la région de Bejaia ont été collectés dans des recéptions stériles. Pour chaque patient les données suivant ont été recueillies :

- Date d'extraction de la dent
- Le sexe et l'Age du patient
- Antibiothérapie préalable
- Motif de consultation

Les échantillons de dent sont conservés à 4° et ensuite transportés aux niveaux de laboratoire de microbiologie de l'université de Bejaia pour être analysés.

Un enrichissement est réalisé par l'introduction des dents extraites dans un bouillon nutritif. Après incubation à 37° pendant 24H, un isolement a été effectué sur la gélose mac conkey additionnée de 2µg/ml de ceftazidine pour sélectionner les bacilles gram – résistants, et de 16µg/ml de vancomycine pour éliminer les bactéries à gram positif.

Les boites sont incubées à 37°C :. On prélève des colonies bien distinctes pour purification sur gélose Mac conkey.

2. Identification des souches

Une fois la culture est pure, l'identification des bacilles à Gram négatif est réalisée sur la base :

- Des caractères cultureux (taille, aspect des colonies, formes).
- La coloration de Gram.
- La fermentation de glucose (TSI)

3. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques :

La sensibilité des souches a été déterminée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Muller Hinton selon la recommandation du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM, 2015). Les boîtes de Pétri contenant le Mueller Hinton (MH) sont ensemencées par écouvillonnage. Par la suite, des disques d'antibiotique appartenant à différentes familles d'antibiotiques (Tableau I) sont déposés sur la surface de la gélose MH. Les boîtes sont ensuite incubées à 37° pendant 24h.

Mesurer les diamètres des zones d'inhibition au millimètre le plus proche avec une règle et interpréter les diamètres des zones d'inhibition au millimètre le plus proche de la règle, un pied de coulisse ou un système de lecteur automatisé

L'interprétation des diamètres des zones d'inhibition par référence aux tableaux ou figurent les concentrations critique.

L'apparition d'une zone d'inhibition supérieur aux diamètres critique indique que la souche est sensible si la zone est inférieure aux diamètres critique la souche est dite résistante

Tableau I : Liste des antibiotiques testés

Antibiotique	Abréviation	Charge de disque en ug	Famille	Diamètre critique (mm)	
				S	R
Amoxicilline + Acide Clavulanique	AMC	20/10	pénicilline	≥23	<16
Céftazidime	CAZ	30	C3G	≥21	<19
Céfotaxime	CTX	30	C3G	≥26	<23
Imipénème	IMP	10	carbapénèmes	≥24	<17
Méropénème	MEM	10	carbapénèmes	≥22	<15
Gentamicine	GN	10	Aminoside	≥16	<16
Céfoxitine	CX ou FOX	30	β-lactamines	≥22	<15
Aztréoname	ATM	30	Monobactam	≥27	<21
Céfépime	FEP	30	C4G	≥24	< 21

4. Recherche de la production de β -lactamase à Spectre Etendu :

La détermination des phénotypes de la blse se fait par la détection des substrats préférentiels de cette enzyme elle se réalise en recherchant les éventuelles images de synergie en bouchon de champagne ou en entonnoir qui peuvent apparaitre, sur gélose entre les molécules d'amoxicilline acide clavulanique et une céphalosporine de 3eme génération (Drieux et al, 2008).

DD-test sur gélose MH additionnée de la cloxacilline

La présence d'une BLSE peut être masquée par la production d'une céphalosporinases, induite par le clavulanate chez les souches naturellement productrices de cette enzyme. Et, l'ajout de la cloxacilline (250 μ g/l) au milieu MH pour antibiogramme inhibe très fortement l'activité céphalosporinases. Si un tel mécanisme de résistance est présent, on constate en comparant les boites de Petri contenant le milieu MH additionné par la cloxacilline, une restauration de l'activité des bêta-lactamases et apparition de l'image de synergie en bouchon de champagne recherchée.

Le test à la cloxacilline peut être pratiqué pour l'antibiogramme ou le test de synergie. Dans notre travail il a été pratiqué pour le test de synergie. Nous pouvons constater une restauration de l'activité des bêta-lactamases testées avec ou sans apparition de l'image de synergie. Ceci nous permet de les classer selon le type d'enzyme (bêta-lactamases) secrétée (pénicillinase de haut niveau ou de bas niveau, céphalosporinases seuls ou avec la présence d'une BLSE).

Pour certaines souches de bacilles a gram -, il est parfois difficile de distinguer les β lactamase a spectre élargie (Blse) . la production de ces dernières peut être masquée par l'hyperproduction des céphalosporinases. Dans ce cas, on refait le test de synergie en utilisant la gélose Mueller Hinton additionnée de cloxacilline afin d'inhiber l'activité céphalosporinasiq. la concentration de cloxacilline est déterminée selon le groupe bactérien. La comparaison des diamètres d'inhibition entre les boites avec et sans cloxacilline permet de mettre en évidence la présence d'une BLSE seule ou associée a une céphalosporinases (Mme Medroua Chafiaa epouse Benbalagh 2010-2011)

5. Recherche de la production de la carbapénemases (CarbaNP test)

Principe :

Ce test biochimique est basé sur l'identification de la production de carbapénemases chez les bactéries à Gram négatif. Le principe de ce test repose sur la mise en évidence d'une acidification du milieu en cas d'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénemases. L'indicateur de pH change de couleur (du rouge au jaune) lorsque le milieu devient acide, traduisant la présence d'une carbapénemases (Nordmann et *al.* 2012).

Dans le but d'accélérer la révélation des résultats, Bakeur et *al.* De l'université de Bejaia ont remplacé le tampon de lyse par le Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) 0.02%, et le pH de la solution de rouge de phénol a été changé de 7.8 à 7.

Pour détecter la production d'une carbapénemases, on procède comme suit : Dans un tube Eppendorf, on met 200µl de tampon de lyse (CTAB 0.02 %), et on suspend une öse calibrée (10µl) de colonies bactériennes dans le tampon de lyse et vortexer 1 à 2 min, après on transfère 100µl dans 2 tubes Eppendorf "A" et "B", on ajoute 100µl de Solution A dans le tube Eppendorf "A" et 100µl de la Solution A+imipénème 6mg/ml dans le tube Eppendorf "B".Vortexer 5 secondes, puis incuber à 37°C pendant 2h maximum.

1. Recueil de souches de bacilles à Gram négatif

Durant la période d'étude allant de Mars à Mai 2015 (2 mois), nous avons étudié 150 prélèvements chez 150 patients qui ont été effectués à partir de 07 cabinets dentaires situés au niveau de la wilaya de Bejaia.

2. Fréquence des souches étudiées :

L'analyse des prélèvements a permis d'isoler 263 Bacilles à Gram négatifs dont 123 souches d'Enterobacteriaceae, 140 de bacilles à Gram négatif non fermentaires.

Tableau II : Fréquence des souches étudiées

Souches	Effectif	Pourcentage(%)
Entérobactéries	123	48.66
BGN non fermentaires	140	51.33
Total	263	100

Nous avons noté durant notre étude que la majorité des souches de bacilles à Gram négatif provient des prélèvements de plaque dentaire. Les Enterobacteriaceae responsables des infections dentaires ont représentés 49%.

Les bacilles Gram négatif non entérobactéries sont représentés essentiellement par Pseudomonas aeruginosa avec 120 souches soit 42.85% des cas.

Les prélèvements de la plaque dentaire ont été majoritairement à prédominance de Pseudomonas aeruginosa. Du fait que les patient peuvent représenter un réservoir il a été estimé que la proportion de porteur de Pseudomonase aeroginosa était de l'ordre de 2 à 10 % dans la population générale. les principaux sites de portage de cette bactérie la plaque dentaire des patient notamment âgées, peut être un réservoir a P.aeroginosa (Anne- Gaelle venier, 2001).

3. Fréquence des souches résistantes isolées:

Durant notre étude (2 mois) nous avons isolé plus de 123 souches d'entérobactéries à partir de 07 cabinets dentaires au niveau de la wilaya de Bejaia.

Nous avons constaté parmi les 150 malades qui sont infectés par une des souches résistantes; les espèces *Citrobacter Freundii* et *Enterobacter Cloacae* sont les plus dominantes avec un taux de 40% suivi par *Klebsiella Pneumoniae* avec un taux de 40%(figure N°7).

Donc sur les 123 souches d'entérobactérie testées; 12 souches ont été retrouvées résistantes.

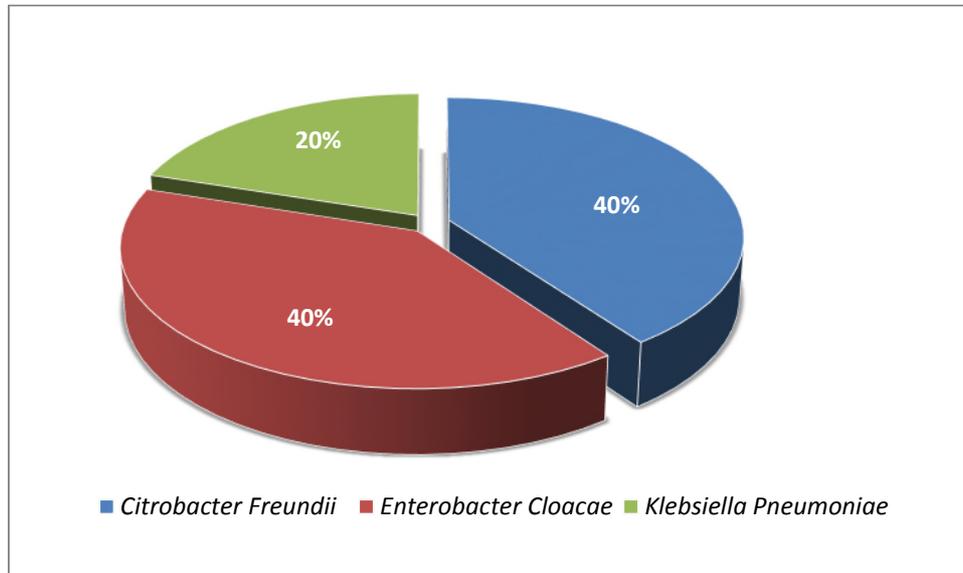


Figure N°1: Répartition de l'ensemble des entérobactéries multi-résistantes

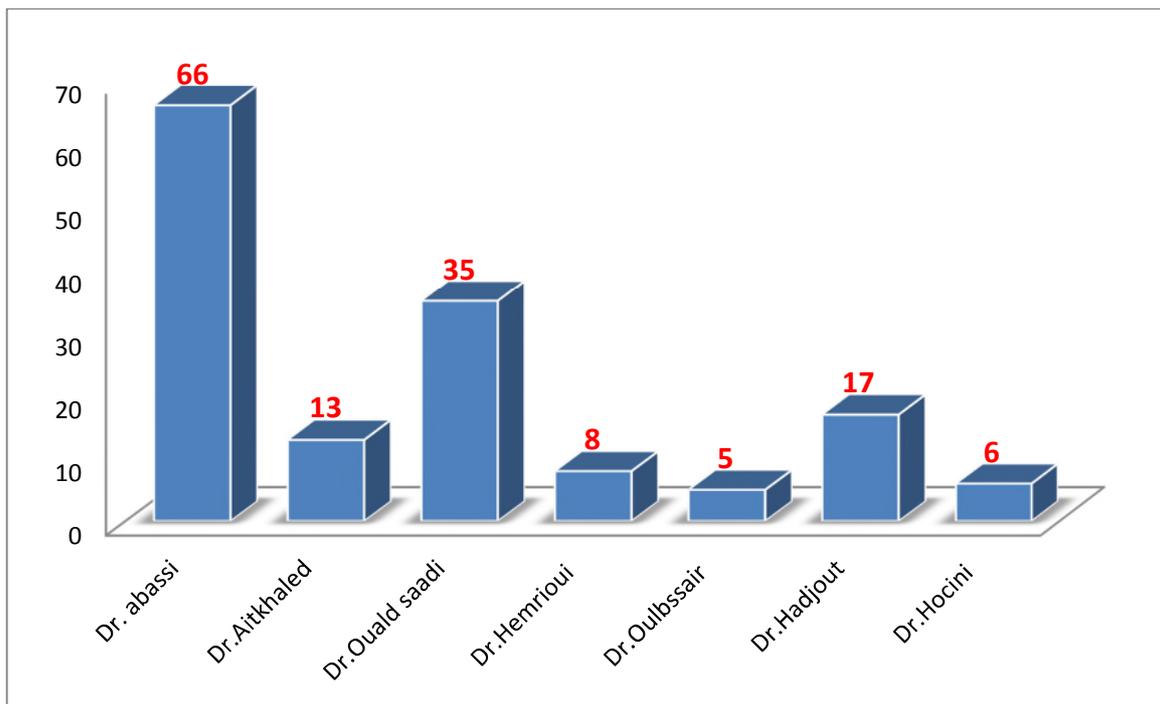


Figure N° 2 : Répartition des patients selon les cabinets dentaires

La plupart de nos prélèvements venaient du cabinet du docteur ABASSI (66 %) suivis de ceux du cabinet du Docteur OUALD SAADI et le Docteur HADJOUT ; respectivement 23.33 % et 11.33%.

4. Répartition de la population selon le sexe

Dans notre population d'étude nous avons interrogé 150 patients, et la répartition des infections selon le sexe montre une prédominance des patients du sexe féminin qui représente 55 % des cas contre 45 % pour le sexe masculin. Le Sex-ratio (femme/homme) est caractérisée par un 1,55.

Une étude récente menée aux États-Unis par Sponchiado et de Souza a rapporté que 52% des patients étaient du sexe féminin, âgés entre 20 et 29 ans. [W1].

Cette prédominance féminine pourrait s'expliquer par la motivation des femmes de consulter plus les dentistes par rapport aux hommes. L'explication est à chercher de fait qu'elles sont plus préoccupées par l'esthétique et prenant plus soin de leur cavité buccale.

Selon ses auteurs cette prédominance s'explique par la mauvaise hygiène bucco dentaire et la prédominance de la caries dentaires chez les garçons.

Par contre Adja Bintou SARR dans sa série a trouvé une prédominance chez les femmes avec un taux a 61%, qu'elle avait expliqué pour le fait que celle-ci craignent les soins dentaires et retardent les consultation odontologiques (ADJA BINTOU SARR, 2008).

Tableau III : Répartition selon le sexe

Sexe	Effectif	Pourcentage(%)
Féminin	82	55
Masculin	68	45
Total	150	100

5. Répartition de la population selon l'âge

La moyenne d'âge est de 36.08 ans avec des extrêmes allant de 6ans à 70ans. Les enfants de moins de 15 ans représentaient 6.66 % des cas.

Tableau IV: Répartition selon les tranches d'âge

Age	Effectif	Pourcentage(%)
8-15	10	6.66
16-31	46	30.67
32-47	70	46.67
Plus 48	24	16
Total	150	100 %

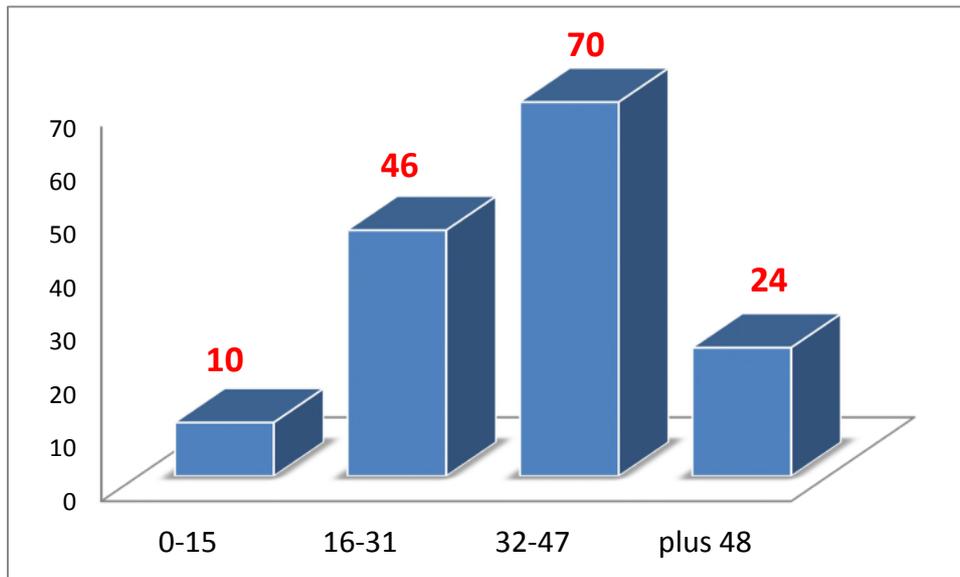


Figure N° 3 : Répartition selon tranches d'âge

La tranche la plus touchée se situe entre 32-47 ans avec **46.67%**, puis suit la tranche d'âge de **16-31**ans avec **30.67%** des cas, Les plus de 48 ans représentaient **16 %** des cas.

L'observation de ces tranches d'âges ; permet de constater que la tranche située entre 32-47 ans est la plus touchée par rapport aux autres tranches. Cela serait dû au fait que ces gens sont exposés aux risques alimentaires à cause de la vaste variété des produits alimentaires consommés par cette tranche d'âge et l'absence de l'hygiène bucco-dentaire.

La fréquence des infections décroît progressivement pour les gens plus de 48 ans. A cet âge il est signalé une régression du taux de germes dans la cavité buccale, ce qui expliquerait que les infections et caries dentaires sont rares.

6. Répartition des patients selon les cabinets dentaires :

Tableau III : Répartition des patients selon les cabinets dentaires

Cabinet dentaire	Effectif	Pourcentage (100%)
<i>Dr. Abassi</i>	66	44
<i>Dr.Aitkhaled</i>	13	8.66
<i>Dr.Oualdsaadi</i>	35	23.33
<i>Dr.Hemrioui</i>	8	5.33
<i>Dr.Oulbssair</i>	5	3.33
<i>Dr. Hadjout</i>	17	11.33
Dr. Hocini	6	4
TOTAL	150	100

La plupart de nos prélèvements venaient du cabinet du docteur ABASSI (66 %) suivis de ceux du cabinet du Docteur OUALD SAADI etle Docteur HADJOUT ; respectivement 23.33 % et 11.33%.

7. Répartition de la population selon le traitement de l'infection par des antibiotiques

On note d'après le tableau ci-dessous que les patients non traités par les antibiotiques étaient les plus dominants avec un taux de 67 % par raport a ceux qui ont subi un traitement a l'antibiotique a un taux de 33%

Tableau V : répartition de la population selon le traitement de l'infection par des antibiotiques

Traitement	Effectif	Pourcentage(%)
Oui	33	33
Non	67	67
Total	150	100

Selon les anciennes études, les β lactamine sont considérées pour longtemps, comme un antibiotique de choix pour les cliniciens (Manssour et al, 2008). Plusieurs études ont rapporté l'efficacité de cette molécule sur les souches d'entérobactéries productrices de Blse : une sensibilité de 100% a été rapportée par Goossens et Grabein,2.

8. Résistance aux antibiotiques chez les *Enterobacteriaceae*.

D'après la figure le taux de résistance reste élevé allant jusqu'à 92.68% à la ceftazidime, 88.62 à la cefotaxime et 83.74 à l'amoxicilline et 73.17 pour la Céfoxitine et aucune résistance vis-à-vis des antibiotique Aztereoneme avec un taux de 24.39 a noté aussi un taux de sensibilité aux C4G avec un taux de 33.33%

On remarque que l'ensemble des souches isolées sont résistantes à l'ensemble des antibiotiques testés. Pour ces souches, il a été nécessaire de pratiquer le test de synergie sur MH contenant de la cloxacilline à cause de la forte expression de leur céphalosporinases.

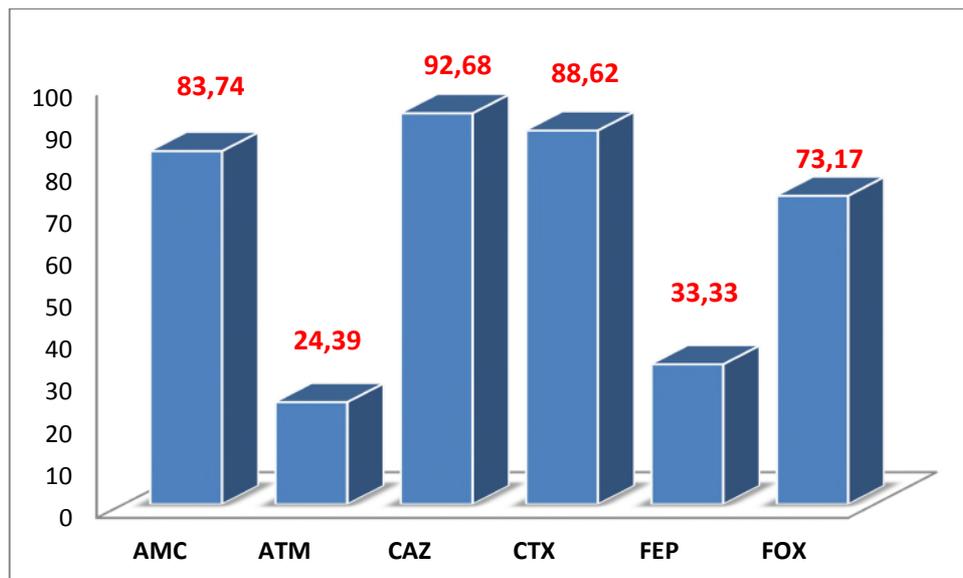


Figure N°4: Sensibilité aux β -lactamines de souches entérobactériennes aux antibiotiques

9. Résistance aux antibiotiques pour les souches résistantes isolées

La présence de cette résistance à tous les β -lactamines de ces les trois souches bactériennes ; Citrobacter Freundii et Enterobacter Cloacae, Klebsiella Pneumoniae ; suggérant la possibilité d'une hyperproduction de leur céphalosporinase chromosomique chez *C. freundii* et *E. cloacae*.

L'Acide nalidixique reste l'antibiotique de choix avec la sensibilité pour les deux souches : *K. pneumoniae* et *E. Cloacae*.

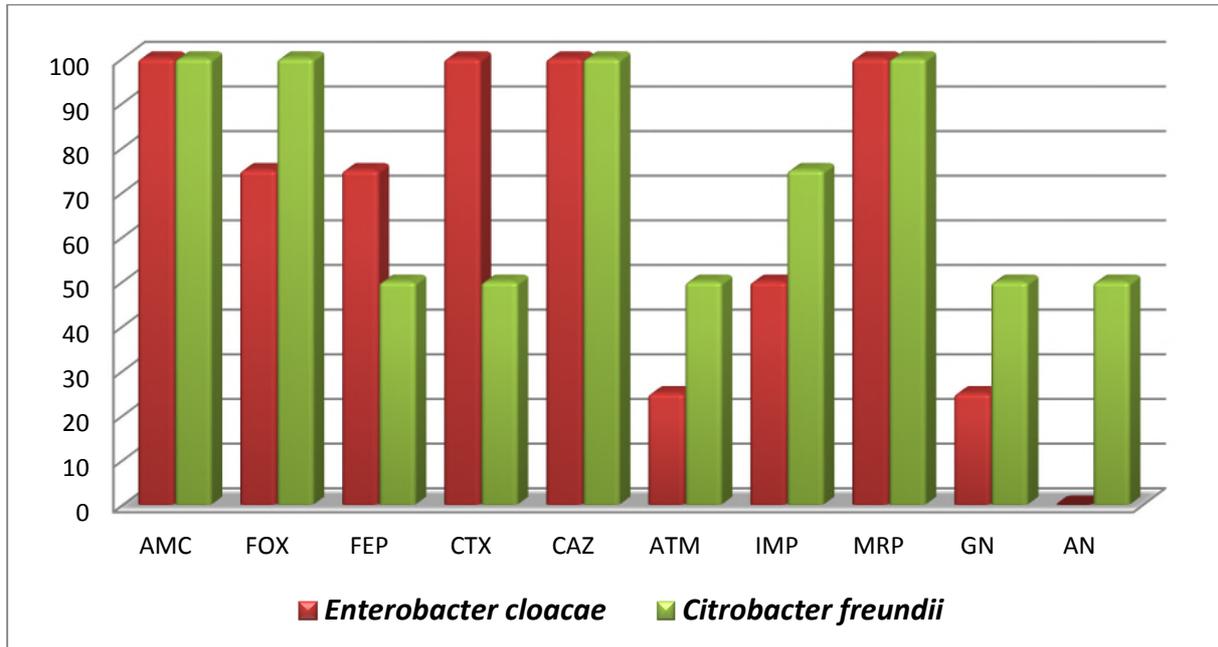


Figure N°5 : Sensibilité aux antibiotiques de souches entérobactéries résistantes.

D'après la figure N°5 on note La présence de la résistance à tous les β -lactamines de ces les trois souches bactériennes ; **Citrobacter Freundii** et **Enterobacter Cloacae**, **Klebsiella Pneumoniae** ; suggérant la possibilité d'une hyperproduction production de leur céphalosporinases chromosomique chez **C. freundii** et **E. cloacae**.

L'Acide nalidixique reste l'antibiotique de choix avec la sensibilité pour les deux souches : **K. pneumonie** et **d'E. Cloacae**.

Les résultats obtenu a partir des antibiogrammes standards et les diamètres des zones d'inhibition (mm) obtenue sont montré dans la figure 5,

D'après la figure, le taux de résistante :

- pour la souche **Klebseila pneumonie** reste élevé allant jusqu'à 100% a l'amoxiciline , 100% a Céfoxitine , 100% a la Céfépime , 100% a la Céfotaxime, ,100% a la céftazidime,100% a Aztréoname , 100% a meropeneme et une résistance intermédiaire a IMP 50% et une sensibilité a la gentamycine et acide Nalidixique.
- Pour la souche **citobacter freundii** on note une résistante vis-à-vis des antibiotiques 100% a l'amoxiciline ainsi que la Céfoxitine et la ceftazidime, Meropeneme et une resistente 70% pour Imipenème .

On note aussi une sensibilité Vis-à-vis des antibiotiques Céfépime, Céfotaxime, Aztréoname, Gentamycine, acide nalidixique a des pourcentages de 48%

- Pour les souches **Enterobacter Cloaceae** :

On note une résistance importante Vis-à-vis de l'AMC, CTX, CAZ, MRP a 100% et 75% a la FOX et FEP et a une sensibilité vis-à-vis de ATM avec un pourcentage de 20%, IMP 48% et 22% a la GN et 0% a l'acide Nalidixique .

10. Prévalence des BLSE

La prévalence des souches BLSE parmi les souches d'entérobactéries étudiées au cours de notre étude témoigne l'émergence de ce phénomène en médecine de ville alors que jusqu'à la fin des années 90, les BLSE étaient principalement identifiées dans des souches de **K. pneumoniae** en milieu hospitalier (Carrër et Nordmann, 2009).

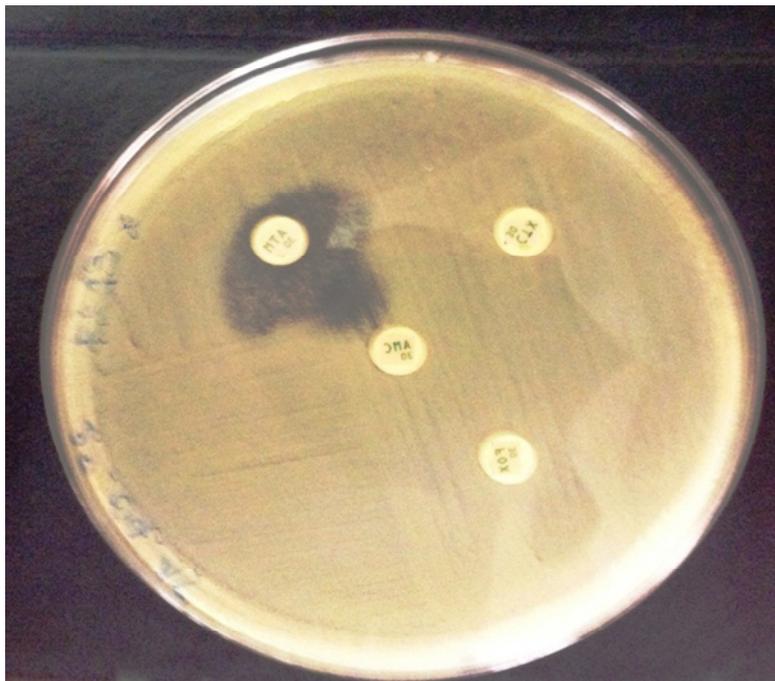
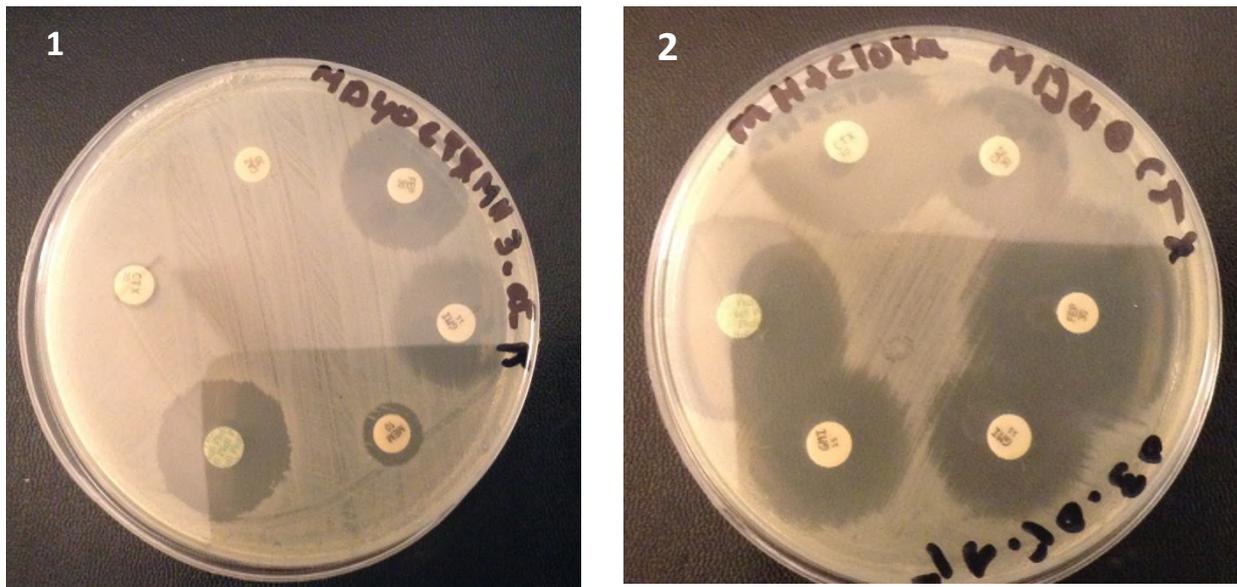


Figure N° 6 : DD-test sur gélose Mueller Hinton

11. DD-test sur Mueller Hinton à la cloxacilline

Pour les 04 souches d'Enterobacter Cloacae qui n'ont pas présenté une image de synergie sur gélose MH, le même test est effectué sur gélose MH additionnée de la cloxacilline à 250µg /ml.



Boîte 1 : Gélose Müller-Hinton. Boîte 2 : Gélose Müller-Hinton additionnée de 250 mg/L de cloxacilline.

Figure 11 : DD-test sur Mueller Hinton à la cloxacilline pour la souche Enterobacter Cloacae présentant un phénotype de céphalosporinases hyper produite.

Pour les 04 souches de Citrobacter Freundii qui n'ont pas présenté une image de synergie sur gélose MH, le même test est effectué sur gélose MH additionnée de la cloxacilline à 250µg /ml. On note une récupération au niveau des diamètres d'inhibition.

Au cours de notre études au total 150 échantillons de dents ont été collectés chez 7 dentistes de la région de la wilaya de Bejaia dont la plupart de nos prélèvements venaient du cabinet du docteur Abassi avec un taux de 44%, et 8.66% chez Dr. Aitkhaled. 23.33% chez Dr. Oualdsaadi, 5.33% chez Dr. Hemrioui. 3.33% Chez Dr. Oulbssair, 11.33% chez Dr. Hadjout. 4% chez Dr. Hocini.

Parmi 263 souches on a isolé et identifié 123 souches d'entérobactéries dont 40% **pour citrobacter Freundii** et 40% **d'enterobacter cloaceae** et 20% **Klebseilla pneumoniae**.

Les souches étudiées présentent une forte résistance à la famille des β - lactamines avec des taux de résistance de 100% a la ceftazidime, 100% résistantes à l'amoxicilline de 3eme génération et l'aztréoname. On remarque que l'ensemble des souches isolées sont résistantes à l'ensemble des antibiotiques testés.

D'après nos résultats, Des patients du sexe féminin et la tranche d'âge entre (32-47) ans sont les plus touché par le phénomène de résistance (MKaouar et al.,2008) par rapport aux autre tranche d'âge (MKaouar et al.,2008).

Les bacilles à gram négatif, dont les entérobactéries restent les bactéries les plus isolées dans les plaques dentaires.

Le traitement de choix pour ces infections dentaire reste les β -lactamines à large spectre, dont Les céphalosporines de 3 éme génération.

Les taux de résistante des souches d'entérobactéries aux β -lactamines sont élevés à l'exception d'imipenème qui reste actif sur toutes les souches. Nos résultats montrent que L'imipenèmes est la seule β lactamine active pouvant être utilisée comme un traitement alternatif pour ces souches résistantes au cefotaxime et ceftazidime. Des études épidémiologiques seront nécessaires pour évaluer de façon précise la distribution de ces β -lactamases qui pourraient émerger plus dans le futur. Une meilleur maitrise en termes d'hygiène buccodentaire (brossage biquotidien, exposition aux fluorures, alimentation variée) et un meilleur contrôle de la consommation en antibiotique seraient toute fois des facteurs favorisants une maitrise des risques.

Références bibliographiques

A

- ✚ **ADJA BINTOU SARR.** (2008). Aspect clinique et thérapeutique des cellulites prémaxillaires dans le département de MBACKE. Thèse : chir. Dent : 2008 ; N° 04

- ✚ **André Luiz Barbagallo.** (2012). étude de la diversité microbienne sous gingivale chez des patients diabétiques. faculté de médecine dentaire université laval québec.

- ✚ **Anne- Gaëlle venier.** (2001). pseudomonas aeruginosa en réanimation épidémiologie en réanimation épidémiologie et facteurs en réanimateur de risque d'acquisition.

B

- ✚ **Baba Ahmed-Kazi TaniZ., ArletG.** (2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. Pathologie Biologie **62**:169–178.

C

- ✚ **Cavallo J-D., FabreR., Jehl F., RappC., GarrabéE.** (2004). Bêtalactamines. EMC- Maladies infectieuses. **1**: 129-202.

- ✚ **Cattoir V., DaurelC.** (2010). Quelles nouveautés en antibiothérapie ?. Médecine et maladies infectieuses. **40**: 135–154.

D

- ✚ **Drieux, I.S.F., Brossier, W., Sougakoff and V. Jarlier.** (2008). β -lactamine detection of extended-spectrum reviderwand bench guide .clin.Microbiol.infect.14 suppl 1.90-30.

F

- ✚ **FLORIAN OLANIE(2008)** .les testes biologiques en parodontologie.universite de nantes.unite de formation et de recherche d'odontologie.

G

- ✚ **Grollier G., Le Moal G., Robert R.** (2004). Infections dues aux bactéries anaérobies de la flore endogène (Clostridium difficile et Actinomyces exclus). EMC-Maladies Infectieuses1:262–280.

H

- ✚ **Higgins C. S., Murtough S. M., Williamson E., Hiom S. J., Payne D. J., Russell A. D., Walsh T. R.** (2001). Resistance to antibiotics and biocides among non-fermenting Gram-negative bacteria. Clin. Microbiol. Infect.7: 308–315.4
- ✚ **H. Rodriguez-Villalobos , M.-J. Struelens.** (2006). résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. réanimation 15 205–213

J

- ✚ **JULIA S.** (2013). Endocardites infectieuses intérêt d'une antibioprophylaxie chez les patients à risques pris en charge pour des soins buccodentaires. Thèse de Docteur en chirurgie dentaire, Université Toulouse III, p. 103.

M

- ✚ **Masson WE.**, (1994). Diagnostic bacteriologic tests in periodontal therapy. J. Mich. Dent. Assoc. **76**: 40-59.
- ✚ **Mme Medroua Chafiaa épouse Benbalagh.** (2010-2011). détection des concentrations minimales inhibitrices (CMI).

O

- ✚ **Oliphant C. M., and Eroschenko K.** (2015). Antibiotic Resistance, Part 2: Gram-negative Pathogens. The Journal for Nurse Practitioners. **11**: 79-86.

S

- ✚ **Sixou M, Diouf A, Alvares D.** (2007). biofilm buccal et pathologies bucco-dentaires. em consult, édition elsevier masson, vol n°3, p 181-188.

ANNEXE 2

TableauN°1 : les marques des milieux de culture utilisés

Milieux de culture	Marque des milieux de culture
Bouillons nutritifs	HEMIDIA
Gélose Mac Conkey	HEMIDIA
Gélose Mueller - Hinton	HEMIDA
TSI	HEMIDA

Annexe

ANNEXE 1 :

composition des milieux de culture (1 j d'eau distillée, en g/l) (Guiroud, 2003)

Bouillon nutritif

Peptone.....	10g
Chlorure de sodium.....	5g
Extrait de Viande	5g
Gélose Mac conkey :	
Peptone de caséine	17g
Peptone de viande	3g
Lactose	10g
Mélange de sels biliaires	1.5g
Chlorure de sodium.....	0.05g
Rouge neutre	0.03g
Cristal Violet.....	0.001g

Gélose Mueller Hinton :

Infusion de viande de	
bœuf.....	3g
Hydrolysate de caséine.....	17.5g
Amidon.....	1.5g
Agar.....	17g

Gélose TSI (Tree sugar and Ion) :

Extrait de viande de bœuf.....	3g
Extrait de levure	3g
Peptone tryptique.....	20g
Chlorure de sodium.....	5g
Citrate Ferrique.....	0.3g

Thiosulfate de sodium.....	10g
Lactose	10g
Glucose.....	1g
Saccharose.....	10g
Rouge de phénol.....	0.05g
Agar.....	12g

Ph: 7.4

RESUME : l'objectif de notre travail la détermination des profils de résistance aux différentes familles d'antibiotiques (β -lactamines) chez des souches D'entérobactéries isolées d'échantillons de dents. la sensibilité des ces souches d'entérobactéries aux b-lactamases a été réalisé par la méthode de l'antibiogramme standard. les phénotypes de résistances aux b-lactamases ont été déterminés par le ;DD-test. Au total 123 d'entérobactéries ont été isolées et identifiées à partir de 150 prélèvements avec un taux 48,66%.

La plupart des souches étudiées présente une forte résistance à la famille b-lactamases, ces souches résistent par la production des BLSE. L'émergence des entérobactéries isolées de dents représente un sérieux problème (apparition de la BLSE) dans l'échec thérapeutique, d'où la nécessité des dentistes de respecter les règles internationales de prescription d'antibiotiques.

Mots-clés ;Dent, entérobactéries. Résistances, BLSE.

Abstract ;the objective of our work identifying resistance patterns different families of antibiotics (β -lactam) in Enterobacteriaceae strains isolated from D'samples dents. la sensibilité of these strains of Enterobacteriaceae was b-lactamases produced by the method of antibiotic sensitivity standard. les resistance phenotypes to b-lactamases were determined by; DD-test. Au total 123 enterobacteria were isolated and identified from 263 samples at a rate 48.66 %.

Most strains studied has high resistant to b-lactamase family with a rate of 100% and 100% has C3G. 100% of strains resistant by producing ESBL. L'émergence isolated teeth Enterobacteriaceae is a serious problem in the therapeutic failure, or requires dentists to respect the international rule of prescription antibiotics.

the objective of our work identifying resistance patterns different families of antibiotics (β -lactam) in Enterobacteriaceae strains isolated from D'samples dents. la sensibilité of these strains of Enterobacteriaceae was b-lactamases produced by the method of antibiotic sensitivity standard. les resistance phenotypes to b-lactamases were determined by; DD-test. Au total 123 enterobacteria were isolated and identified from 263 samples at a rate 48.66 % . Most strains studied has high resistant to b-lactamase family with a rate of 100% and 100% has C3G.

100% of strains resistant by producing ESBL. L'émergence isolated teeth Enterobacteriaceae is a serious problem in the therapeutic failure, or requires dentists to respect the international rule of prescription antibiotics