

N° d'Ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DES SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V.)

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé du thème :

Caractérisation des microorganismes responsables d'infections dentaires et effets de produits naturels

Présenté par : Melle RAIS Chahinez

Melle KHELFAOUI Souad

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : **Mr** MARROKI Ahmed (M.C.A/ UDL/SBA)

Examineur : **Mme** ZEMRI Khalida (M.C.A/ UDL/SBA)

Promoteur : **Mme** BOUSMAHA-MARROKI Leila (M.C.A/ UDL/SBA)

Année universitaire 2020 - 2021

Session : « Juin »



Remerciement

Nous tenons dans un premier temps à exprimer toute notre reconnaissance à notre directrice de mémoire, Dr BOUSMAHA-MARROKI Leila Maitre de Conférence A pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nos réflexions.

Nous remercions vivement le président et l'examinatrice de notre jury pour avoir bien voulu accepter faire partie de la commission d'examineur :

Dr. MARROKI Ahmed maitre de conférences A à l'université de Djilali Liabes de Sidi Bel Abbes qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de soutenance.

Dr. ZEMRI Khalida maitre de conférences A à l'université de Djilali Liabes de Sidi Bel Abbes pour nous avoir fait l'honneur d'évaluer notre travail.

Tous nous remercions vont aussi à tous les ingénieurs du laboratoire de Microbiologie Appliqué de la faculté des SNV, UDL, SIDI BEL ABBES.

Nous désirons aussi remercier cordialement le Dr CHEHIDI Younes chirurgien-dentiste et sa secrétaire MAHI Safaa pour les prélèvements qu'ils ont pu nous fournir à la réussite de notre mémoire.

Nous adressons nos sincères remerciements à nos professeurs qui étaient toujours présents pour nous, et pour leur apprentissage durant ces années universitaire.

Merci à tous ceux qui ont contribué à la concrétisation de ce modeste travail.

Dédicace

Je rends grâce à DIEU le tout puissant qui ma permit de mener à bien ce projet de fin d'étude.

Je dédie ce mémoire fuit de mon long chemin :

A ma chère maman toutes mes joies, mon amour et ma reconnaissance. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

A mon très cher père, rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être, Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous, Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation, longue vie et bonheur papa.

A ma très chère grand-mère que dieu prête longue vie.

A ma chère cousine Saida et leur soutien et leur merveille conseils.

A mon intime et mon binôme Chahinez et sa famille.

A mes amis et collègues.

A toute personne ayant de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Souad

Dédicace

Je rends grâce à DIEU le tout puissant qui m'a permis de mener à bien ce projet de fin d'étude.

Je dédie ce mémoire, fruit d'un dur labeur à :

Ma très chère maman, aucun mot ne peut exprimer tout mon amour et ma gratitude, je te remercie pour tous les sacrifices que tu as pu faire pour moi, ainsi que pour ton amour inconditionnel, ta tendresse, ton soutien, tu n'as pas cessé de m'encourager tout au long de ma vie.

A mon très cher papa, pour son amour, son dévouement, sa sagesse et sa tendresse indéfectible, merci pour l'éducation que tu m'as donnée et d'avoir été toujours présent à mes côtés, je vous dédie à tout deux ce travail en témoignage de mon éternellement reconnaissance et mon profond amour pour tout ce que vous m'avez apporté, j'espère vous avoir rendu fière.

A ma petite sœur Wafaa pour sa bienveillance, son appuie, ses encouragements et sa joie de vivre, merci de toujours m'écouter.

A mes grands frères Fayçal et Karim pour leur aide, encouragements et leur affection.

A ma chère tante Zoubida Kouti pour ses chaleureux conseils, sa confiance et son soutien inestimable.

A mon amie et binôme Souad pour sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet, et a tous mes amis et collègues.

A toute personne ayant de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Chahinez

Liste des figures

Figure 01 : Vue antérieure de la cavité buccale.....	02
Figure 02 : Schéma de la structure dentaire.....	04
Figure 03 : A : la carie dentaire, B : évolution de la carie dentaire.....	11
Figure 04 : Photos représentatif de tartre dentaire.....	11
Figure 05 : Gingivite.....	12
Figure 06 : A : Parodontite , B : Évolution de la parodontose.....	13
Figure 07 : Représentation schématique du développement et de la structure d'un biofilm bactérien.....	16
Figure 08 : Phase d'adhésion réversible.....	17
Figure 09 : Adhérence bactérienne, adhésines spécifiques.....	18
Figure 10 : Étape de formation de micro-colonies.....	18
Figure 11 : Phase de maturation du biofilm.....	19
Figure 12 : Phase de détachement cellulaire.....	20
Figure 13 : Miswak qui est principalement obtenu à partir de fines branches d'Arak.....	24
Figure 14 : Arbre <i>Salvadora Persica</i>	25
Figure 15 : Technique de brossage avec le Miswak.....	26
Figure 16 : Dentifrice Colgate herbal Miswak.....	26
Figure 17 : Bâtonnets frotte-dents commercialisés.....	27
Figure 18 : Propolis brute.....	27
Figure 19 : Bains de bouche à base de propolis.....	28
Figure 20 : Dentifrice à base de propolis.....	29
Figure 21 : Dentifrices à base de cannelle.....	29
Figure 22 : Dentifrice à base de lavande.....	30
Figure 23 : Photos de l'huile essentielle à la lavande.....	40
Figure 24 : Photographie d'une microplaque inoculée.....	40
Figure 25 : fréquence d'extraction dentaire et de détartrage en fonction d'âge et sexe.....	41

Figure 26 : fréquence de motif de consultation.....	42
Figure 27 : Les fréquences de la mauvaise haleine en fonction de la carie dentaire et tartre.	43
Figure 28 : Les fréquences de brossage des dents en fonction de la mauvaise haleine.....	43
Figure 29 : photographies des tubes de prélèvements après incubation.....	44
Figure 30 : fréquence de souches isolées à partir de chaque patient.....	44
Figure 31 : nombre de cocci et bacilles en fonction de Gram.....	45
Figure 32 : Répartition du total des isolats en cocci/bacilles et selon le type de Gram.....	45
Figure 33 : pourcentage de répartition des souches isolées à partir de la carie dentaire et du tartre en fonction de Gram	46
Figure 34 : Observation macro et microscopique de <i>Staphylococcus</i> spp	47
Figure 34 : Observation macroscopique et microscopique des Cocci Gram +.....	47
Figure 35 : Observation macroscopique et microscopique des Bacilles Gram+.....	48
Figure 36 : Observation macroscopique et microscopique des Bacilles Gram -.....	48
Figure 37 : Observation macroscopique et microscopique des <i>Candida</i> spp.....	49
Figure 38 : Photo de la coloration au vert de malachite pour <i>Bacillus cereus</i>	49
Figure 39 : photos d'observation du test de catalase	50
Figure 40 : photos d'observation du test de coagulase négative.....	50
Figure 41 : photos d'observation du test de Citrate de Simmons.....	51
Figure 42 : Test Mannitol-Mobilité.....	51
Figure 43 : <i>Staphylococcus xylosus</i> Aéro-anaérobie facultatif	52
Figure 44 : <i>Lactobacillus salivarius</i> Aérobie stricte.....	52
Figure 45 : Test de TSI.....	52
Figure 46 : Identification des isolats par l'Api 20 Strept.	56
Figure 47 : Identification des isolats par l'Api Staph.....	56
Figure 48 : Identification des isolats par l'Api 20 E.....	57
Figure 49 : Identification des souches de <i>Lactobacillus</i> par la plaque API 50CHL.....	57
Figure 50 : Fréquence de production du slime par les souches isolées	58

Figure 51 : Dépistage de la production de biofilm par la méthode Rouge Congo Agar (RCA)	59
Figure 52 : Fréquence d'adhésion des souches isolées sur des lames après 3h.....	59
Figure 53 : Observation microscopique de production du slime bactérien par <i>Staphylococcus</i>	60
Figure 54 : Observation microscopique de production du slime bactérien par les Cocci Gram +.....	60
Figure 55 : Observation microscopique de production du slime bactérien par les Bacilles Gram +.....	61
Figure 56 : Observation microscopique de production du slime bactérien les Bacilles Gram -	61
Figure 57 : Observation microscopique de production du slime bactérien par <i>Streptococcus</i> <i>mutans</i>	62
Figure 58 : Observation microscopique de production du slime bactérien par <i>Candida</i> <i>albicans</i>	62
Figure 59 : Observation de résultat de sensibilité et de résistance bactérienne après l'antibiogramme.....	63
Figure 60 : Les résultats de l'étude du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de lavande sur les <i>staphylococcus epidermidis</i>	65

Liste des tableaux

Tableau 01 : Principaux Cocci à Gram positifs et négatifs, aérobies, anaérobies facultatifs et anaérobie stricte retrouvés dans la cavité buccale.....	06
Tableau 02 : Principaux Bacilles à Gram positifs aérobies, anaérobies facultatifs et anaérobie stricte retrouvés dans la cavité buccale.....	08
Tableau 03 : Principaux Bacilles à Gram négatifs aérobies, anaérobies facultatifs et anaérobie stricte retrouvés dans la cavité buccale.....	09
Tableau 04 : Caractéristiques de la plaque supra-gingivale, de la plaque sous-gingivale et le revêtement de la langue comme niches écologiques.....	23
Tableau 05 : Les principales bactéries retrouvées dans le biofilm supra et sous-gingivale ainsi que le revêtement de la langue.....	23
Tableau 06 : les antibiotiques utilisé.....	39
Tableau 07 : résultats de l'identification des souches isolées de la cavité dent aire des patients avec pathologies bucco-dentaires.....	54-55
Tableau 08 : Résultats de l'antibiogramme des souches de la plaque dentaire.....	64
Tableau 09 : L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de lavande sur les isolats de la plaque dentaire.....	66

Liste des abréviations

RCA : Rouge Congo Agar

BHIB : bouillon cœur cerveau

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

µl : microlitre

g/l : gramme/litre

ml : millilitre

PH : potentiel d'hydrogène

POR : potentiel d'oxydo-réduction

GCF : fluide crevulaire gingival

FVC : force vitale capacité

SXT : Co-trimoxazole = triméthoprim + sulfaméthoxazol

OFX : Ofloxacin

C : Chloramphénicol

CIP : Ciprofloxacine

P : Pénicilline

AMP : Ampicilline

VA : vancomycine

OX : Oxacilline

TE : Tétracycline

FA : Acide fusidique

PB : Polymexine B

AK : Amikacine

DA : Clindamycine

CAZ : Ceftazidime

AML : Amoxicilline+Ac.clavulanique

RA : Rifampicine

HL : huile essentielle

CMI : concentration minimale inhibitrice

Résumé

La santé bucco-dentaire est essentielle pour l'état général et la qualité de vie. Un milieu buccal pathologique (associé à des maladies carieuses ou parodontales) résulte d'un déséquilibre avec un envahissement par des microorganismes cariogènes ou parodontopathogènes et ce qu'on appelle le biofilm dentaire. L'un des facteurs de risque de ces infections buccales est une hygiène bucco-dentaire insuffisante.

Des analyses statistiques ont été réalisées par le biais d'un questionnaire afin d'évaluer plusieurs paramètres liés aux pathologies parodontales tels que l'âge et le sexe, le motif de consultation et la présence d'une mauvaise haleine ou non et l'hygiène bucco-dentaire. Les données ont une prépondérance de la carie dentaire chez les jeunes hommes contrairement aux femmes qui présentent plus de tartre, ces données statistiques ont également montré qu'un bon état de santé bucco-dentaire est significativement associé à une bonne pratique d'hygiène qui peut éviter une mauvaise haleine.

A partir de caries et tartre dentaire nous avons isolé 18 souches identifiées comme appartenant ; *Staphylococcus* spp, *staphylococcus xylosum*, *citrobacter freundii*, *candida albicans*, *Aerococcus viridans*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Pantoea* spp, *Enterobacter sakazaki*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus paracasei* spp, *Bacillus* spp, *Enterococcus faecium*, *Micrococcus* spp. Parmi ces souches 15 sont productrices de slime par la méthode de Rouge Congo Agar (RCA) et la technique sur lame révèle un fort pouvoir d'adhésion. Le test d'évaluation de la résistance aux antibiotiques a montré une forte résistance à l'oxacilline, l'amoxicilline, la polymyxine B et l'ampicilline et une forte sensibilité à la ciprofloxacine et la tétracycline.

L'évaluation de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *L. dentata* L., ont permis de mettre en évidence l'activité antibactérienne de l'huile essentielle sur les souches isolées de biofilms dentaire qui s'est montrée active avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) située entre 1280 µl et 640 µl.

Mots clés : infections buccales, caries dentaires, tartre, biofilms dentaire, l'huile essentielle de lavande, CMI.

ضرورة (و الالتهابات كفاية . الحيوي يسمى . ونوعية الحياة . البيئة المرضية للفم) الدقيقة الرئيسية لتهابات هي: التدخين التغذية

التحليلات الإحصائية الاستبيان الكريهة الجيدة كبرى الجيدة . تقييم العديد . البيانات ي . لديهن المزيد الجير، تظهر هذه البيانات الإحصائية أيضاً الجيدة يمكن الكريهة

18 والجير هذه السلالات تنتمي الى

Staphylococcus spp, staphylococcus xylosus, citrobacter frendi, candida albicans, Aerococcus viridans, Lactococcus lactis, Enterococcus faecalis, Streptococcus mutans, Pontoea spp, Enterobacter sakazaki, Lactobacillus brevis, Lactobacillus salivarius, Lactobacillus paracasei spp, Bacillus spp, Enterococcus faecium, Micrococcus spp.

15 الغشاء الحيوي بطريقة Rouge cango agar واظرت تقنية صفائح الزجاج الكائنات الدقيقة.

أظهر الحيوية قوية للأوكساسيلين والأموكسيسيلين و البوليميكسين ب والأمينيسلين وحساسية عالية للسيروفلوكساسين والتتراسيكلين.

التحليلات الميكروبيولوجية للأغشية الحيوية للبيكتيريا التركيز بين 1280 ميكرو لتر 640 ميكرو لتر. زيت

الكلمات المفتاحية: التهابات الجير الأغشية الحيوية زيت

Abstract

Oral health is essential for general health and quality of life. A pathological oral environment (associated with caries or periodontal diseases) results from an imbalance with an invasion by cariogenic or periodontal pathogenic microorganisms and what is called dental biofilm. The main risk factors for these oral infections are: smoking, poor diet but also insufficient oral hygiene.

Statistical analyzes were carried out by the questionnaire ticket in order to assess several parameters relating to periodontal pathologies such as age and sex, the reason for consultation and the presence of bad breath or not and oral hygiene. The data have a preponderance of dental caries in young men unlike women who have more tartar, these statistical data also show that good oral health is significantly associated with good hygiene practices which can avoid bad breath.

From caries and dental calculus we isolated 18 strains identified as belonging; *Staphylococcus* spp, *staphylococcus xylosum*, *citrobacter freundii*, *candida albicans*, *Aerococcus viridans*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Pontoea* spp, *Enterobacter sakazaki*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus paracasei* spp, *Bacillus* spp, *Enterococcus faecium*, *Micrococcus* spp.

Among these strains 15 are slime producers by the Rouge Congo Agar (RCA) method and the slide technique reveals a strong adhesion power. The antibiotic resistance test showed strong resistance to oxacillin, amoxicillin, polymyxin B and ampicillin and high sensitivity to ciprofloxacin and tetracycline.

Microbiological analyzes have made it possible to demonstrate the antibacterial activity of lavender essential oil on dental biofilm strains, which is shown to be more active with a minimum inhibitory concentration between 1280 μ l and 640 μ l.

Keywords: oral infections, dental caries, tartar, dental biofilms, lavender essential oil.

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviation

Introduction1

CHAPITRE I : Synthèse bibliographique

I.La cavité bucca.....2

I.1. Généralité.....2

I.2. Anatomie de la bouche.....2

I.2.1. Organe dentaire.....3

I.3. Ecosystème de la cavité buccale.....4

 I.3.1. Les principaux Cocci.....5

 I.3.2. Les principaux Bacilles Gram positifs.....7

 I.3.3. Les Principaux Bacilles Gram négatifs.....9

II.....Pathologies infectieuse de la cavité buccale.....10

 II.1. Carie dentaire.....10

 1.1. Formation et évolution de carie dentaire.....10

 II.2. Tartre.....11

 2.1. Formation du tartre.....12

 II.3. Pathologies parodontales.....12

 II.3.1. Gingivites.....12

 II.3.2. Parodontites.....13

III. ... Biofilm dentaire.....14

 III.1. Définition.....14

 III.2. Facteurs physico-chimiques.....14

 a. Température.....14

 b. Humidité.....14

 c. PH.....15

 d. Nutriments.....15

 e. Potentiel d'oxydo-réduction.....15

III.3. Formation du biofilm dentaire.....	16
III.3.1. Formation de la pellicule acquise exogène (PAE).....	16
III.3.2. Phase d'adhésion réversible.....	16
III.3.3. Phase d'adhésion irréversible.....	17
III.3.4. Formation de micro-colonies.....	18
III.3.5. Maturation du biofilm.....	18
III.3.6. Détachement cellulaire.....	19
III.4.Mécanisme du Quorum sensing.....	20
III.5.Composition du biofilm dentaire.....	20
III.5.1. Matrice extracellulaire.....	21
III.5.2. Matrice cellulaire.....	21
III.5.3. Plaque dentaire.....	21
1. Classification de la plaque dentaire.....	21
1.1. Plaque supra-gingivale.....	21
1.2. Plaque sous-gingivale.....	22
1.3. Revêtement de la langue.....	22
IV. Usage des produits naturel sur les infections buccale.....	23
IV.1. Usage de la Chlorexidine (CHX).....	24
IV.2. Usage des produits naturels sur les infections bucco-dentaire.....	24
IV.2.1. Le Miswak.....	24
1. Généralité sur le Miswak.....	24
2. Propriétés Antibactériennes.....	25
3. Techniques de brossage avec le Miswak.....	25
4. Différents produits à base de Miswak.....	26
4.1. Les pates a dentifrices.....	26
4.2. Bâtonnets frotte dents.....	26
IV.2.2. Le propolis.....	27
1. Effets thérapeutiques.....	27
2. Applications en odontologie.....	28
2.1. Propolis pour la cicatrisation chirurgicale des plaies.....	28
2.2. La propolis en dentifrice.....	28
IV.2.3. Cannelle.....	29
1. Propriétés.....	29

2. Dentifrice à base de cannelle	29
IV. 2.4. La lavande.....	30
1. Produits à base de lavande.....	30

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

I. Période et lieu d'étude.....	31
II. Questionnaire.....	31
III. Population d'étude.....	31
IV. Prélèvement.....	31
1. Matériels utilisés.....	31
2. Technique.....	31
V. Ensemencement des milieux.....	32
VI. Repiquage.....	32
VII. Conservation des souches.....	32
VIII. Identification.....	32
1. Réalisation de la coloration de Gram.....	33
2. Recherche de la catalase.....	33
3. Recherche de coagulase.....	33
4. Coloration d'endospore.....	33
5. Le système API.....	34
5.1. Préparation de la galerie.....	34
5.1.1. Galerie 20 E.....	34
a. Préparation de l'inoculum.....	34
b. Inoculation de la galerie.....	35
5.1.2. Galerie 20 Staph.....	35
a. Préparation de l'inoculum.....	35
b. Inoculation de la galerie.....	35
5.1.3. Galerie 20 Strep.....	35
a. Préparation de l'inoculum.....	35
b. Inoculation de la galerie.....	35
5.1.4. Galerie 50 CH.....	36
a. Préparation du API 50 CHL Medium.....	36
b. Préparation de l'inoculum.....	36

c.	Inoculation de la galerie.....	36
6.	Tests de la galerie classique.....	36
6.1.	Mannitol mobilité-nitrate.....	36
6.2.	Test VF.....	36
	Lecture.....	37
6.3.	Citrate de Simmons.....	37
	Lecture.....	37
6.4.	Test TSI.....	37
	Lecture.....	37
II.	Détection du biofilm.....	38
1.	Etude de la formation du biofilm par la méthode rouge cango agar (RCA).....	38
2.	Etude de la formation du biofilm par méthode de goutte.....	38
III.	Etude de la résistance aux antibiotiques par l'antibiogramme.....	38
a.	Préparation de l'inoculum.....	38
b.	Préparation du milieu de culture.....	38
c.	Ensemencement.....	39
d.	Lecture.....	39
IV.	Effet inhibiteur de l'huile essentielle de <i>Lavandula dentata L.</i> sur les souches obtenu (CMI).....	39
2.	Inoculation de la microplaque.....	40
3.	Lecture des résultats.....	40

CHAPITRE III : Résultats et discussion

I.	Résultats de l'analyse des données du questionnaire.....	41
I.1.	Répartition selon l'âge et le sexe.....	41
I.2.	Répartition selon le motif de la consultation.....	42
I.3.	Répartition selon la mauvaise haleine et le brossage des dents.....	42
II.	Prélèvement.....	44
III.	Identification.....	44
III.1.	Caractérisation microscopique.....	44
III.2.	Coloration de spore.....	49
III.3.	Identification biochimique.....	50
3.1.1.	Résultats de tests catalase.....	50
3.1.2.	Résultats de tests coagulase.....	50

3.1.3.	Test Citrate de Simmons.....	50
3.1.4.	Mannitol-Mobilité.....	51
3.1.5.	Test VF.....	51
3.1.6.	Test TSI.....	52
3.1.7.	Résultat de l'identification des souches réparties par patient.....	53
3.2.	Résultats d'identification biochimique par Api système.....	56
3.2.1.	API 20 Strep.....	56
3.2.2.	API Staph.....	56
3.2.3.	API 20 ^E	57
3.2.4.	API 50 CHL.....	57
IV.	Résultats de l'évaluation de l'aptitude des isolats à former un biofilm.....	58
IV.1.	Production de biofilm par la méthode RCA.....	58
IV.2.	Adhésion de biofilm par méthode de goutte.....	59
V.	...Résultats de sensibilité et de résistance bactérienne.....	62
VI.	...Détermination de l'effet d'HE de lavande sur les souches de la plaque dentaire.....	65
	Conclusion.....	67-68
	Référence bibliographique.....	69-73
	Annexe.....	74-77

Introduction

La cavité buccale, qui regroupe nos lèvres, nos gencives, notre langue, et bien sûr nos dents, est un organe privilégié par les fonctions qu'elle nous confère : l'alimentation et la gustation, et de ce fait le milieu buccal représente des conditions de vie idéale pour la vie microbienne.

L'écosystème buccal est un environnement complexe dans lequel cohabitent plus de 700 espèces de bactéries à l'état planctoniques ou en biofilms. Le biofilm, est composé par la coexistence de toutes ces bactéries, dans un même habitat et communément appelé « plaque dentaire » dans la cavité buccale. Un déséquilibre au sein de ce biofilm est à l'origine des principales maladies de la cavité buccale : les maladies carieuses et parodontales (**Kolenbrander et al., 2006**).

La diversité microbienne et la richesse en nutriments impose une santé bucco-dentaire parfaite, et une hygiène adéquate de la cavité buccale et de ses annexes, pour un bon état de santé général (**OMS, 2018**). Néanmoins, par manque d'information ou de motivation, celle-ci n'est pas toujours pratiquée comme elle le devrait. Ce qui s'en suit la survenue de pathologies pouvant affecter les tissus dentaires et/ou buccaux, à l'origine de complications locales ou systémiques.

La formation de la plaque dentaire chez un individu sain implique un model ordonné de colonisation par une gamme de bactéries, et une fois l'équilibre dynamique est établi, la composition de la microflore résidente de chaque site reste relativement stable au fil du temps (**Marsh, 2003**).

Les interactions entre ces espèces bactériennes, dès les premières étapes de la colonisation jusqu'à la formation des plaques supra gingivales et sous-gingivales matures, sont les principaux agents étiologiques des maladies infectieuses de la bouche, comme la carie dentaire, la gingivite et la parodontite (**Kang et al., 2011**).

Comme partout dans le monde en Algérie les infections buccodentaires occupent une place importante. Une évaluation de la microflore buccale chez des sujets développant ces pathologies peut aider à leur maîtrise et réduction au sein de la population.

Par ce travail nous avons tenté de caractériser la flore buccale chez des patients sujets à des pathologies bucco-dentaires, soit présence de caries dentaires et de tartre, tous deux considérés comme des biofilms dentaires. Une évaluation de l'effet d'un produit naturel (huile essentielle) d'une Lavande endémique à l'Algérie a été également l'un des objectifs de cette étude. Les étapes de travail expérimentale de cette étude ont été agencés comme suit :

- Cibler une clinique dentaire et effectuer une enquête relative au sujets ayant accepté de participer à notre étude : réponse à un questionnaire et permission de prélèvements.
- Isoler des souches à partir de prélèvement d'écosystème buccaux (Carie – tartre) des patients atteints d'infection bucco-dentaire.
- Identifier et caractériser les souches isolées.
- Evaluer la capacité de différentes souches isolées à adhérer et à former un biofilm.
- Etudier leur état de résistance vis-à-vis d'une série d'antibiotiques.
- Evaluer l'effet de l'huile essentielle de *Lavandula dentata* L. sur les microorganismes isolés des biofilms dentaires.

Synthèse bibliographique

I. La cavité buccale

I.1. Généralité

La cavité buccale est un espace ouvert sur l'extérieur et constitue une porte d'entrée ainsi qu'un réservoir potentiel de bactéries pathogènes pour le corps humain. Elle détient plusieurs fonctions qui sont : la phonation, la mastication, la déglutition, la respiration et l'esthétique. Toutes ces fonctions sont déterminantes pour la santé générale. Il est donc primordial de préserver la santé buccale afin de maintenir la qualité de vie de l'individu (Secci, 2006).

Cette même cavité est l'entrée du tube digestif, ce dernier est anatomiquement continu et abrite environ 1×10^{14} micro-organismes, ce qui est plus que les quelque 6×10^{13} cellules qui constituent le corps humain tout entier. Sur les différents sites du corps, la cavité orale est l'une des plus densément peuplées et plus de 500 espèces de micro-organismes ont été isolés à partir de cette cavité en utilisant des méthodes de biologie moléculaire récemment développées. Ces micro-organismes colonisent les surfaces orales où ils forment un consortium microbien appelé plaque dentaire ou biofilm oral (Takahashi, 2005).

I.2. Anatomie de la bouche

La cavité buccale va de l'entrée de la bouche entre les lèvres jusqu'à l'isthme pharyngobuccal entre les arcs palato-pharyngiens. Ces derniers sont deux plis muqueux situés l'un derrière l'autre, entre lesquels siègent de chaque côté les tonsilles (amygdales) palatines. En en avant, on y trouve les lèvres supérieure et inférieure ; Latéralement, la cavité buccale est limitée par les joues, en bas par le plancher de la bouche et en haut par le palais dur et le palais mou. Le palais dur situé en avant est de l'os recouvert de muqueuse, alors que le palais mou est une plaque musculaire recouverte de muqueuse. La langue est attachée au plancher de la bouche. La cavité buccale proprement dite est séparée du vestibule buccal par les dents mandibulaires et les dents maxillaires (Kugler, 2014).

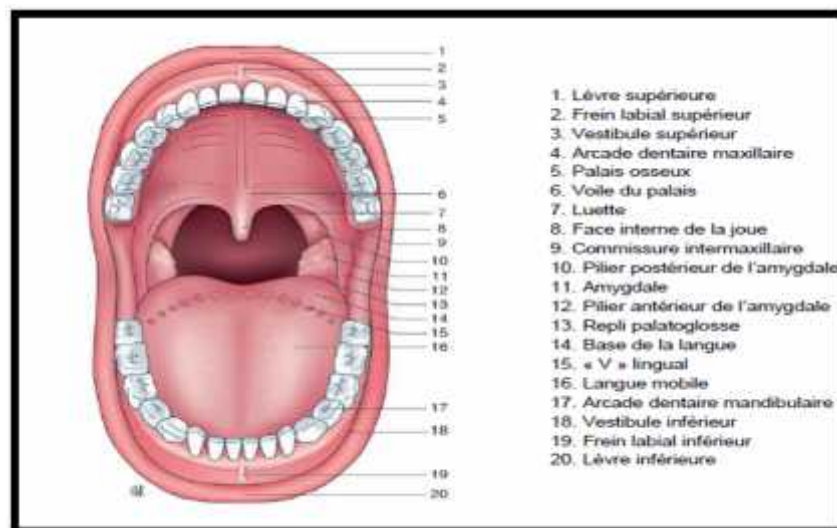


Figure 1 : Vue antérieure de la cavité buccale (Vacher et al., 2008).

1.2.1. Organe dentaire

Les dents ne ressemblent à aucune autre structure externe du corps. Elles sont dures et ne perdent pas leurs cellules de surface, si bien qu'elles favorisent l'accumulation des microorganismes et des substances qu'ils sécrètent. Cette accumulation, appelée plaque dentaire, est en fait un type de biofilm qui influe grandement sur la formation de la carie dentaire, c'est-à-dire la détérioration de la dent (**Tortora et al., 2012**).

La dentition humaine est dite hétérodonte, ce qui signifie qu'elle est composée de différents types ou classes de dents pour remplir différentes fonctions dans le processus de mastication (**Fuller et al., 1977**). Cela dit, la cavité buccale est composée de deux rangées de dents ordonnées. L'ensemble des dents forment la dentition. Les dents de lait sont formées en premier puis plus tard ce sont les dents définitives ou la dentition définitive. La percée des 20 dents de lait début aux environs du 6 mois. Par hémi-mâchoire, on trouve deux incisives, une canine et deux molaires. À partir de l'âge de 6 ans, les dents de lait sont remplacées par 32 dents définitives lors du changement de dents. Par hémi-mâchoire, il existe : deux incisives, une canine, deux prémolaires, trois molaires dont la plus postérieure est aussi appelée dent de sagesse (**Kugler, 2014**).

La composition des dents peut être complexes ; ce sont des organes épithéliomes enchymateux, et peuvent être considérées comme des phanères et sont dérivées des odontodes. Ces structures dentinaires superficielles, éléments d'exosquelette, éventuellement recouvertes d'émail ou de matrice énaméloïde (**Goldberg et al., 2001**). La dent définitive est constituée de trois parties ; la couronne dentaire qui émerge de la gencive, le collet dentaire qui est recouvert par la gencive et émerge de l'alvéole dentale osseuse, ainsi que la racine dentaire qui est ancrée dans l'alvéole dentaire de l'os de la mâchoire (**Kugler, 2014**). Chaque dent humaine est composée de : 03 tissus calcifiés à différents degrés (émail (96 %), dentine (69 %), cément (46 %)) (**Secci, 2006**).

Un tissu conjonctif au centre, mou spécialisé qui est constitué de la pulpe (partie vivante de la dent) (**Tabet-Aoul et al., 2017**). Ainsi que de l'émail qui est la dentine de la couronne dentaire et donc de la partie visible la dent est recouverte par une épaisseur de 1-2 mm d'émail. L'émail acellulaire est la substance la plus dure du corps. Il est constitué à 99 % du composé calcique cristallin hydroxyapatite, organisé en prismes (**Kugler, 2014**).

Le cément qui représente une couche jaunâtre recouvrant la partie externe de la racine de la dent (**Tabet-Aoul et al., 2017**). Le cément est composé de petits cristaux d'hydroxyapatite, de fluor et de magnésium et recouvre la surface radiculaire des dents. Il participe au mécanisme de fixation de la dent dans l'os alvéolaire (os entourant la dent et qui tapisse l'alvéole dentaire). Les fibres du ligament desmodontal sont insérées à la surface externe du cément (**Secci, 2006**). Sans oublier la dentine qui est le cœur de la dent est formé d'une substance similaire à l'os. Elle est constituée d'environ 70 % de composés anorganiques, principalement calcique (**Kugler, 2014**). Et pour finir la Cavité pulpaire, C'est la zone centrale de la dent libre de dentine. Elle est bordée en périphérie par les corps cellulaires des odontoblastes. L'espace restant est rempli de tissu conjonctif mou (pulpe). La cavité pulpaire

se poursuit dans le canal radiculaire par lequel pénètrent les vaisseaux sanguins et les fibres nerveuses pour la température et la douleur (**Kugler, 2014**).

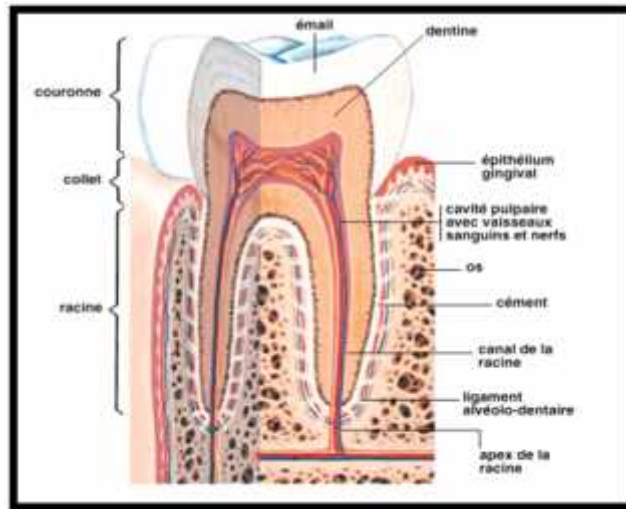


Figure 2 : Schéma de la structure dentaire (Secchi, 2006).

I.3. Écosystème de la cavité buccale

La diversité environnementale de la cavité buccale favorise l'établissement de communautés microbiennes distinctes, telles que la plaque supra-gingivale et le revêtement de la langue. Les propriétés de l'environnement déterminent quels micro-organismes peuvent occuper un site, tandis que les activités métaboliques de ces communautés microbiennes modifient par la suite les propriétés de l'environnement (**Takahashi, 2005**).

Bien qu'elle puisse être stérile à la naissance, La cavité buccale abrite un des écosystèmes bactériens les plus complexes de l'organisme. Plusieurs centaines d'espèces de micro-organismes cohabitent dans le milieu buccal : bactéries, levures, protozoaires et virus. Cette cavité naturelle constitue avec le côlon la partie la plus sceptique de l'organisme humain. On a pu quantifier cette population : un milligramme de plaque contient environ 100 millions de bactéries, 1 millilitre de salive contient un nombre moyen de 750 millions de bactéries. La diversité bactérienne requiert, pour vivre et se développer dans ce milieu, des surfaces d'adhésions favorables, des conditions nutritives et respiratoires riches et variées, des facteurs physicochimiques compatibles et des facteurs inhibiteurs maîtrisables. La complexité de l'écosystème sous-entend l'existence d'une organisation structurale rigoureuse des bactéries (formation de la plaque bactérienne) et d'interactions nutritionnelles en cascade (**Pierrard, 2015**).

Notons que ces différentes espèces sont celles de la bouche des enfants, Peu après la naissance, la première contamination par les micro-organismes s'effectue lors de l'accouchement, La flore buccale des nouveau-nés ne contient pas les mêmes espèces que celles d'un adulte (**Regnault, 2003**). Cette flore a besoin pour sa survie des éléments nutritifs, des surfaces d'adhésion ainsi que des facteurs physico-chimiques favorables à leur développement. De ce fait, toutes les bactéries ne sont pas aptes à se développer et survivre de la même au sein de la cavité buccale. Par exemple, sont présentes au niveau du sillon gingivo-dentaire façon des bactéries Gram négatives qui ne survivent nulle part ailleurs dans la cavité buccale (**Sixou et al., 2007**).

La bouche constitue un milieu propice à la vie microbienne via l'humidité créée par la sécrétion salivaire et de par présence de résidus alimentaires. Comme il a été cité précédemment plusieurs espèces différentes y prolifèrent et leur population totale est considérable, ces dernières formant la fraction la plus importante de la flore buccale. Parmi les organismes aérobies, citons : *Staphylococcus epidermidis*, des streptocoques du groupe viridans : *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. mutans*.

Les différentes espèces de streptocoques colonisent des endroits précis de la bouche. Ainsi, *S. mitis* se tient surtout à la surface de la muqueuse buccale alors que *S. salivarius* se multiplie principalement sur la muqueuse linguale. En revanche, *S. mutans* et *S. sanguis* se trouvent surtout sur les dents et dans la plaque dentaire. Ces espèces, entre autres, sont responsables de la carie dentaire (**Regnault, 2003**).

Les principaux représentants des microorganismes anaérobies de cette flore sont : *Lactobacillus casei*, *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Clostridium*, *Actinomyces*. Ces microorganismes anaérobies vivent principalement dans les crevasses se formant à la surface et au collet des dents, là où la pression partielle d'oxygène est inférieure à 0,5%. (**Regnault, 2003**).

1.3.1. Les principaux Cocci

La flore bactérienne de la cavité buccale est constituée majoritairement de Cocci Gram positifs et négatifs, Ces derniers sont la cause majeure des infections buccales. Les principales bactéries sont les streptocoques et les entérocoques (tableau 01).

Synthèse bibliographique

Tableau 01 : Principaux Cocci à Gram positifs aérobies, anaérobies facultatifs et anaérobie stricte retrouvés dans la cavité buccale (Chardin et al., 2006).

Genre espèces	Caractères bactériologique	H	C	Habitat et pouvoir pathogène	G	Types respiratoire
<i>Abiotrophia</i>	Coques polymorphes		-	Hôtes normaux de la cavité buccale (plaque jeune)	+	Aéro-Anaéro facultatifs
<i>Enterococcus</i>	Ovoïdes ; en paires en courtes chaînes	-	-	Infections endodontiques, échec du traitement endodontiques	+	Aéro-Anaéro facultatifs
<i>Gemella</i>	Ovoïdes ; en paires, isolés, en courtes chaînes, en amas	o u	-	Isolées de caries radiculaires, d'infection endodontiques avec lésions périapicales, d'abcès dentaires, de parodontites sévères et d'hémocultures lors d'endocardites	+	Aéro-Anaéro facultatifs
<i>Granulicatella</i>	Coques polymorphes en paires, en courtes chaînes	.	-	Hôtes normaux de la cavité buccale (plaque jeune)	+	Aéro-Anaéro facultatifs
<i>Staphylococcus</i>	Coques ; en grappes, en paires, en tétrades	- -	+ +	Présents sur les dents (fissures), sur la langue Isolés de : parodontites agressives généralisées, parodontites péri-implantaires, maladies parodontales chez les sujets immunodéprimés.	+	Aéro-Anaéro facultatifs
<i>Moraxella</i> <i>Branhamella</i>	Coques en paires en courtes chaînes, en grappes		+	Présentes dans la cavité buccale	-	Aéro-Anaéro facultatifs
<i>Neisseria</i>	Coques en paires, en tétrades	-	+	Présentes sur les lèvres, la langue, les plaques supra- et sous gingivales Isolées de nécroses pulpaire	-	Aéro-Anaéro facultatifs
<i>Anaeroglobus</i>	Ovoïdes, en paires		-	Présents dans la cavité buccale	-	Anaérobie stricte
<i>Veillonella</i>	Petits coques, en paires, en petites chaînes, souvent en grappes		+	Présentes sur les tissus mous, dans les sillons, les plaques dentaires supra et sous-gingivales, la salive Isolées de : caries, nécroses pulpaire, infections endodontiques, abcès parodontaux	-	Anaérobie stricte
<i>Anaerococcus</i>	En tétrades, en chaînes, en grappes	-	- / +	Isolés de parodontites péri-implantaires	+	Anaérobie stricte
<i>Finegoldia</i>	Gros cocci isolés, en tétrades, en grappes		+	isolées de caries	+	Anaérobie stricte
<i>Micromonas</i>	En paires, en s chaînes	-	-	Isolés de : caries, parodontites péri-implantaires, parodontites	+	Anaérobie stricte

Synthèse bibliographique

				chroniques actives, abcès parodontaux		
<i>Peptococcus</i>	En paires, en tétrades, en grappes, en courtes chaînes		+ / -	Isolés de lésions endo-parodontales et de desmodontites	+	Anaérobie stricte
<i>Peptoniphilus</i>	En paires, en grappes, en courtes chaînes		-	Isolés de caries	+	Anaérobie stricte
<i>Peptostreptococcus</i>	En paires, en courtes chaînes		-	Présents sur la langue, dans les sillons gingivaux sains, isolés de caries, infections endodontique, abcès parodontaux	+	Anaérobie stricte

Légende : H= hémolyse ; C= catalase ; G= Gram

I.3.2. Les principaux Bacilles Gram positifs

Les bactéries à Gram positif sont les plus prédominant de la flore buccale d'un sujet sain, on peut citer ; les Lactobacilles, Actinomyces et les Cornynbacterium, d'autres bactéries sont à l'origine de pathologie parodontales, comme il est citer dans le tableau 02.

Synthèse bibliographique

Tableau 02 : Principaux Bacilles à Gram positifs aérobies, anaérobies facultatifs et anaérobie stricte retrouvés dans la cavité buccale (**Chardin et al., 2006**).

Genre espèces	Caractères bactériologique	H	C	Habitat et pouvoir pathogène	G	Types respiratoire
<i>Corynebacterium</i>	Polymorphes		+	Présentes dans la cavité buccale Isolées de parodontites	+	Aéro-Anaéro facultatifs
<i>Actinomyces</i>	Coccobacilles ou bacilles droits, Souvent en V, L, Y.	-	-	Présents dans les sillons et les plaques dentaires supra et sous-gingivales, la salive et sur les tissus mous, Isolés de : caries, gingivites chroniques, abcès parodontal.	+	Aéro-Anaéro facultatifs
<i>Atopobium</i>	Bacilles courts, en paires, courtes chaines		-	Retrouvés au niveau des gencives et isolés d'abcès dentaire	+	Anaérobie stricte
<i>Bifidobacterium</i>	Bacilles moyens ; isolés, en chaines		-	Isolés de caries et d'infections endodontiques	+	Anaérobie stricte
<i>Lactobacillus</i>	Isolés, chaîne, ou en paires		-	Retrouvées dans la cavité buccale Isolées d'abcès dentaires, caries	+	Aéro-Anaéro facultatifs
<i>Clostridium</i>	Bacilles moyens ; en paires, isolés, en courtes chaines	-	-	Présents dans les sillons gingivaux sains, Isolées de caries, de parodontites	+	Anaérobie stricte
<i>Cryptobacterium</i>	Coccobacilles isolés, grappes		-	Retrouvés dans la cavité buccale humaine	+	Anaérobie stricte
<i>Eubacterium</i>	Bacilles courts en filaments, isolés, en chaines.		-	Présents dans les plaques dentaires supra et sous-gingivales Isolés de caries, de nécroses pulpaires.	+	Anaérobie stricte
<i>Mogibacterium</i>	Bacilles courts, isolés, en courtes chaines, en grappes		-	Retrouvés sur la langue, Isolés de pulpes dentaires nécrosées de parodontites	+	Anaérobie stricte
<i>Olsenella</i>	Bacilles courts, isolés, en courtes chaines, en paires		-	Isolées de plaques sous-gingivales de patients atteints de parodontites	+	Anaérobie stricte
<i>Parascardovia</i>	Petites bacilles fins de forme variable		-	Isolées de caries dentaires	+	Anaérobie stricte
<i>Propionibacterium</i>	Coccobacilles, bacilles courts en V, en L	-	-	Présents dans les plaques supra-gingivales Isolés de caries, d'infections endodontiques, d'abcès périapicaux	+	Anaérobie stricte

Légende : H= hémolyse ; C= catalase ; G= Gram

I.3.3. Les Principaux Bacilles Gram négatifs

Les bacilles à Gram négatifs sont les plus importantes quantitativement et qualitativement chez les sujets où la santé buccale est altérée, les principales bacilles à gram négatifs sont les *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Actinobacillus* (tableau 03).

Tableau 03 : Principaux Bacilles à Gram négatifs aérobies, anaérobies facultatifs et anaérobie stricte retrouvés dans la cavité buccale (**Chardin et al., 2006**).

Genre espèces	Caractères bactériologique	H	C	Habitat et pouvoir pathogène	G	Types respiratoire
Bacteroides	Bacilles courts, filaments.	-	-	Présents dans les sillons gingivaux sains Isolés d'abcès parodontaux.	-	Anaérobie stricte
Centipeda	Grands bacilles, en S		-	Isolées de parodontites	-	Anaérobie stricte
Desulfomicrobuim	Bacilles fins, isolés		-	Isolés de plaques sous-gingivales.	-	Anaérobie stricte
Filifactor	Isolés, paires		-	Isolés d'infection endodontiques, de lésions périapicales, de parodontites	-	Anaérobie stricte
fusobacteruim	Filaments aux extrémités arrondies isolés en chaines		-	Présents dans les sillons et les plaques supra et sous- gingivales sur la langue, Isolés de : nécroses pulpaire, infections endodontiques, abcès.	-	Anaérobie stricte
Leptotrichia	Filaments fusiformes,		+ -	Présentes dans la salive, les plaques supra et sous- gingivales de sujets sains ou atteints de gingivites	-	Anaérobie stricte
Porphyromonas	Cocobacilles	-	-	Présents dans les sillons et la plaque sous-gingivale, lèvres et la langue Isolés de : nécroses pulpaire, infections endodontiques, abcès périapicaux.	-	Anaérobie stricte
Prevotella	Polymorphes, Isolés, en paires, en chaines.		-	Présentes dans les sillons et la plaque sous- gingivale, sur les lèvres et la langue, Isolées d'infections endodontiques, abcès périapicaux	-	Anaérobie stricte
Haemophilus	Polymorphe.		-	Présents dans les sillons et la plaque sous- gingivale et poche parodontale.	-	Aéro-anaerobie facultatives
Actinobacillus	Isolés, paire		+	Présentes dans les sillons et la plaque sous- gingivale Isolées de parodontites chroniques actives,	-	Aéro-anaerobie facultatives

Légende : H= hémolyse ; C= catalase ; G= Gram

II. Pathologies infectieuse de la cavité buccale

La croissance de micro-organismes pathogènes peut entraîner des maladies parodontales si la réponse immunitaire de l'hôte n'est pas capable de les neutraliser ou les détruire (Øilo et al., 2015). Ces micro-organismes colonisent la surface dentaire au niveau ou au-dessous du bord gingival (R ta G et al., 2015). Ce qui cause les infections buccales tels que la gingivite et la parodontite (Øilo et al., 2015).

II.1. Carie dentaire

La carie dentaire est la maladie infectieuse poly-microbienne la plus répandue dans le monde induite par la plaque dentaire. Chaque personne a son propre risque de carie qui est déterminé par le microbiome buccal et le système immunitaire influencés par les facteurs environnementaux et génétiques (R ta G et al., 2015).

1.1. Formation et évolution de carie dentaire

La formation de la carie dépend de la fixation de *S. mutans* ou d'autres streptocoques à la surface de la dent, quelques minutes après le brossage, la dent sera recouverte d'une pellicule de protéines provenant de la salive. Ensuite les bactéries cariogènes vont être ancrées à cette pellicule et fabriqueront un polymère de glucose appelé dextran grâce à une enzyme. L'accumulation de bactéries et de dextran sur la dent forme la plaque dentaire, qui résiste à l'action nettoyante de la salive. Lorsqu'elle n'est pas retirée par un brossage efficace et l'utilisation du fil dentaire, cette plaque s'accumule et se calcifie pour former le tartre dentaire. Cependant la présence de dépôts de plaque dentaire dans les régions de la dent difficiles nettoyer est à l'origine du processus ; l'acide lactique produit localement dans les dépôts de plaque dentaire amollit graduellement l'émail à la surface de la dent.

Si la carie n'est pas traitée à ce stade, les bactéries creusent l'émail et pénètrent à l'intérieur de la dent jusqu'à la dentine. La population bactérienne qui fait avancer la carie à partir de l'émail jusqu'à la dentine se distingue de celle qui a ouvert la brèche au départ. Dans cette population, les microorganismes dominants sont des bâtonnets à Gram positif et des bactéries filamenteuses. Les bactéries *S. mutans* ne sont présentes qu'en petit nombre.

Quant à *Lactobacillus* spp, ne joue aucun rôle dans l'apparition du processus cariogène. Cependant, il sécrète de l'acide lactique en abondance et fait considérablement processus est enclenché. Par la suite la région cariée finit par atteindre le cavum de la dent, cavité qui renferme la pulpe dentaire composée de tissus conjonctifs, de vaisseaux sanguins et de neurofibres (nerfs). La carie peut s'aggraver par la formation d'un abcès dans les tissus mous entourant la dent (Tortora et al., 2012).

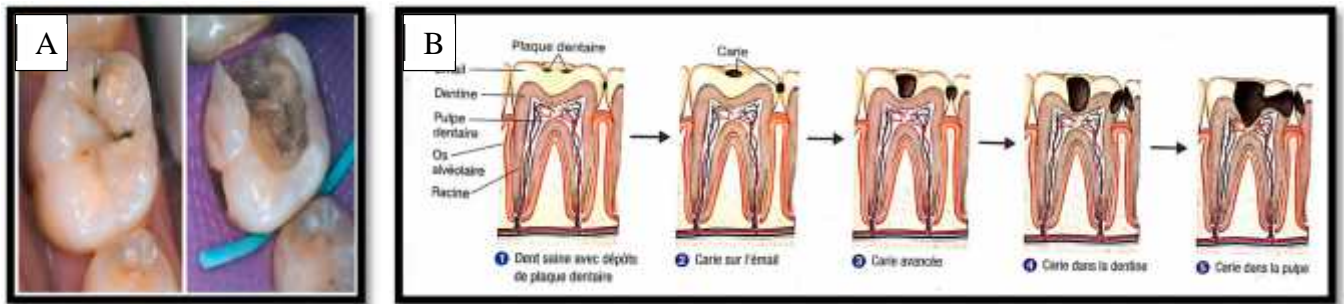


Figure 3 : A : La carie dentaire (Ricketts et al., 2018). B : Evolution de la carie dentaire (Tortora et al., 2012).

II.2. Tartre

Le tartre est une substance dure qui adhère aux surfaces dentaires. Il apparaît lorsque la plaque dentaire, abondante, s'est minéralisée, c'est-à-dire qu'elle a été calcifiée par des phosphates de calcium d'origine salivaire (Holland et al., 2009) Le tartre est classé en deux catégories selon la localisation :

- Le tartre supra-gingival qui est situé coronairement ou au-dessus du marge gingivale.
- Le tartre sous-gingival est situé apicale ou sous le marge gingivale dans le sillon gingival ou parodontal poche (Roberts et al., 2000).



Figure 4 : Photos représentatif de tartre dentaire (Socransky, 2002).

Le tartre dentaire mature comprend une phase minérale, et une phase organique, La phase minérale comme son nom l'indique est un dépôt hautement minéralisé avec un contenu inorganique ressemblant à de l'os, de la dentine et du ciment. Le tartre supra-gingival contient 70– 80% de sels inorganiques. Le calcium (Ca) et le phosphore (P) sont les éléments majeurs. De petites quantités de magnésium, de sodium, de carbonate et de fluorure peuvent également être présentes comme traces d'autres éléments. Cependant on peut noter que la concentration du calcium, du magnésium et du fluorure sont plus importantes en sous-gingival, (Roberts et al., 2000).

La phase organique quant à elle contient des éléments dérivés de la salive, du fluide gingival, des bactéries ou de leur métabolisme, comme par exemple des protéines, de l'eau, des cellules desquamées, des lipides, etc. (Marsh et al., 2009), Et donc une bio matrice de

protéines, de lipides et de glucides va constituer 15 à 20 % du poids sec restant dans le tartre supra-gingival, probablement moins dans le tartre sous-gingival (**Roberts et al., 2000**).

2.1. Formation du tartre

Le développement du tartre est dû à La précipitation des ions carbonates et phosphates de la salive, d'abord au niveau des micro-organismes, et ensuite au niveau des espaces intercellulaires c'est-à-dire de la matrice inter-bactérienne. Cette précipitation forme des cristaux : on observe ainsi chez certains sujets, les premières traces d'un tissu tartrique, au bout de 48h à peine d'accumulation de plaque, et on obtient en moins de 2 semaines un tartre bien calcifié. Celui-ci peut être à ce stade déjà visible macroscopiquement (**Chardin et al., 2006**).

II.3. Pathologies parodontales

Même les personnes qui ont une bonne hygiène dentaire et évitent la formation de caries peuvent, sur le tard, perdre leurs dents à cause d'une parodontose. Ce terme regroupe toutes les maladies se caractérisant par une inflammation et une détérioration des tissus de soutien de la dent. Il existe plusieurs sortes de maladies parodontales, toutes inflammatoires et d'origine bactérienne, qu'on peut classer en 2 grands groupes : les gingivites et les parodontites (**Tortora et al., 2012**).

II.3.1. Gingivites

La gingivite est une inflammation réversible des tissus parodontaux superficiels, c'est-à-dire de la gencive. Elle n'affecte pas les tissus parodontaux sous-jacents. Cependant, en l'absence de traitement, elle peut évoluer vers une parodontite, (**Houle et al., 2003**). L'inflammation se traduit par plusieurs signes cliniques : œdème, rougeur et douleur, saignement spontané et/ou provoqué, et parfois une mauvaise haleine (**Calas-Bennasar et al., 2005**).



Figure 5 : Gingivite (Drean, 2015).

Cette flore est constituée à 60 % de bactéries à Gram positif anaérobies facultatives ou anaérobies strictes. Elle est représentée principalement par *Actinomyces* spp et *Streptococcus* spp. Un faible pourcentage de bacilles à Gram négatif, anaérobies stricts, est également retrouvé dans cette situation pathologique tels que : *Fusobacterium nucleatum* et *Prevotella intermedia* (**Sixou et al., 2007**).

II.3.2. Parodontites

Toutes les gingivites n'évoluent pas vers la parodontite, seulement 10 à 15% suivent cette évolution. Par contre, une parodontite est systématiquement précédée d'une gingivite (Dersot et al., 2013), alors que les gingivites n'affectent que les tissus gingivaux, la parodontite touche les tissus les plus profonds du parodonte. Elle évolue lentement par poussées alternant avec des phases de rémission, et se caractérise, en plus de l'inflammation gingivale, par :

- Une atteinte de l'os alvéolaire (alvéolyse).
- Une perte d'attache conjonctive (c'est le signe pathognomonique de la parodontite) avec destruction (partielle ou totale) du ligament et de l'os.
- Le plus souvent, la formation de poches parodontales (sillon gingivo-dentaire qui s'est approfondi après rétraction de la gencive).

L'ensemble amène progressivement à la mobilité des dents, puis à leur perte irréversible (Kaqueler et al., 1998).

La flore rencontrée chez des sujets adultes présentant une parodontite peut être très hétérogène dans les espèces rencontrées. Mais elle reste dominée par des micro-organismes anaérobies et capnophiles à Gram négatif. Les formes de parodontites de l'adulte les plus agressives et les plus rapides dans leur évolution sont caractérisées par la présence d'un micro-organisme à haut pouvoir pathogène : *Porphyromonas gingivalis*. Il a été décrit qu'une association synergique jouant un rôle particulièrement important dans ces formes de parodontites agressives à évolution rapide : *Aggregatibacter actinomycète mcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella intermedia* (Sixou et al., 2007).

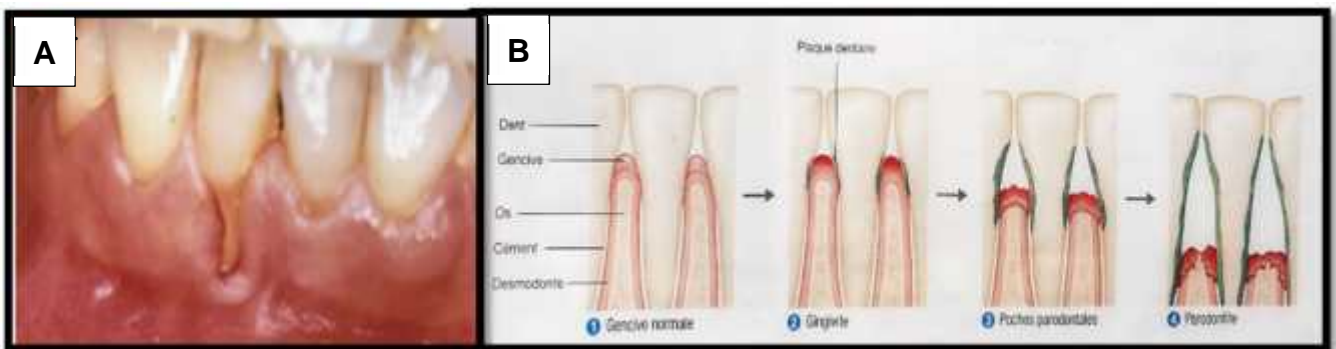


Figure 6 : A : parodontite (Calas-Bennasar et al., 2005). B : évolution de la parodontose (Tortora et al., 2012).

III. Biofilm dentaire

III.1. Définition

Étymologiquement, le terme biofilm, vient du grec «bios» (vie) et de l'anglais «film» (pellicule). L'unité de base est la micro-colonie, c'est-à-dire un petit amas de cellules bactériennes identiques. Leur caractère physiopathologique a été largement décrit en médecine ; les biofilms sont ainsi impliqués dans près de 60% des infections nosocomiales et dans un nombre non négligeable d'infections prothétiques. Il est unanimement admis que la grande majorité des micro-organismes sont présents dans leur environnement naturel, sous la forme de biofilms. L'état planctonique n'est en réalité qu'une étape transitoire, favorisant le passage d'un biofilm à un autre. Cette hypothèse a été décrite dans une étude pionnière de Zobell qui mit ainsi en évidence un plus grand nombre de bactéries vivantes sur les surfaces d'un récipient que dans le liquide qu'il contenait (**Simain et al., 2010**).

Le biofilm dentaire constitue un habitat bactérien important de la cavité buccale. Il s'agit d'une communauté de micro-organismes complexe, bactéries aérobies et anaérobies (10^8 à 10^9 /mg), adhérente aux surfaces buccales (dentine, émail, ciment, prothèses, restaurations dentaires) enrobées dans une matrice intercellulaire de polymères muco-protéique d'origine microbienne et salivaire, il est en effet le résultat de nombreuses interactions entre les différentes composantes du milieu buccal et les bactéries.

III.2. Facteurs physico-chimiques

Le milieu buccal va présenter des caractéristiques physico-chimiques spécifiques qui seront à l'origine de la constitution de la flore de la cavité buccale. Ces caractéristiques sont multiples : température, humidité, PH, hydrométrie, nutriments, potentiel d'oxydoréduction... Elles peuvent subir des variations importantes d'un sujet à l'autre, d'un site à l'autre chez un même sujet et dans un même site en fonction du temps (**Pierrard, 2015**).

a. Température

La température moyenne de la cavité buccale est de 37 °C. Les bactéries de cet habitat seront pour la plupart de type mésophile, et majoritairement pathogènes en raison de cette température du corps. La cavité buccale est cependant le siège de variations très importantes pouvant dépasser les 50 °C d'amplitude. De telles variations se rencontrent au cours d'un repas lorsque l'ingestion de différents aliments à des températures variables, Les bactéries de la flore buccale devront être capables de supporter ces températures extrêmes et les variations rapides et de courte durée (**Sixou et al., 2007**).

b. Humidité

La cavité buccale est un milieu humide dans lequel s'associent deux fluides différents en proportions inégales : la salive et le fluide gingival. La salive est un élément spécifique et constant de la cavité orale. Son volume de production est variable en fonction du temps et de différents éléments de stimulation (les aliments). C'est un liquide composé principalement d'une phase aqueuse (99,5 % d'eau). Les constituants organiques sont quantitativement peu importants comparés aux valeurs plasmatiques (salive 3 à 3,4 g/l,

plasma 70 g/l). Le fluide gingival, est un élément spécifique mais inconstant de la cavité buccale car il est dépendant de l'état inflammatoire du site parodontal dont il est issu. Le fluide gingival est un suintement observé au collet des dents après isolement de la salive. Le volume total de ce fluide produit en 24 heures dans des conditions physiologiques est évalué à 0,5 à 2,4 ml. C'est un liquide principalement composé d'eau, avec une teneur moyenne en protéines comparable à celle du plasma (70 g/l) (**Pierrard, 2015**).

c. PH

Le pH de la cavité buccale est maintenu près de la neutralité par l'activité tampon de la salive qui neutralise l'acidité des aliments consommés, mais aussi l'acidité produite par les bactéries. Cependant, du fait de la faible diffusion de la salive dans le biofilm (ou plaque dentaire), les acides produits par les bactéries acidogènes à partir de la fermentation des hydrates de carbone s'accumulent au sein du biofilm. Dans ces conditions, les bactéries susceptibles de tolérer des pH acides survivent (bactéries aciduriques). Le pH dans le sillon gingivo-dentaire varie entre 7.5 et 8,5 (**Chardin et al., 2006**).

d. Nutriments

La disponibilité des nutriments est un des paramètres importants dans le développement et la composition du biofilm dentaire. Dans la cavité buccale, les micro-organismes qui s'installent dans l'environnement supra-gingival ont accès aux nutriments provenant de l'alimentation et de la salive. Cette dernière est une importante source de nutriments et suffisante pour la croissance bactérienne, en l'absence d'apports alimentaires exogènes. La salive contient de l'eau, des hydrates de carbone, des glycoprotéines, des protéines, des acides aminés, différents ions. Les hydrates de carbone et les protéines qui ont la plus grande influence sur la composition du biofilm dentaire. Le sillon gingivo-dentaire est moins exposé aux composants salivaires et aux aliments et, la principale source de nutriments pour les bactéries est le fluide gingival. Ce fluide contient en particulier l'hémine et la vitamine K nécessaires à la croissance de bactéries telles que *P. gingivalis*. Plusieurs sources de nutriments sont aussi produites par les bactéries. Quelques micro-organismes coopèrent pour dégrader des nutriments et les produits de dégradation sont utilisés par d'autres micro-organismes (**Chardin et al., 2006**).

e. Potentiel d'oxydo-réduction

Le potentiel d'oxydo-réduction (POR) de la salive est un paramètre important dans le développement des micro-organismes de la flore orale. Le POR peut varier de façon très importante d'un sujet à l'autre et subir peu de fluctuations au cours de la journée chez un même sujet. La salive des sujets résistants à la carie est saturée en oxygène. La salive n'est pas un milieu favorable au développement des bactéries anaérobies. A l'inverse, la plaque dentaire et le fluide gingival possèdent un POR moyen de - 200 mV (variant de - 100 à - 300 mV) favorable à de nombreuses espèces bactériennes microaérophile ou anaérobies (**Sixou et al., 2007**).

III.3. Formation du biofilm dentaire

L'adhérence et la colonisation des bactéries sur une surface dentaire permettent la formation d'une communauté organisée, intime, multi-espèces en biofilm. Les surfaces dentaires et parodontales sont constamment baignées dans deux liquides physiologiques différents : la salive et le fluide gingival ce qui aide les micro-organismes à former le biofilm (Chardin *et al.*, 2006).

La formation de la plaque dentaire peut se décrire schématiquement selon une séquence d'évènements : l'adhésion des bactéries pionnières, la prolifération des bactéries buccales, la formation des micro-colonies, la maturation et le détachement (Figure 7). Cependant, le biofilm dentaire est en constant remaniement. Il s'agit d'un processus dynamique dans lequel l'adhésion, la croissance, l'élimination et le rattachement sont continus (Bouchard, 2015).

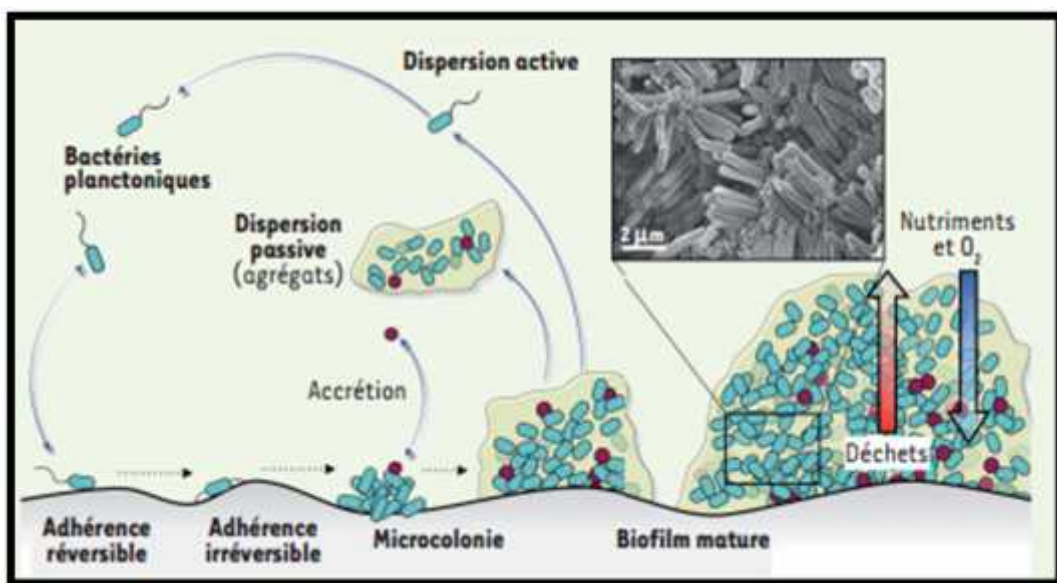


Figure 7 : Représentation schématique du développement et de la structure d'un biofilm bactérien (Lebeaux *et al.*, 2012).

III.3.1. Formation de la pellicule acquise exogène (PAE)

L'élaboration de la plaque dentaire dépend préalablement de la capacité des bactéries à adhérer aux surfaces dentaires. Cette colonisation se fait par l'intermédiaire d'un film organique d'origine salivaire recouvrant les surfaces dentaires : la pellicule acquise exogène (PAE). Celle-ci se forme spontanément dès l'éruption des dents et en quelques minutes après leur nettoyage prophylactique. La PAE est principalement composée de glycoprotéines et de protéines salivaires qui se lient à l'hydroxyapatite de la surface minérale. Si son rôle est de protéger les dents des agressions mécaniques et acides, elle favorise néanmoins l'installation de la plaque dentaire (Bouchard, 2015).

III.3.2. Phase d'adhésion réversible

Dans la phase initiale de colonisation, l'attachement bactérien est grandement facilité. Les bactéries passent d'un milieu liquide, dans lequel elles évoluent librement, à une organisation en amas, de plus en plus complexe. Cet attachement initial est promu par différents facteurs.

L'un d'entre eux est la force hydrodynamique, responsable du déplacement aléatoire des bactéries, voire de leur rapprochement vers le support, en l'occurrence dentaire. Notons également, le chimiotactisme, responsable du rapprochement spécifique via des récepteurs exprimés sur la membrane bactérienne. Il existe aussi des forces électrostatiques, et de Van der Waals qui jouent un rôle déterminant dans les mécanismes d'attraction-répulsion (Simain et al., 2010).

En ce qui concerne le biofilm dentaire, les colonisateurs primaires ou les bactéries pionnières sont pour 60% des streptocoques, avec principalement *S. oralis*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. parasanguinis* et *S. gordonii*. Les autres bactéries retrouvées sont des bactéries du genre Actinomyces (Bouchard, 2015). D'autres colonisateurs tels que les espèces *Actinomyces spp*, *Capnocytophaga spp*, *Eikenella spp*, *Haemophilus spp*, *Prevotella spp*, *Propionibacterium spp*, et *Veillonella spp* sont présent (Kolenbrander et al., 2002).

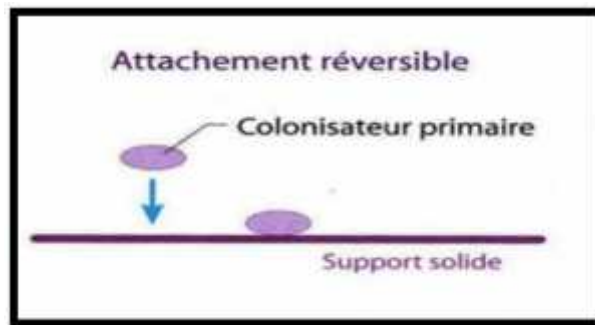


Figure 8 : Phase d'adhésion réversible (Chardin et al., 2006).

III.3.3. Phase d'adhésion irréversible

L'adhésion irréversible des bactéries implique le fait que les organismes immobilisés soient vivants, et capable de reconnaître leur position proche d'une surface (Freney et al., 2007). Cette adhérence irréversible comprend des interactions entre des molécules spécifiques à la surface des cellules microbiennes, appelées adhésines, et des molécules complémentaires présentes dans la pellicule exogène acquise, qualifiées de récepteurs (Marsh, 2000). Ce type de liaison est connu comme étant une interaction sélective (Chardin et al., 2006). Ces interactions adhésines/récepteurs sont solides et fonctionnent sur une distance relativement courte. Elles seront la cible possible d'intervention dans le but de bloquer la colonisation (Marsh, 2000).

Il existe également des interactions non sélectives entre une surface bactérienne globalement chargée négativement et la pellicule exogène acquise. Cette charge négative est fournie par l'acide lipotéichoïque pour les bactéries à Gram positif, et par le LPS des bactéries à Gram négatif. La pellicule étant chargée négativement, les bactéries s'y fixent par l'intermédiaire de cations divalents tels que les ions calcium (Ca^{2+}). Enfin, le dernier type d'interaction spécifique est celle de type enzyme-substrat (Chardin et al., 2006).

Notons aussi que les bactéries productrices de biofilms disposent d'un arsenal de fixation d'une grande richesse, composé de flagelles, de curli et de pili. On peut observer des mouvements de type «twitching motility», basés sur la rétraction des poils à l'interface avec la

surface solide ; les pili jouent un rôle important dans l'interaction avec la surface de support. A ce stade, on observe une surproduction d'exopolymères, renforçant la cohésion hétérogène inter-bactérienne. Les flagelles, quant à elles, jouent un rôle dans le rapprochement des bactéries vers la surface-support, grâce à un mécanisme de nage (Simain et al., 2010).

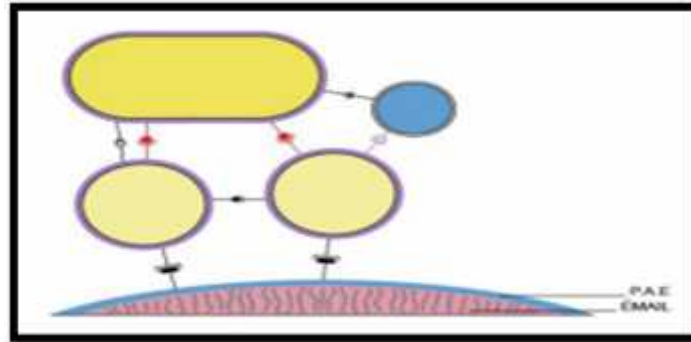


Figure 9 : Adhérence bactérienne, adhésines spécifiques (Tortora et al., 2012).

III.3.4. Formation de micro-colonies

Les adhésines exprimées par les colonisateurs primaires ou pionniers permettent à de nouveaux micro-organismes d'adhérer, on parle alors de Co-adhésion. C'est par ce mécanisme que les micro-colonies se forment et que le biofilm se développe. La Co-adhésion des nouveaux micro-organismes, appelés colonisateurs secondaires ou tardifs, se fait selon deux schémas ; Le premier est la Co-adhésion de cellules planctoniques individualisées. Dans le second cas, ce sont des groupes de cellules ou encore des Co-agrégats cellulaires, c'est-à-dire des agrégats formés de plusieurs espèces cellulaires, qui se fixent sur les colonisateurs primaires (Chardin et al., 2006).

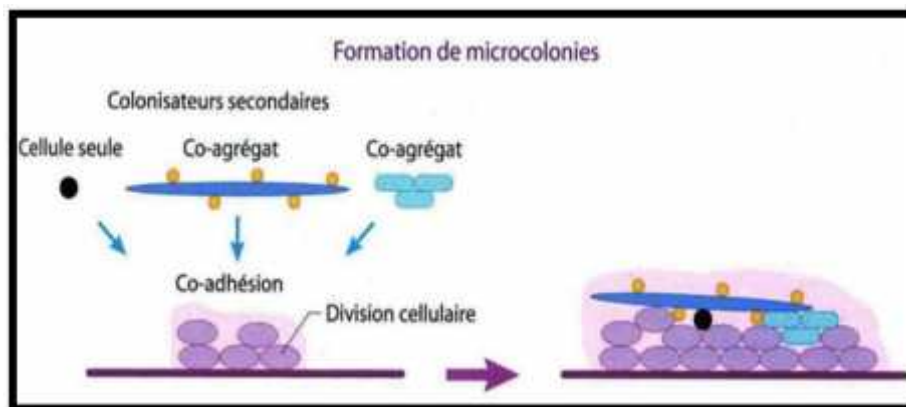


Figure 10 : Étape de formation de micro-colonies (Chardin et al., 2006).

III.3.5. Maturation du biofilm

Après la fixation des bactéries à la surface de la dent, ces dernières subissent une nouvelle adaptation à la vie dans un biofilm (O'Toole et al., 2000). Lors de cette phase, on observe une modification importante de la taille de la structure, résultat des nombreuses multiplications des bactéries. La matrice extracellulaire augmente en épaisseur avec des modifications des gradients d'oxygène, de substrats, voire de pH, ainsi qu'aux divers

mécanismes d'élimination de la cavité buccale, De plus des mécanismes de communication intercellulaire s'installent durablement ; la bactérie est ainsi informée de la densité cellulaire et des interactions cellulaires dans son proche environnement (Simain et al., 2010).

D'autres propriétés sont souvent associées aux bactéries attachées à la surface pendant la maturation ; Augmentation de la synthèse d'EPS et le développement de la résistance aux antibiotiques. Ces caractéristiques semblent créer un environnement protecteur et faire des biofilms un problème clinique tenace. Les bactéries du biofilm peuvent également développer d'autres propriétés, y compris une résistance accrue à la lumière UV, et augmentation de la production de métabolites secondaires (O'Toole et al., 2000).

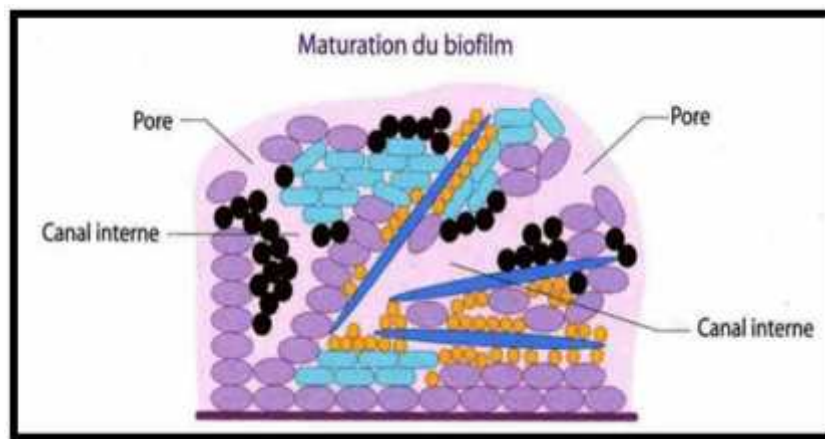


Figure 11 : Phase de maturation du biofilm (Chardin et al., 2006).

III.3.6. Détachement cellulaire

C'est la dernière étape au cours de laquelle, le nombre croissant des bactéries, et la dégradation enzymatique induisent une profonde carence alimentaire au sein de l'entité, avec des phases de croissance, et de détachement cellulaire, c'est le phénomène de «sloughing» (du verbe «to slough»). L'appauvrissement nutritionnel au sein de la structure favorise le détachement des bactéries, voire des fragments de biofilms (Simain et al., 2010).

Les bactéries sont capables de détecter les changements de leur environnement, par exemple par des systèmes de transmission de signaux à deux composants. Si les conditions se détériorent, certains espèces répondent en régulant à la hausse enzymes qui clivent leurs adhésines, permettant à la cellule se détacher et coloniser ailleurs (Marsh, 2000).

Un grand nombre de bactéries quittent la structure tridimensionnelle, elles se dispersent grâce à des forces de cisaillement et vont, par conséquent, contaminer d'autres sites, constituant de véritables réservoirs de bactéries pathogènes. Une autre étape est parfois décrite comme un véritable retour des bactéries à l'état planctonique et, dans certaines conditions, elles vont former dans un espace plus ou moins éloigné de nouveaux biofilms (Simain et al., 2010).

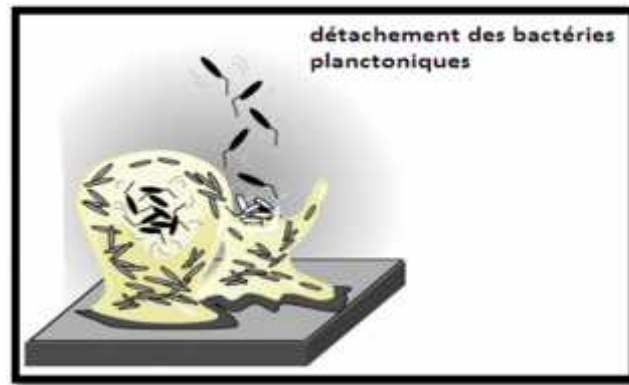


Figure 12 : Phase de détachement cellulaire (Petrova et al., 2016).

III.4.Mécanisme du Quorum sensing

Certaines des fonctions des biofilms dépendent de la capacité des bactéries et des micro-colonies dans le biofilm pour communiquer entre eux (Socransky et al., 2000). Le quorum sensing est un processus de communication chimique chez les bactéries, qui est défini comme la régulation des gènes en réponse à la densité cellulaire, ce qui influe sur les différentes fonctions, à savoir, la virulence, la tolérance et la formation de biofilms (Hojo, 2009).

La détection du quorum dépend sur la densité cellulaire. Avec peu de cellules, des composés de signalisation peuvent être produits à de faibles niveaux ; cependant, l'auto-induction joue un rôle important en conduisant à une concentration accrue car la densité cellulaire augmente. Une fois que les composés de signalisation atteignent un niveau seuil (densité cellulaire du quorum), et l'expression génique est activée. (Socransky et al., 2000).

Par conséquent l'Autoinducteur-2 (AI-2) est l'une des molécules de signalisation les plus connues associées à la détection de quorum. Il a été initialement identifié dans *Vibrio harveyi* et par la suite dans plusieurs espèces bactériennes. La synthèse d'AI-2 est catalysée par LuxS ; un enzyme codé par le gène LuxS. Le gène LuxS est hautement conservé dans le génome d'une large gamme de bactéries à Gram-positifs et Gram négatif. De nombreuses études suggèrent que les bactéries orales ont un système de détection de quorum qui dépend de LuxS / AI-2. (Hojo, 2009).

Toutefois la détection de quorum peut donner aux biofilms leurs propriétés distinctes. Par exemple, l'expression de gènes pour la résistance aux antibiotiques à des densités cellulaires élevées peut fournir une protection. Ou également le potentiel d'influencer la structure de la communauté en encourageant la croissance d'espèces bénéfiques (pour le biofilm) et en décourageant la croissance des concurrents. Ainsi que la possibilité des propriétés physiologiques des bactéries dans la communauté peuvent être altérées par détection de quorum. (Socransky et al., 2000).

III.5.Composition du biofilm dentaire

Le biofilm bactérien est constitué de deux composantes l'une est cellulaire représentant 70% de la masse générale, l'autre acellulaire représentant 30% de la masse du biofilm.

III.5.1. Matrice extracellulaire

Elle est de structure complexe et riche en polysaccharides et autres molécules. On y retrouve, de nombreux canaux, constituant les principales voies d'évacuation des produits de dégradation et des axes d'acheminement de nutriments au sein de la matrice d'exopolymères. Cette matrice ou fraction acellulaire comprend environ 80% d'eau et 20% de phase solide ; cette dernière est constituée de polysaccharides, de protéines, de lipides, d'oligoéléments, et d'éléments minéraux.

Les polysaccharides, constituants-clés de la structure, forment deux familles, extracellulaire et intracellulaire ; ils sont constitués de fructanes, à savoir des polymères de fructose et de glucanes, c'est-à-dire des polymères de glucose. Les glucanes sont de deux types : les dextrans, avec des liaisons alpha () 1-6, qui constituent la réserve énergétique facilement utilisable par les bactéries, et les mutanes, avec des liaisons () 1-3, qui permettent l'adhésion des bactéries à la pellicule exogène acquise et la cohésion inter-bactérienne. Les fructanes, quant à elles, limitent la diffusion de différents éléments tels que les bicarbonates salivaires (**Simain et al., 2010**).

III.5.2. Matrice cellulaire

La matrice cellulaire quant à elle est constituée majoritairement de bactéries qui sont l'élément prépondérant des biofilms dentaires. Il existe environ cent millions à un milliard de bactéries par milligramme de pellicule biologique acquise. Environ trois cents espèces bactériennes sont identifiées dans la cavité buccale ; cette population microbienne est complexe, hétérogène, et changeante, car elle évolue quantitativement et qualitativement lors des phases de maturation de la plaque dentaire. (**Simain et al., 2010**).

III.5.3. Plaque dentaire

La plaque dentaire est une accumulation hétérogène, adhérente à la surface des dents ou située dans l'espace gingivo-dentaire, sous la forme d'un biofilm, incrusté dans une matrice extracellulaire de polymères d'origine hôte et microbienne riche en bactéries aérobies et anaérobies (**Marsh, 2004**).

1. Classification de la plaque dentaire

L'hétérogénéité des types de tissu dans la cavité buccale, tels que les dents, la langue et la muqueuse, signifie que différents sites sont disponibles pour la colonisation par des microorganismes oraux. Chaque site possède des caractéristiques uniques et permet à ces microorganismes les mieux adaptés d'y habiter. La fonction des micro-organismes dans un habitat est une niche écologique et un certain nombre de niches écologiques existent dans la cavité buccale, y compris la plaque supra-gingivale, la plaque sous-gingivale et le revêtement de la langue (**Takahashi, 2005**).

1.1. Plaque supra-gingivale

On reconnaît plusieurs types de plaque dentaire selon leurs localisations, Cependant la plaque supra-gingivale est l'une des plus importantes, essentiellement car elle est spécifiquement impliquée dans la pathologie carieuse (**Sixou et al., 2007**).

Cette plaque commence à se former en quelques minutes après le nettoyage des dents. Le premier pionnier colonisateur qui sont les bactéries commencent le processus et sont bientôt rejointes par des centaines d'autres espèces bactériennes et de levures (**Trisha, 2011**). Les espèces prédominantes dans la zone supra-gingivale sont Streptocoque et Actinomyces ; Ils peuvent adhérer à la surface dentaire recouverte de salive par fixation entre les adhésines (situées sur les surfaces des cellules bactériennes) et les récepteurs (contenus dans le revêtement salivaire sur les surfaces dentaires) et sont connus pour utiliser des composants salivaires comme nutriments. Ces bactéries sont saccharolytiques et dégradent les glucides dérivés des aliments pour former des acides lactique, formique, acétique, succinique et d'autres acides organiques, et consomment simultanément de l'oxygène par la NADH oxydase. Ensemble, ces activités créent des conditions acides et anaérobies (**Takahashi, 2005**).

1.2. Plaque sous-gingivale

Elle constitue la continuité apicale de la partie supra gingivale où leurs structures sont semblables en regard de la dent mais, superficiellement en regard de la gencive la partie sous gingivale est plus lâche et les bactéries se trouvent beaucoup plus en phase libre avec une diminution de la matrice extra cellulaire. Les forces mécaniques susceptibles de la déstabiliser sont rares, elle est à l'origine des maladies parodontales, composée majoritairement des bactéries anaérobies avec prédominance des bacilles gram négative à l'état stable (**Charon et al., 2003**) (**Manakil, 2012**). Les bactéries protéolytiques peuvent dégrader les composés azotés en petits peptides et acides aminés par des protéases liées à la membrane cellulaire et/ou sécrétées de manière extracellulaire pour une utilisation ultérieure comme substrats métaboliques. Par exemple *P. gingivalis* contient des gingipaïnes (protéases à cystéine de type trypsine) et des dipeptidylpeptidases, tandis que *P. intermédiaire* possède plusieurs protéases qui dégradent l'albumine et les immunoglobulines (**Takahashi, 2005**).

1.3. Revêtement de la langue

Le revêtement de la langue est constitué d'épithélium desquamé de la langue, de la salive et de micro-organismes, et en tant que sites supra-gingivaux, l'approvisionnement en nourriture est intermittent. La structure papillaire du dos de la langue offre un habitat approprié à de nombreux micro-organismes, et l'environnement peut également être caractérisé par des conditions anaérobies propices à la croissance des anaérobies obligatoires. Néanmoins un large éventail de bactéries, y sont retrouvés et la langue peut agir comme un réservoir ou un berceau de bactéries buccales. La mauvaise odeur buccale est une affection relativement courante chez les adultes et environ 90 % des mauvaises odeurs buccales proviendraient de gaz malodorants tels que les composés soufrés volatils produits par le métabolisme bactérien oral des acides aminés soufrés. (**Takahashi, 2005**).

Tableau 04 : Caractéristiques de la plaque supra-gingivale, de la plaque sous-gingivale et le revêtement de la langue comme niches écologiques. (Takahashi, 2005).

	Plaque supra-gingivale	Plaque sous-gingivale	Revêtement de la langue
Surface microbienne adhésion	Dent enduite de salive	Dent recouverte de GCF Épithélium recouvert de GCF	Épithélium recouvert de salive
Nutrition	Salive, Glucides	FVC Épithélium desquamé	Salive Épithélium desquamé
pH	Neutre/acide	Neutre	Neutre/acide
Concentration d'oxygène	Haut/bas	faible	Haut/bas
Propriété métabolique d'écosystème microbien	Saccharolytique	Asaccharolytique/protéolytique	Saccharolytique/ asaccharolytique/Protéolytique

Légende : GCF : fluide crevicalaire gingival. FVC : force vitale capacité

Tableau 05 : Les principales bactéries retrouvées dans le biofilm supra et sous-gingivale ainsi que le revêtement de la langue (Takahashi, 2005)

Biofilm supra-gingivale	Biofilm sous-gingivale	Biofilm du Revêtement de la langue
<i>Streptococcus sobrinus</i> <i>S. mutans</i> <i>S. sanguis</i> <i>S. mitis</i> <i>S. salivarius</i> <i>Lactobacillus</i> spp <i>Actinomyces</i> spp	<i>Fusobacterium</i> <i>Eubacterium</i> <i>Campylobacter</i> <i>Prevotella</i> <i>Porphyromonas</i>	<i>Actinomyces</i> <i>Streptocoques</i> <i>Veillonella</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Prévotella</i>

IV. Usage des produits naturel sur les infections buccale

La plaque dentaire se développe naturellement, mais elle est également associée à deux des maladies les plus répandues parmi les sociétés industrialisées : la pathologie carieuse et les maladies parodontales. Par conséquent le maintien d'une bonne hygiène de la cavité buccale est l'une des mesures les plus importantes à prendre pour lutter contre ces deux maladies. Les stratégies de contrôle de la plaque dentaire viseront à interférer avec la formation, la structure et le schéma de développement de ce biofilm. Il faut donc choisir une méthode appropriée de brossage et des produits d'hygiène adaptés.

IV.1. Usage de la Chlorhexidine (CHX)

La Chlorhexidine est utilisée pour prévenir la formation des caries et les maladies parodontales grâce à ses propriétés antibactériennes. Par conséquent les bains de bouche à la Chlorhexidine sont efficace dans le contrôle de la plaque et de la gingivite et toujours efficace en tant que complément à procédures mécaniques d'hygiène bucco-dentaire.

La Chlorhexidine se lie également aux surfaces dans la bouche telle que les dents, la pellicule, la langue, la muqueuse buccale et les protéines salivaires et est ensuite lentement libéré dans la salive. Cela crée un environnement où l'activité antibactérienne de cette substance est maintenue jusqu'à plusieurs heures en fonction de facteurs tels que dose, temps de rinçage, température, présence de dents ou prothèses, matière organique et salive pH (Jose et al., 2015). Il est important de souligner que la CHX, utilisée pendant une période prolongée, peut avoir des effets indésirables tels que la pigmentation dentaire, la perte de sensibilité gustative et une résistance des micro-organismes (Varoni et al., 2012).

IV.2. Usage des produits naturels sur les infections bucco-dentaire

les études portant sur l'utilisation de produits naturels dans la prévention bucco-dentaire a un intérêt tout particulier qui a pour but de développer un produit de remplacement pour le contrôle du biofilm avec un effet antimicrobien potentialisé, un effet reminéralisant et des effets indésirables minimisés.

IV.2.1. Le Miswak

Miswak est un outil naturel de nettoyage des dents qui est utilisé dans de nombreuses parties du monde depuis l'Antiquité. Il est connu pour être utile dans la prévention des caries dentaires. Malgré son effet bénéfique, in n'est pas utilisé aussi fréquemment que d'autres outils d'hygiène bucco-dentaire (Naseem et al., 2014).



Figure 13 : Miswak qui est principalement obtenu à partir de fines branches d'Arak. (Hesham et al., 2016).

1. Généralité sur le Miswak

Miswak est dérivé de la plante Arak (*Salvadora persica*) qui appartient à la famille des Salvadoracées, qui est un mot arabe signifiant bâton de nettoyage des dents. La diffusion de la culture islamique a joué un rôle dans l'utilisation de Miswak pour le nettoyage des dents, dans différentes région du monde.

Le bâton à mâcher Miswak est mentionné dans Ahadith (PARLERS) par le prophète Mohamed « La paix soit sur lui » ; il est utilisé par la majorité des musulmans dans le monde. Comme les mèches Miswak sont flexibles, solides et n'endommagent pas les gencives, elles

peuvent être transformées en forme appropriée pour éliminer la plaque et éliminer les aliments entre les dents (Hesham et al., 2016).



Figure 14 : Arbre *Salvadora Persica* (Varma , 2018).

2. Propriétés Antibactériennes

L'action antimicrobienne du Miswak va prévenir l'apparition de lésions carieuses et de pathologies parodontales. En effet, les substances naturellement contenues dans l'arbre *Salvadora Persica* qui le protège contre l'invasion de microorganismes ou d'autres parasites, peuvent être libérées dans la cavité orale et protéger l'utilisateur des maladies buccales induites par la présence de bactéries pathogènes (Almas et al., 2013).

Beaucoup d'études démontrent de manière significative l'effet antibactérien et anti-plaque du Miswak, et par conséquent son efficacité contre certaines pathologies buccales infectieuses et inflammatoires. La nature de la racine de *Salvadora Persica* a été étudiée en extrayant de l'huile essentielle à partir de ces composés volatiles. Et donc il a été démontré que ce dernier va agir contre les pathogènes responsables des maladies du parodonte. Il agit rapidement sur les bactéries à Gram négatif, telles que *A. mcomitans*, *P. gingivalis*, *S. mutans*, *Candida albicans* et *L. acidophilus*. Il a cependant une action moindre sur les microorganismes à Gram positif. Étant donné l'efficacité de cette molécule sur les bactéries parodonto-pathogènes, on pourrait considérer l'extrait de *S. Persica* comme une piste à explorer pour les thérapeutiques parodontales (Sofrata et al., 2011) (AH, 2016).

3. Techniques de brossage avec le Miswak

Comme il a été cité précédemment le Miswak est un véritable outil d'hygiène bucco-dentaire qui reste très accessible pour tous. Cependant, tout comme la brosse à dents, son efficacité va reposer sur une utilisation appropriée, son mésusage pourra créer des problèmes parodontaux et des érosions amélaire. Un Miswak s'utilise sans pâte dentifrice. Si le bâtonnet est sec, il est nécessaire qu'il soit humidifié dans de l'eau fraîche (Shirzaiy et al., 2016).

1. Mâcher une extrémité de la tige pour enlever l'écorce sur environ 2,5 cm afin d'accéder à la partie fibreuse de la branche.
2. Mâcher le cœur de la tige jusqu'à ce qu'il devienne tendre et forme des filaments fins et fibreux semblables à des poils de brosse à dents. La texture idéale est obtenue lorsque les filaments offrent une faible résistance au contact de la dent.
3. Saisir le bâtonnet frotte-dents : Il existe deux façons de tenir le bâtonnet frotte dents. Le but est d'atteindre toutes les faces à brosser tout en contrôlant les mouvements.

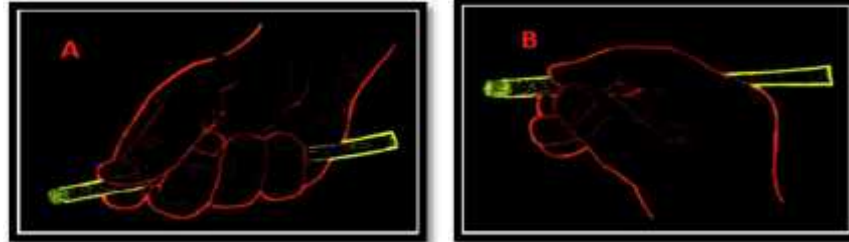


Figure 15 : Technique de brossage avec le Miswak, **A** : avec 5 doigts, **B** : avec trois doigts (Almas et al., 2013).

4. Différents produits à base de Miswak

Le marché bucco-dentaire compte beaucoup de produits issus d'extraits de plantes. L'arbre le plus utilisé reste le *Salvadora Persica*.

4.1. Les pâtes à dentifrices

De nos jours, de plus en plus de compagnies pharmaceutiques fabriquent des pâtes dentifrices au Miswak. On retrouve principalement le Colgate, leader mondial dans le domaine des soins bucco-dentaires produit un dentifrice contenant des extraits de Miswak.



Figure 16 : Dentifrice Colgate herbal Miswak

4.2. Bâtonnets frotte dents

Il est de plus en plus facile de se procurer des bâtonnets frotte-dents partout dans le monde, y compris dans les pays développés. En effet, ces Sothiou sont désormais accessibles également sur les plateformes de e-Commerce très connues telles « Amazon » ou « EBay ».



Figure 17 : Bâtonnets frotte-dents commercialisés.

IV.2.2. Le propolis

La propolis est une substance résineuse composée d'un mélange de différentes parties de plantes et de molécules sécrétées par les abeilles. Chimiquement, elle est défini comme une matrice complexe contenant des molécules biologiquement actives aux propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, antiparasitaires, activités hépato-protectrices et immuno-modulatrices. Elle est largement utilisée dans les formulations cosmétiques et pharmaceutiques et c'est l'un des produits naturels les plus utilisés. Cependant, les effets et la force de ces activités biologiques dépendent du profil chimique et de la composition de chaque type de propolis. Cette composition est associée à la diversité de la flore locale, le lieu et la période de collecte, et la génétique des abeilles (Fonseca et al., 2019).



Figure 18 : Propolis brute (Dodwad et al., 2011).

1. Effets thérapeutiques

Son activité antibactérienne est particulièrement efficace contre les bactéries Gram positives, telles que *S. aureus* et bactéries à gram négatif comme salmonella. L'efficacité de propolis pour l'inhibition de l'activité de l'enzyme glycosyltransférase de *S. circuits*, *S. mutans* qui favorisent l'apparition des caries dentaires a été confirmé in vivo et in vitro.

L'efficacité de l'activité antibactérienne de la propolis contre certains agents pathogènes oraux anaérobies a été confirmé, plus particulièrement contre *lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces naeslundii*, *Prevotella oralis*, *Prevotella melaninogenica*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* et *Veillonella parvula*, principalement en raison de la présence de flavonoïdes et composés aromatiques tels que l'acide caféique dans son composition. Plusieurs études ont évalué son efficacité antifongique contre *candida albicans* (Abbasi et al., 2018).

2. Applications en odontologie

La propolis est commercialisée sous diverses formes telles que : pastilles, spray, bains de bouche, dentifrice, gelée, comprimé, savon, poudre et autres.

2.1. Propolis pour la cicatrisation chirurgicale des plaies

La propolis est utilisée pour maintenir la santé bucco-dentaire et se prémunir des caries dentaires en raison de ses propriétés antimicrobiennes. On peut l'utiliser également en tant que bains de bouche.

D'après une étude réalisée par **(Carvalho et Magro, 1994)**. Il a été demandé aux patients de se rincer la bouche avec de l'extrait alcoolique de propolis après une extraction dentaire pour évaluer son efficacité pour cicatrisation des alvéoles alvéolaires. Les patients étaient rappelés 7, 14, 30 et 45 jours après la chirurgie et soumis à des examens cellulaires et cliniques. Les résultats ont montré que le bain de bouche améliorait la cicatrisation, et ont démontré des propriétés anti-inflammatoires et propriétés analgésiques **(Abbasi et al., 2018)**. D'autres études ont évaluées l'effet du bain de bouche à la propolis sur l'accumulation de plaque et la gingivite **(Dodwad et al., 2011)**.



Figure 19 : Bains de bouche à base de propolis.

2.2. La propolis en dentifrice

La propolis a été incluse dans certains dentifrices à base de plantes pour améliorer l'hygiène dentaire et présente un effet inhibiteur sur la formation de la plaque dentaire, qui est considérée comme l'étiologie principale de la plupart des maladies bucco-dentaires. Elle permet d'inhiber la croissance de certaines bactéries à Gram positive **(Bhat et al., 2015)**.



Figure 20 : Dentifrice à base de propolis.

IV.2.3. Cannelle

Dans le domaine de la médecine dentaire, les produits d'hygiène bucco-dentaire à base de plantes les extraits sont bien connus. L'une des substances les plus utilisées par les professionnels dentaires est l'eugénol, qui est un composant actif est la cannelle (*Cinnamomum* spp, famille des Lauracées). La cannelle est une herbe culinaire largement connue et traditionnellement utilisée dans les applications médicales (Filaretova, 2020).

1. Propriétés

Les extraits de cannelle et les composés purs présentent des activités antimicrobiennes importantes contre les agents pathogènes oraux, le biofilm oral et les effets possibles sur tissus buccaux et pourraient être bénéfiques dans la prévention des caries et des maladies parodontales, l'endodontie et le traitement de la candidose.

Les huiles essentielles de cannelle, extraits de cannelle et les composés purs, sont largement exploités en raison de leurs propriétés antibactériennes, antifongiques et anti-inflammatoires, on peut trouver la cannelle dans les bains de bouche, dentifrices, ou comme irrigant du canal radiculaire, prometteur comme agent antimicrobien en dentisterie. Ces propriétés sont évaluées en fonction de la concentration minimale inhibitrice (MIC). Différents degrés d'activité antimicrobienne des HE d'herbes culinaires contre la croissance des bactéries cariogènes peuvent être classés en trois groupes : forte (CMI 0,1 % (v/v)), modérée (CMI 1,0 % (v/v)) et faible (CMI > 1,0 % (v/v)) (Filaretova, 2020).

2. Dentifrice à base de cannelle

Les dentifrices à base de l'huile essentielle de cannelle ont entraîné une augmentation significative du diamètre de la zone d'inhibition (moyenne valeurs comprises entre 36,33 et 39,67 mm) (Filaretova, 2020).



Figure 21 : dentifrices à base de cannelle

IV. 2.4. La lavande

La lavande aspic (*Lavendula latifolia* ou *spica*, Lamiacée), appelée la grande lavande, pousse en bord de mer. On en extrait l'essence d'aspic. A la différence de la lavande vraie, elle contient peu d'éthers, mais une proportion importante d'oxyde avec le cinéole, et d'alcool avec le linalool, environ 35 et 40 %, respectivement. Les cétones avec le camphre, 6 %, complètent son spectre biochimique (**Baudoux, 2008**). Plusieurs espèces de lavandes poussent à l'état spontané en Algérie et sont utilisées en médecine traditionnelle, dont *Lavandula dentata* L. L'huile essentielle est caractérisée par sa richesse en cinéole, *béta*-pinène et *trans*-pinocarveol (**Bousmaha et al., 2006**).

1. Produits à base de lavande

L'Huile Essentielle de lavande aspic est utilisée pour soulager la douleur en cas de carie dentaire : en traitement local, humecter un coton à appliquer sur la dent. Les dentifrices bio à base de lavande sont tout autant efficaces que les dentifrices ordinaires. Ils nettoient les dents, éliminent la plaque dentaire, assurent une haleine fraîche et préviennent l'apparition des caries.



Figure 22 : Dentifrice à base de lavande

Matériels et méthodes

I. Période et lieu d'étude

Les prélèvements ont été réalisés en avril 2021, les patients ont été choisis selon des critères d'inclusion bien précis au niveau de la clinique dentaire. Les prélèvements ont été analysés au niveau du laboratoire de microbiologie appliquée de la faculté des sciences et de la vie, Université Djilali Liabes.

II. Questionnaire

Les questionnaires ont été préparés préalablement avant les prélèvements, et chaque patient devait en remplir un.

Ce questionnaire comporte plusieurs questions ; en premier le patient devait se présenter en remplissant les case Nom et prénom, ensuite en désignant son sexe, puis en indiquant son âge, par la suite le patient devait signaler le motif de sa consultation, ainsi que l'infection dont il souffre si il y'en a et le degré de douleur, pour finir la fréquence de brossage des dents doit être mentionné dans le questionnaire. Ce dernier est clôturé par une signature du patient.

III. Population d'étude

Cette étude a ciblé des personnes se présentant à la clinique dentaire pour des soins ou des contrôles. L'examen clinique de chacun de ces sujets a été effectué par le médecin dentiste qui applique les recommandations de l'organisation mondiale de santé (**OMS 1987 ; OMS 1997**).

Cet examen a eu lieu au fauteuil dentaire muni d'un scialytique à bonne lumière à l'aide de sondes exploratrices, de miroirs à bouche et de précelle.

Tout examen visuel ayant pour but de rechercher des lésions carieuses et du tartre qui provoquent des infections dentaires. Il convient de noter que la détection des caries occlusales est compliquée du fait de la morphologie des surfaces, de l'anatomie des puits et fissures, de la présence de plaque. Chacun d'entre eux a rempli un questionnaire médico-dentaire avant d'effectuer le prélèvement.

IV. Prélèvement

1. Matériels utilisés

-) Écouvillons stériles ;
-) Milieux d'enrichissement (bouillons) : BHIB (bouillon cœur cerveau).
-) Pince en métal (pour les dents carié).
-) Rouleaux de coton salivaires.

2. Technique

Les prélèvements dentaires nécessitent beaucoup de précaution. C'est pour cela que ce dernier a été réalisé par le dentiste lui-même, il a procéder de la manière suivante ; concernant les dents cariés, elles ont été déposées chacune directement après l'arrachage dans un tube d'enrichissement contenant 8 ml de bouillons BHIB, Ce dernier est également considéré

comme un milieu de transport idéal pour préserver la multiplication ultérieure des anaérobies mais aussi des aérobies. Et en ce qui concerne le tartre, la zone contenant le tartre a été gratté à l'aide d'un écouvillon, puis ensemencer dans un tube contenant également 8 ml de bouillons BHIB.

Une fois que les prélèvements soient effectués, les tubes ont été incubés pendant 24 heures à 37°C au niveau du laboratoire de microbiologie appliquée de la faculté des sciences et de la vie, Université Djilali Liabes.

V. Ensemencement des milieux

L'ensemencement sur milieu solide nous permet de distinguer l'aspect de colonies en surface qui dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température de l'incubation. La colonie peut apparaître à la surface du milieu de culture pour les bactéries aérobies, ou être en profondeur pour les bactéries anaérobies.

Les milieux gélosés utilisés :

- Milieu Chapmen
- Milieu Mac-conkey
- Milieu MRS
- Milieu M17
- Milieu gélose au sang
- Milieu Columbia

VI. Repiquage

Le repiquage consiste à isoler les colonies pour obtenir des cultures pures à partir d'un mélange de colonies bactériennes en prélevant chaque colonie d'aspect distinct à l'aide de l'anse de platine stérile (ou pipette pasteur stérile) tout en alternant un milieu liquide (bouillon nutritif, BHIB), par la suite ensemencer les milieux de cultures appropriés par les enrichissements des colonies prélevées. Incuber les boîtes ensemencées en aérobiose ou en anaérobiose selon les conditions d'incubation des boîtes de prélèvement.

VII. Conservation des souches

Les souches obtenues sont ensuite conservées dans des tubes de gélose nutritive inclinés à une température de 4°C (ces bactéries sont placées dans un état de vie ralentie ou momentanément suspendue donc dans des conditions peu favorables pour leur multiplication).

VIII. Identification

Les souches isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards (coloration de gram, catalase, test de coagulase, coloration de spore, les différents tests de la galerie classique et api système). Les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation des démarches ultérieures.

1. Réalisation de la coloration de Gram

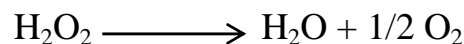
- Réaliser un frottis et le fixer à la flamme.
- Verser le Violet de Gentiane sur la lame : laisser en contact 1 minute.
- Jeter le colorant et finir de le chasser par la solution de Lugol ; laisser agir environ 1 min.
- Jeter le Lugol et faire couler de l'alcool sur la préparation ; rincer immédiatement à l'eau.
- Recouvrir la préparation de fuchsine, laisser agir environ 1 min. lavé abondamment.

Les bactéries « Gram positif » : qui gardent leur coloration violette après décoloration par l'alcool. Les bactéries « Gram négatif » : qui décolorées par alcool, sont teintées par la fuchsine et apparaissent roses.

2. Recherche de la catalase

La catalase (Ferro porphyrine de poids moléculaire élevé) a la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène. C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne (**Garnier et Denis, 2007**).

On prend une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) à 10 volumes qu'on dépose sur une lame avec une colonie bien distincte de culture jeune de 24 h, le dégagement immédiat de bulles d'oxygène exprime la présence d'une catalase.



Cette réaction se manifeste par la formation rapide de bulles (**Clarke and Cowan, 1952 ; MacFaddin, 2000**).

3. Recherche de coagulase

- Pour l'identification des staphylocoques dorés on effectue le test de coagulase.
- A partir d'une culture pure sur milieu Chapman, on ensemence un tube de B.H.I.B, après incubation à 37° pendant 18h on prend 0.5 ml de cette culture dans un tube à hémolyse et on ajoute 0.5 ml de plasma d'humain.
- Une réaction positive se traduit par la coagulation du plasma à un temps variant de 1h à 24h.

4. Coloration d'endospore

Diverses espèces bactériennes ont la faculté de former des cellules spécialisées montrant une résistance accrue à des facteurs d'environnement défavorables, notamment à une température élevée, à l'absence d'éléments nutritifs ou à la dessiccation. Elles se forment à l'intérieur des cellules bactériennes, d'où le nom d'endospores, elles apparaissent lorsque la bactérie se trouve en conditions défavorables, ce ne sont pas des formes de dissémination mais des formes de résistance.

Il ne se forme qu'une seule spore par cellule végétative. Lorsque les conditions redeviennent favorables, la spore peut germer et donner une nouvelle cellule végétative.

- Prendre une lame propre sans graisse et faites un frottis.
- Sécher à l'air et fixer l'organisme sur une lame de verre et couvrir d'un carré de papier buvard ou d'essuie-tout coupé pour s'adapter à la lame.
- Saturer le papier buvard avec une solution de teinture vert malachite avec 0,5% et le vaporiser à la vapeur pendant 5 minutes, en gardant le papier humide et en ajoutant plus de colorant au besoin. En variante, la lame peut être vaporisée sur un récipient d'eau bouillante.
- Lavez la lame à l'eau du robinet
- Contre-colorer avec 2,5% de safranine pendant 30 secondes. Laver à l'eau du robinet, séchez.
- Examinez la lame au microscope pour la présence d'endospores.

Endospores : Les endospores sont vert clair.

Cellules végétatives : Les cellules végétatives sont rouge brunâtre à rose.

5. Le système API

L'identification des bactéries nécessite l'utilisation des galeries miniaturisées prêtes à l'emploi (Galeries commercialisées : API 50 CH, et API 20 Strep, API 20 E et API Staph (**Biomérieux, France**)).

Le système API est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans les différentes alvéoles qui composent 20 tests biochimiques différents. La micro-galerie (contenant de substrats déshydratés), les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide d'un tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification.

5.1. Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Placer délicatement la galerie dans la boîte d'incubation.
- Inscire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.

5.1.1. Galerie 20 E

a. Préparation de l'inoculum

Préparer une suspension bactérienne dans 5 ml d'eau physiologique stérile à partir de colonies jeunes, il est essentielle de bien homogénéiser la suspension pour de bon résultats.

b. Inoculation de la galerie

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :
 - pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule.
 - pour les autres tests, remplir uniquement les tubes.
 - pour les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte et incuber à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures.

5.1.2. Galerie 20 Staph

a. Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API Staph Medium.
- Préparer une suspension bactérienne homogène.
- Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).

b. Inoculation de la galerie

- A l'aide d'une pipette, remplir les tubes de la galerie avec API Staph Medium ensemencé.
- Ne remplir que les tubes. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.
- Créer une atmosphère anaérobique dans les tests ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.
- Refermer la boîte d'incubation. - Incuber à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures.

5.1.3. Galerie 20 Strep

a. Préparation de l'inoculum

- Préparer une suspension bactérienne très dense dans 2 ml d'eau physiologique stérile à partir de culture jeunes.
- Bien homogénéiser cette dernière.
- Préparer une ampoule d'API GP Medium.

b. Inoculation de la galerie

- Dans la première moitié de la galerie (tests VP à ADH) répartir la suspension précédente en évitant la formation de bulles.
- Pour les tests VP à LAP : déposer environ 100 µL dans chaque cupule
- Pour le test ADH : remplir uniquement le tube.
- Dans la deuxième moitié de la galerie (tests RIB à GLYG) : ouvrir une ampoule d'API GP et y transférer le reste de la suspension, soit 0,5 ml au minimum, Bien homogénéiser.

- Répartir cette nouvelle suspension dans les tubes uniquement.
- Remplir les cupules des tests soulignés ADH à GLYG avec de l'huile de paraffine.
- Incuber à 37°C en aérobiose pendant 4H00 - 4H30 pour une première lecture et 24 heures pour une deuxième lecture.

5.1.4. Galerie 50 CH

a. Préparation du API 50 CHL Medium

Par manque du Medium 50 CHL, ce dernier a été préparé ; dans 1000 ml d'eau déminéralisée ajouter ; 2g de polypeptone, 5g extrait de levure, 1 ml de Tween 80, 2g de phosphate dipotassique, 5 g d'acétate de sodium, 2 g de citrate diammonique, 0.2 g de sulfate de magnésium, 0.05 g de sulfate de manganèse, 0.17 g de pourpre de bromocrésol, puis ajuster le pH à 6.7.

b. Préparation de l'inoculum

Préparer l'inoculum dans le milieu API 50 CHL Medium préalablement préparé.

c. Inoculation de la galerie

- Répartir la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette stérile dans les 50 tubes de la galerie en évitant la formation de bulles.
- Lorsque le tube seul doit être inoculé, ne pas dépasser la limite supérieure du tube afin de conserver une bonne anaérobiose.
- Incuber les galeries à la température optimum de croissance du groupe de microorganismes étudiés 30°C, 37°C, 55°C.

6. Tests de la galerie classique

6.1. Mannitol mobilité-nitrate

Le milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate est utilisé pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation du mannitol, la mobilité et sur la réduction des nitrates en nitrites.

- Couler les tubes par le milieu
- Ensemencer avec un fil de platine ou d'une pipette Pasteur, par piqûre centrale, jusqu'au fond du tube de gélose.
- Incuber 18 à 24 heures à 37°C.
- La fermentation du mannitol provoque un virage au jaune du milieu. Les bactéries mobiles envahissent tout le milieu à partir de la piqûre centrale.

6.2. Test VF

C'est un milieu semi-solide, gélosé à 6% est utilisé pour la recherche du mode respiratoire des bactéries, ainsi que pour l'isolement en profondeur des anaérobies.

Au moment de l'emploi faire fondre le milieu au bain-marie bouillant et le régénérer pendant 20 minutes. Et refroidir jusqu'à 45°C environ. Puis prendre une colonie à l'aide d'une

pipette pasteur stérile, et ensemencer le milieu VF en effectuant des mouvements rotatifs. Incuber à 37°C pendant 24h.

Lecture

Après incubation nécessaire au développement bactérien, il est possible de reconnaître 4 types principaux de mode respiratoire :

-) Aérobies stricts, qui cultivent uniquement dans la zone superficielle
-) Anaérobies stricts, qui cultivent uniquement en profondeur
-) Aérobies-anaérobies facultatives, qui se développent sur toute la hauteur du milieu
-) Micro-aérophiles, qui forment un anneau dans la zone intermédiaire aérobie-anaérobie.

6.3. Citrate de Simmons

Ce milieu permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie pour la bactérie. Ce caractère est intéressant pour discriminer les bactéries entre-elles et ainsi de les identifier.

Ensemencer ce milieu directement à partir d'une colonie prélevée sur milieu gélosé, soit en strie longitudinale, soit en spot, soit les deux à la fois. Puis incuber à 37°C pendant une semaine.

Lecture

-) Virage de l'indicateur de pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons +, ce qui traduira le fait que la bactérie est capable d'utiliser le citrate comme seule source de carbone et d'énergie.
-) Pas de virage de l'indicateur de pH : il n'y a pas eu alcalinisation et le milieu ne présente pas de culture. La souche est citrate de Simmons -.

6.4. Test TSI

Le test Triple Sugar Iron (TSI) est un test qui permet de connaître la capacité d'un micro-organisme à fermenter des sucres et à produire du sulfure d'hydrogène.

Par faute de matériels, le milieu TSI a été fabriqué par nos soins sans agar, mais les 3 sucres ont été ajoutés séparément. Il est à noter que chaque souche a été ensemencée 3 fois dans les 3 TSI contenant les sucres différents (Lactose, Saccharose, Glucose) ; Prendre une colonie distincte à l'aide d'une anse de platine et l'ensemencer dans un tube contenant le milieu TSI avec un sucre spécifique, et ainsi de suite, une fois l'ensemencement effectué ajouter de l'huile de paraffine, et incuber à 37°C pendant 24h.

Lecture

Le résultat se traduit par un virage de couleur vers le jaune ; ce qui signifie que la bactérie a fermenté le sucre en question, si la couleur reste telle qu'elle est c'est-à-dire rouge, cela veut dire que la bactérie ne fermente pas le sucre.

IX. Détection du biofilm

1. Etude de la formation du biofilm par la méthode rouge cango agar (RCA)

La gélose Rouge Congo est un milieu très convenable pour la détection de souches productrices de slime. Sur ce milieu, les souches exprimant le PIA (polysaccharide intercellulaire l'adhésion) donnait des colonies noires avec une surface rugueuse contre des colonies de couleur rouge et à surface lisse pour les souches PIA négatif (**Ziebuhr et al., 2001**).

La production de slime a été recherchée sur le milieu rouge congo. Ce milieu a été préparé en additionnant 0,8 g de rouge Congo et 50 g de saccharose , 10g d'Agar-Agar,37g bouillon cœur-cerveille à 1 L d'eau distillée, puis autoclavé à 115°C pendant 10 minutes (**kara terki,2021**).

Le milieu estensemencé avec une anse d'une suspension de notre souche. La lecture a été faite après une nuit d'incubation à 37°C et 24 heures supplémentaires à température ambiante.

2. Etude de la formation du biofilm par méthode de goutte

Cette méthode a été utilisée pour caractériser les biofilms épais sur les lames de verre, en utilisant le colorant cristal violet afin de constater la quantité de colorant absorbée et adsorbée par les cellules de biofilm ainsi que l'adhésion des cellules sur la lame. Les souches sont inoculées sur des lames puis colorées au cristal violet après différents temps d'incubation. Une fois la coloration réalisée, l'observation se fait sur microscope optique.

X. Etude de la résistance aux antibiotiques par l'antibiogramme

L'antibiogramme permet de catégoriser une souche bactérienne en classes (sensible, intermédiaire ou résistante) et d'orienter l'antibiothérapie, il est basé sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration d'antibiotiques, par diffusion à partir de disque dans un milieu gélose Muller-Hinton, par la méthode des disques, selon les normes et les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (**CASFM, 2015**).

a. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture de 18 h, la suspension bactérienne est calibrée pour avoir un nombre de 10^8 UFC/ ml, correspondant à une densité optique de 0,08 à 0,1 à une longueur d'onde de 625 nm, soit une densité égale à 0,5Mc Ferland.

b. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture doit permettre la croissance de nombreuses bactéries et il ne doit pas contenir d'inhibiteurs des antibiotiques. Le milieu retenu pour la majorité des espèces

bactériennes est celui de Müller Hinton. L'épaisseur de la gélose va conditionner la concentration de la source d'antibiotique et elle doit être de 4 mm.

c. Ensemencement

- La gélose Müller Hinton est ensemencée par écouvillonnage.
- A l'aide d'un distributeur de disques ou d'une pince stérile, les différents disques d'antibiotiques sont déposés sur la surface gélosée en respectant une distance de 25 à 30 mm entre les disques.
- Appuyer doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu.
- Les disques doivent être laissés 20 min à température ambiante pour permettre la diffusion de l'antibiotique, l'incubation se fait à 37° pendant 18 à 24h. tableaux.

Tableau 6 : les antibiotiques utilisés

Antibiotique	Groupe de microorganisme
Rifampicine	<i>staphylococcus</i>
Amoxicilline+Ac.clavulanique	<i>Citrobacter, Aerococcus, Lactobacillus, streptococcus</i>
Ampicilline	<i>Bacillus, Lactobacillus, Enterobacter, Streptococcus, Enterococcus, Lactococcus, Aerococcus</i>
Chloramphénicol	<i>Citrobacter, Enterobacter, Pontoea, Enterococcus</i>
Ceftazidime	<i>Enterococcus, L actococcus</i>
Ciprofloxacine	<i>Citrobacter, Enterobacter, Lactobacillus, Pontoea, streptococcus, Enterococcus, Aerococcus, Candida</i>
Clindamycine	<i>Staphylococcus, Lactobacillus, streptococcus</i>
Ofloxacin	<i>Citrobacter, Enterobacter, Lactobacillus, Pontoea</i>
Oxacilline	<i>Staphylococcus, Bacillus, Lactobacillus, Micrococcus, Aerococcus, Lactococcus</i>
Co-trimoxazole	<i>Citrobacter, Lactobacillus, Aerococcus, Micrococcus, Pontoea, Enterococcus, Streptococcus</i>
Pénicilline	<i>Staphylococcus, Bacillus, Lactobacillus, Pontoea, Aerococcus, Lactococcus, Enterococcus</i>
Polymexine B	<i>Staphylococcus, Bacillus, Lactobacillus, Micrococcus, Aerococcus, Candida</i>
Tétracycline	<i>staphylococcus</i>
vancomycine	<i>Staphylococcus, Bacillus, Lactobacillus, Micrococcus, Aerococcus, Lactococcus, Candida</i>
Acide fusidique	<i>Staphylococcus, Micrococcus, Aerococcus, Candida</i>
Amikacine	<i>Enterobacter</i>

d. Lecture

Après 24 heures d'incubation, le diamètre d'inhibition sont est selon leur valeurs critiqués la souche est classée sensible (S), résistance (R) ou intermédiaire (I) (EUCAST, 2018).

XI. Effet inhibiteur de l'huile essentielle de *Lavandula dentata* L. sur les souches obtenu (CMI)

1. Huile esentielle : L'huile essentielle de *L. dentata* L. nous a été octroyé par le Dr bousmaha-Marroki L.



Figure 23 : Photos de l'huile essentielle à la lavande

2. Inoculation de la microplaque

- En premier, chaque souche a été enrichie dans 5 ml de BHIB, incubation pendant 24h à 37°C. Après incubation chaque enrichissement a été ajusté à l'eau physiologique, en dénombant sa densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre.
- Puis le Tween 80 a été dilué à 10% dans de l'eau désilée stérile, afin de préparer la solution mère et les différentes concentrations d'huile essentielle à tester allant de 1240 µg/ml à 5 µg/ml.
- Dans chaque puits la souche à tester est mise en contact avec les concentrations d'huile essentielle.
- Incuber la microplaque à 37°C pendant 24 heures.
- Après incubation, ensemercer par inondation 100 µl de chaque puits dans du BHIB solide, et laisser les boîtes à température ambiante pendant 3 jours.

3. Lecture des résultats

Les résultats se traduisent par la présence de colonies sur les boîtesensemencées à différente concentration, la première boîte qui comprend les colonies bien distincte est considérée comme étant la CMI de la souche en question.



Figure 24 : Photographie d'une microplaque inoculée

Résultats et discussion

I. Résultats de l'analyse des données du questionnaire

Les 10 sujets ont présenté des infections buccales répondant aux critères d'inclusion et d'exclusion et sont alors inclus dans cette étude. Six patients démontrent la présence de dents cariées dans leurs cavité buccale et 4 d'entre eux ont du tartre dentaire.

I.1. Répartition selon l'âge et le sexe

Les données fournies par le questionnaire ont révélé que les patient ayant entre 10 et 25 ans procède à une extraction dentaire plus fréquemment (60%) comparativement aux patients de la tranche d'âge de 25 et 50 ans (40%), on remarque également que les hommes extrait leurs dents plus souvent que les femmes (Figure 25). Cette répartition est probablement due aux habitudes alimentaires, l'hygiène bucco-dentaire et spécifiquement au tabagisme D'autres études ont proposé que les effets différentiels des gènes qui influencent la carie dentaire peuvent expliquer les différences observées entre les deux sexes (Vieira et al., 2008).

Quant au détartrage c'est les patients entre 25 et 50 ans qui y ont recours (60%) contrairement aux patients de la tranche d'âge plus jeune (40%), ces données montrent aussi que c'est les femmes qui détartrèrent leurs dents de manière plus fréquente par rapport aux hommes (Figure 25).

L'analyse statistique montre qu'une association significative a été notée entre l'atteinte carieuse, tartre et la variable sexe, ceci concorde avec plusieurs études à travers le monde ont confirmé cette association (Sufia et al., 2011). Cette association est peut-être dû au fait que la population est diversifier, elle est constituée d'adolescents, d'universitaire ainsi que des personnes d'âge avancé, ces dernier n'ont pas les mêmes habitudes alimentaires et les mêmes pratiques d'hygiènes buccodentaires.

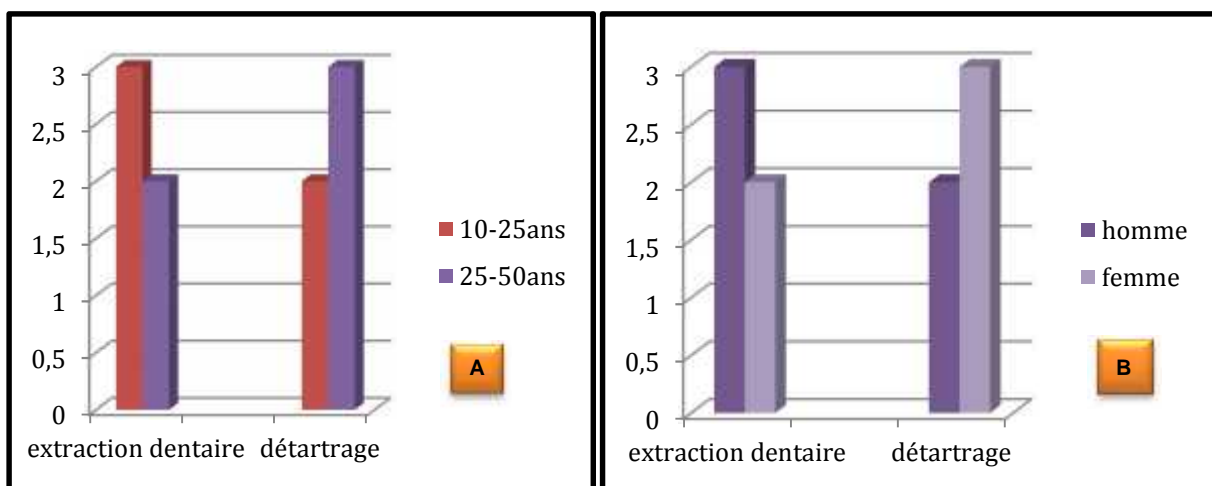


Figure 25 : Fréquence d'extraction dentaire et de détartrage en fonction d'âge et sexe.
A : répartition en fonction de l'âge ; **B :** répartition en fonction du sexe.

I.2. Répartition selon le motif de la consultation

L'analyse statistique effectuée dans cette étude nous a permis de constater que 60% des patients effectuent une extraction dentaire et plus spécifiquement chez la tranche d'âge jeune. Seulement 40% des patients consultent pour un détartrage (Figure 26). Les mauvaises habitudes alimentaires surtout chez les jeunes telles que les prises sucrées répétées en dehors des repas entraînent une chute de Ph salivaire créant un environnement favorable à la formation des caries (**Dargent–Pare et Levy, 2001**).

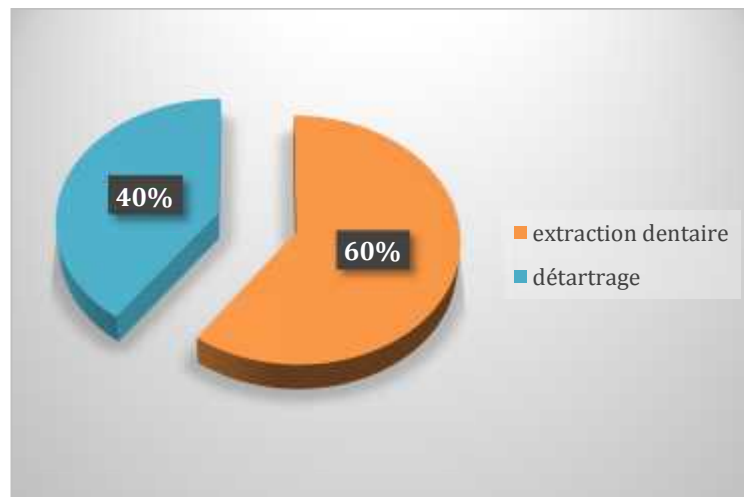


Figure 26 : Fréquence de motif de consultation

I.3. Répartition selon la mauvaise haleine et le brossage des dents

L'analyse des questionnaires a indiqué que les patients ayant le plus de caries dentaire souffrent d'un problème de mauvaise haleine de manière accrue, mais les patients qui ont une accumulation de tartre dentaire souffrent d'une mauvaise haleine réduite par rapport au patient ayant des dents cariées (Figure 27), en déduction la carie dentaire est un facteur aboutissant à une mauvaise haleine chez l'individu. La carie dentaire et les maladies parodontales sont des facteurs potentiels qui contribuent à la mauvaise haleine. Le manque d'hygiène bucco-dentaire, y compris le manque de brossage dentaire, la non utilisation des bains de bouche anti-plaque et la soie dentaire, est un facteur de risque de la mauvaise haleine (**Pratibha et al., 2006**).

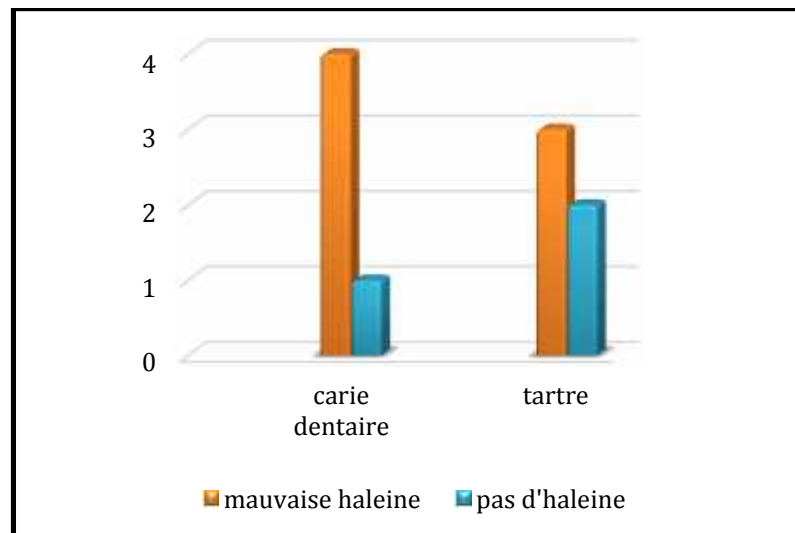


Figure 27 : Les fréquences de la mauvaise haleine en fonction de la carie dentaire et du tartre.

Dans cette analyse qui met en valeur la fréquence de lavage chez les patients, on remarque que les personnes ayant un brossage de dents irrégulier présentent une forte mauvaise haleine. Plus le brossage est fréquent plus la mauvaise haleine diminue considérablement chez les patients (Figure 28).

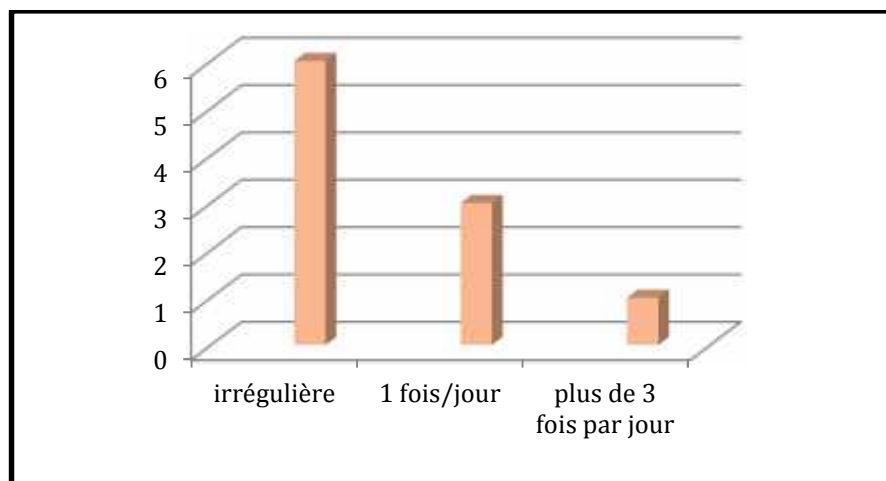


Figure 28 : Fréquences de brossage des dents en fonction de la mauvaise haleine.

Pour conclure le manque d'hygiène bucco-dentaire, y compris le manque de brossage des dents à une association significative entre la carie dentaire, la formation du tartre et contribuent également à la mauvaise haleine. Il est admis aujourd'hui que pour agir efficacement contre l'accumulation de la plaque, le brossage doit être effectué après les repas. Le brossage du soir est également le plus important dans la mesure où, durant la nuit, la sécrétion salivaire diminue ; or la salive participe entre autres à la protection des dents. L'hygiène bucco-dentaire a pour objectif d'éliminer la totalité de la plaque bactérienne dont la présence est indispensable au développement de la carie (Muller et al., 1997).

II. Prélèvement

Tous les échantillons prélevés de la carie dentaire et de tartre ont présenté une culture positive par l'apparition d'un trouble bactérien dans les conditions d'aérobiose et d'anaérobiose (Figure 29).

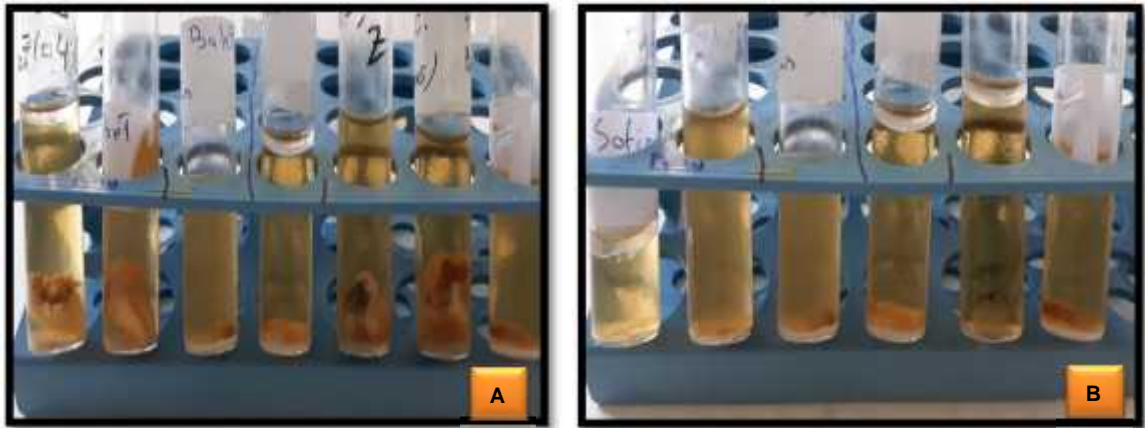


Figure 29 : Photographies des tubes de prélèvements après incubation. **A** : prélèvements de carie dentaire ; **B** : prélèvements du tartre dentaire.

A partir de 6 prélèvements à partir de la cavité buccale de patients. Nous avons isolé 18 souches : 60% des isolats issu de la carie dentaire (13 souches) et 40% sont issu de tartre dentaire (5 souches). Les patients 1, 3 et 5 présentent un nombre élevé de souches isolées soit de 22% (Figure 30).

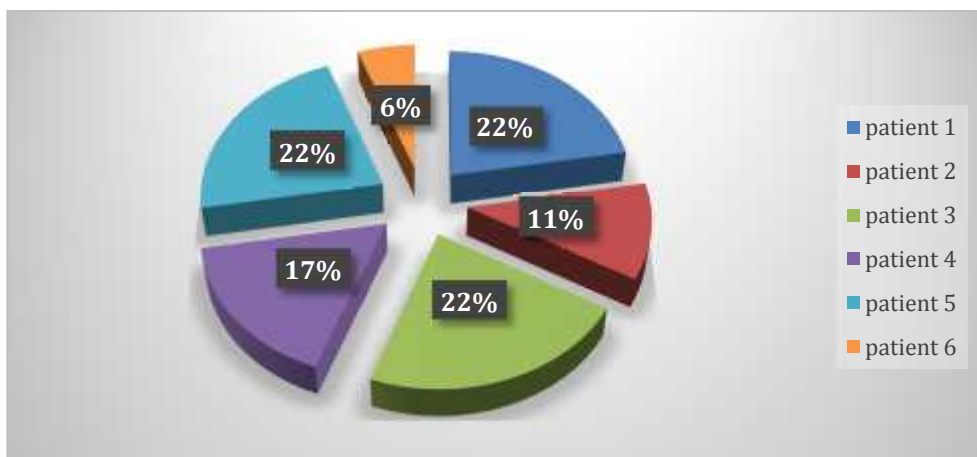


Figure 30 : Fréquence de souches isolées à partir de chaque patient

III. Identification

III.1. Caractérisation microscopique

L'examen au microscope des souches après coloration de Gram permet de repérer la prédominance d'un groupe bactérien (cocci ou bacilles), et de classer les bactéries en deux

groupes (Gram positif, Gram négatif). Au total 18 souches ont été isolées de dents cariées et de tartre dentaire. Elles ont été répertoriées en 16 genres, 11 sont des cocci et 13 des bacilles (Figure 31). La coloration de Gram des prélèvements dentaires des sujets ayant ou indemnes des lésions carieuses nous a permis de constater que les morphotypes Gram positif sont plus observés que les Gram négatif pour les deux cas, ce qui est en accord avec les résultats d'une étude antérieure (Rozkiewicz, 2006).

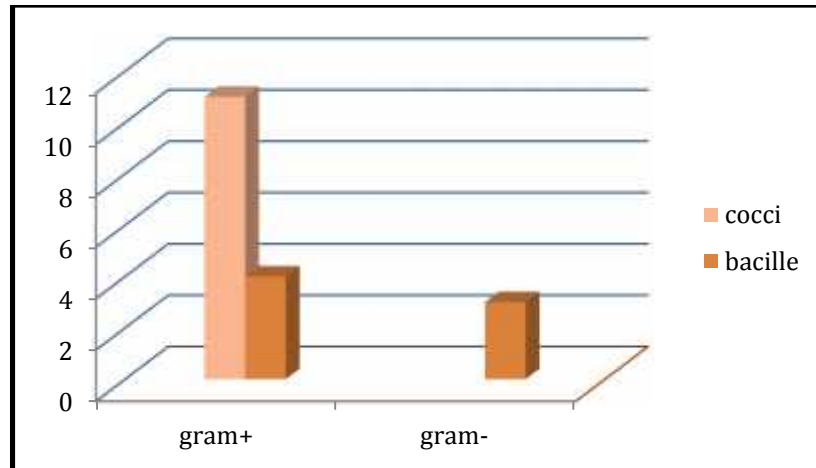


Figure 31 : Répartition du total des isolats en cocci/bacilles et selon le type de Gram

Les plaques dentaires supra-gingivales des sujets cariés révèlent 13 souches aérobies et 5 souches aérobies isolées à partir du tartre. Les sujets présentant des dents cariées révèlent un total de 13 souches appartenant à 13 genres : 12 (85%) sont des bactéries Gram+ et 1 (15%) souches sont des Gram -. Alors que les sujets présentant du tartre révèlent un total de 5 souches appartenant à 5 genres : 3 (60%) sont des bactéries Gram+ et 2 (40%) souches sont des Gram- (Figure 32).

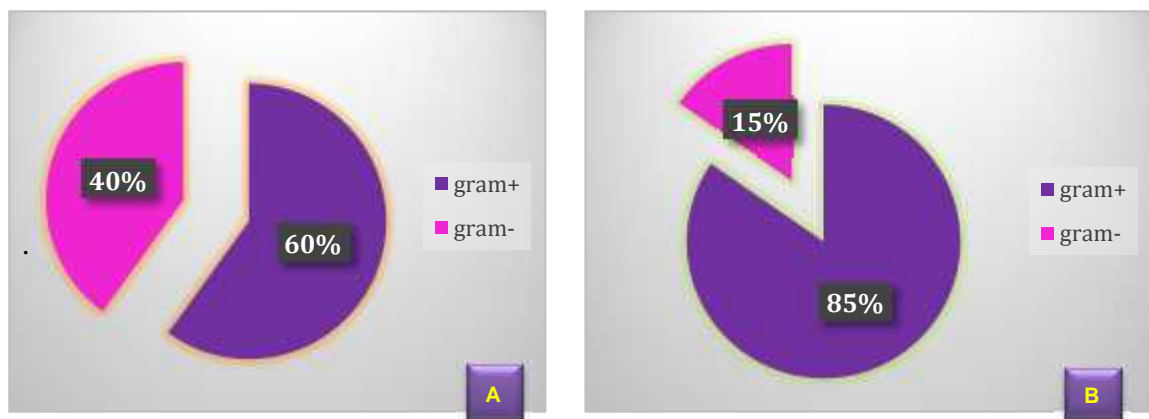


Figure 32 : Pourcentage de répartition des souches isolées à partir de la carie dentaire (A) et du tartre (B) en fonction de Gram.

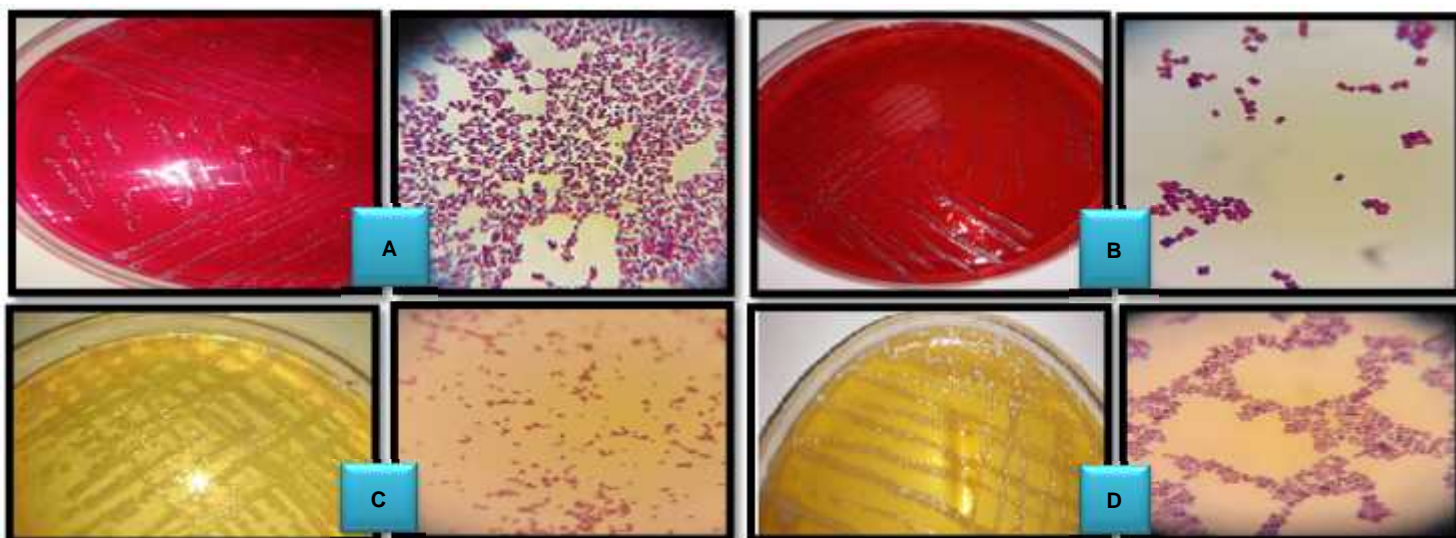
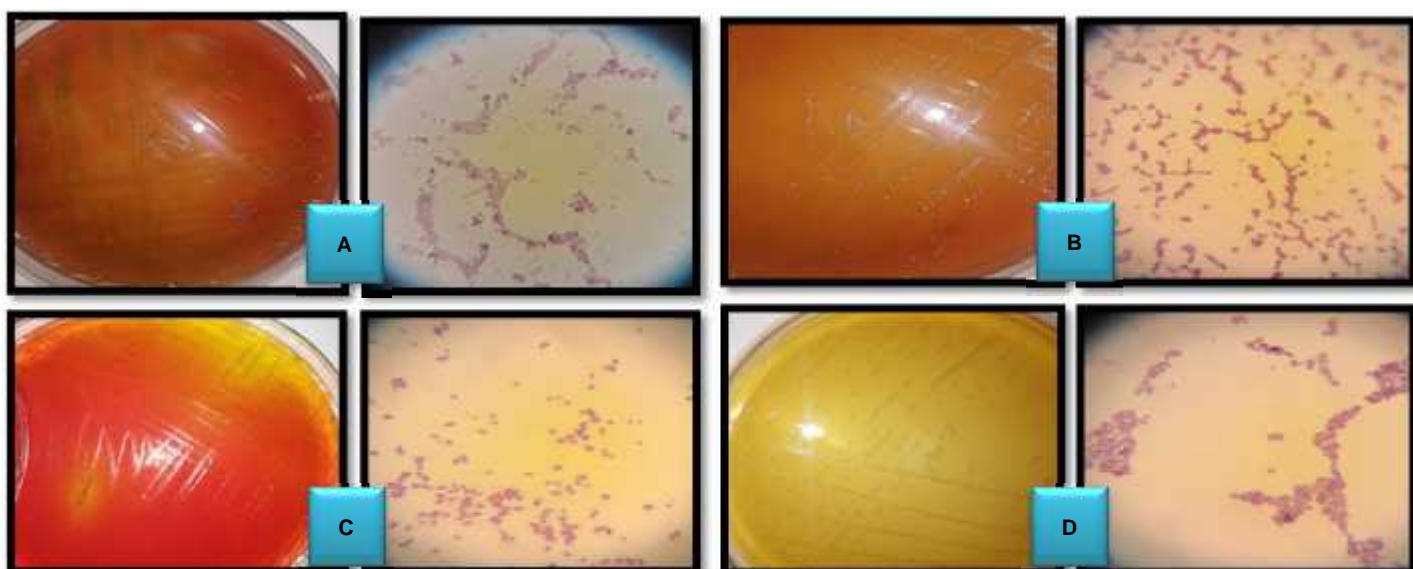


Figure 33 : Observation macro et microscopique de *Staphylococcus* spp. **A, B, C, D** : *Staphylococcus* spp

Selon l'aspect macro et microscopique **A** et **B** (Figure 33) sont des staphylococcus spp. Elle se présente sous forme de petites colonies blanches, plates, régulières, opaques sur milieu chapman et à coagulasse négatif. En observation microscopique, elles sont sous forme de cocci en amas et en tétrade à Gram+. **C**, est également *Staphylococcus* spp., cette souche se présente sous forme de colonies translucide régulière brillante sur gélose Columbia, au microscope, elles apparaissent comme des cocci dispersées et en amas à Gram +. Pour la figure **D**, c'est aussi *Staphylococcus* spp., elle se présente sous forme de colonies moyenne blanchâtre plate et régulière sur milieu M17, au microscope ce sont des cocci en tétrades à Gram+. Ces 4 souches sont isolées à partir de carie dentaires.



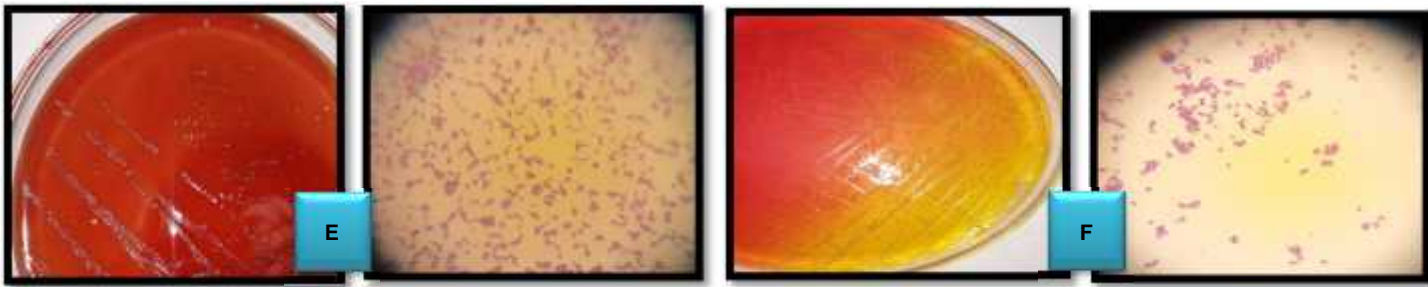


Figure 34 : Observation macroscopique et microscopique des Cocci Gram +. **A** : *Streptococcus* spp, **B** : *Lactococcus* spp, **C** : *Enterococcus* spp, **D** : *Aerococcus* spp, **E** : *Enterococcus* spp, **F** : *Micrococcus* spp.

Selon l'aspect macro et microscopique **A** (Figure 34) est une *streptococcus* spp qui se présente sous forme de très petites colonies translucide avec présence d'hémolyse sur milieu gélose au sang, au microscope elles apparaissent comme des cocci en très long chaîne à Gram+. Pour la (Figure 34) **B** c'est *Lactococcus* spp., cette dernière se présente sous forme de petites colonies blanches brillantes avec présence d'hémolyse sur milieu gélose au sang, Au microscope elle apparaissent sous forme de cocci en amas et en très courtes chaînes à Gram+.

C, est une *Enterococcus* spp., qui se présente sous forme de micro-colonies blanchâtres brillantes sur milieu chapman avec dégradation du mannitol (mannitol+). Au microscope ce sont des cocci en tétrade et en paires à Gram+. Pour la figure **D** c'est *Aerococcus* spp., elle se présente sous forme de micro-colonies translucides sèche régulière sur milieu M17, au microscope ce sont des cocci en amas à Gram+. Les 4 souches sont isolées à partir des caries dentaires.

Quant aux figures **E** et **F** c'est des souches isolées à partir de tartre dentaire. **E** est une *Enterococcus* spp., cette souche se présente sous forme de petites colonies brillantes blanches avec présence d'hémolyse sur milieu gélose au sang, au microscope, ce sont des cocci en amas à Gram+ et **F** est une *Micrococcus* spp., cette souche se présente sous forme de micro-colonies blanchâtre sur milieu chapman avec dégradation du mannitol (mannitol+), et au microscope, elles apparaissent comme des cocci en amas à Gram+.

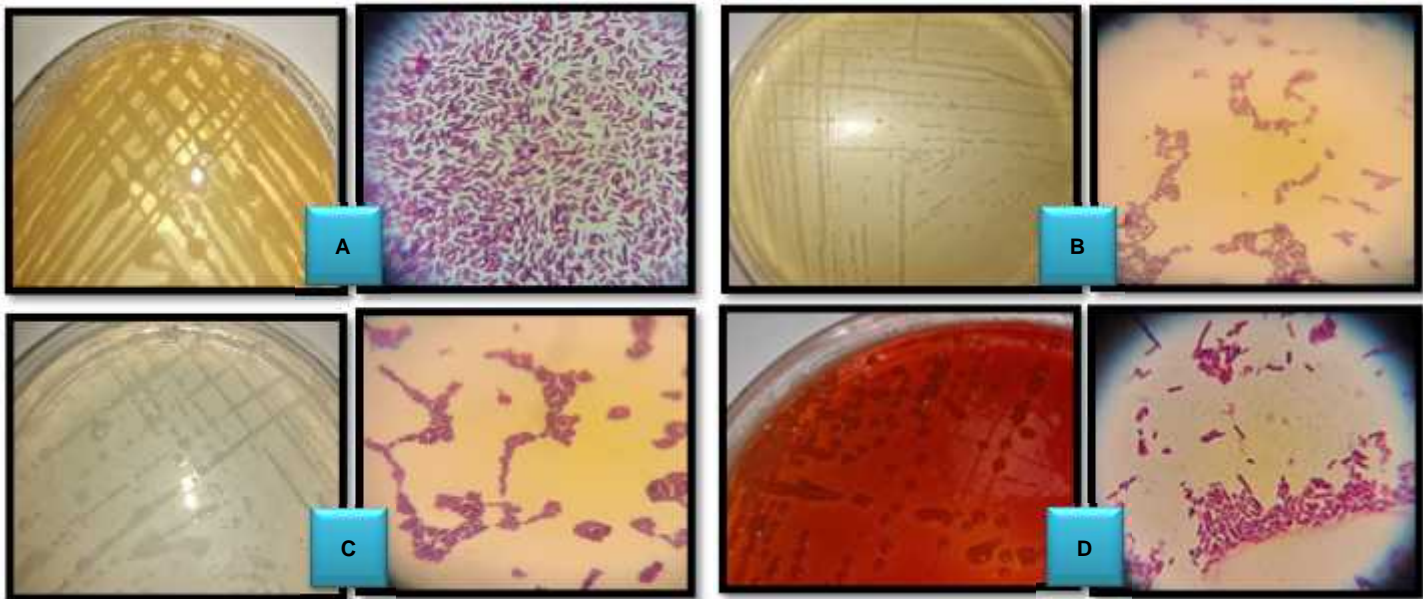


Figure 35 : Observation macroscopique et microscopique des Bacilles Gram+ **A, B, C :** *Lactobacillus* spp, **D :** *Bacillus* spp

Selon l'aspect macro et microscopique **A, B** et **C** (Figure 35) sont des *lactobacillus* spp. Sur la gélose Columbia elles apparaissent sous forme de colonies beige crémeuse et au microscope ce sont de longs bacilles dispersés en amas à Gram +, sur le milieu MRS, c'est de très petites colonies blanches et régulières translucide, au microscope, elles apparaissent comme des coccobacille en amas Gram+. Sur ce même milieu, la dernière *lactobacillus* se présente sous forme de colonies blanchâtres régulières et au microscope, elles apparaissent sous forme de bacilles en amas à Gram+. **D** est une *Bacillus* spp., apparait sous forme de colonies jaune de taille moyenne bombé irrégulière, crémeuse, brillante sur milieu chapman avec fermentation du mannitol (mannitol+). Au microscope, ce sont des bacilles en amas et en chaines à Gram+. Ces 4 souches sont isolées à partir des caries dentaires.

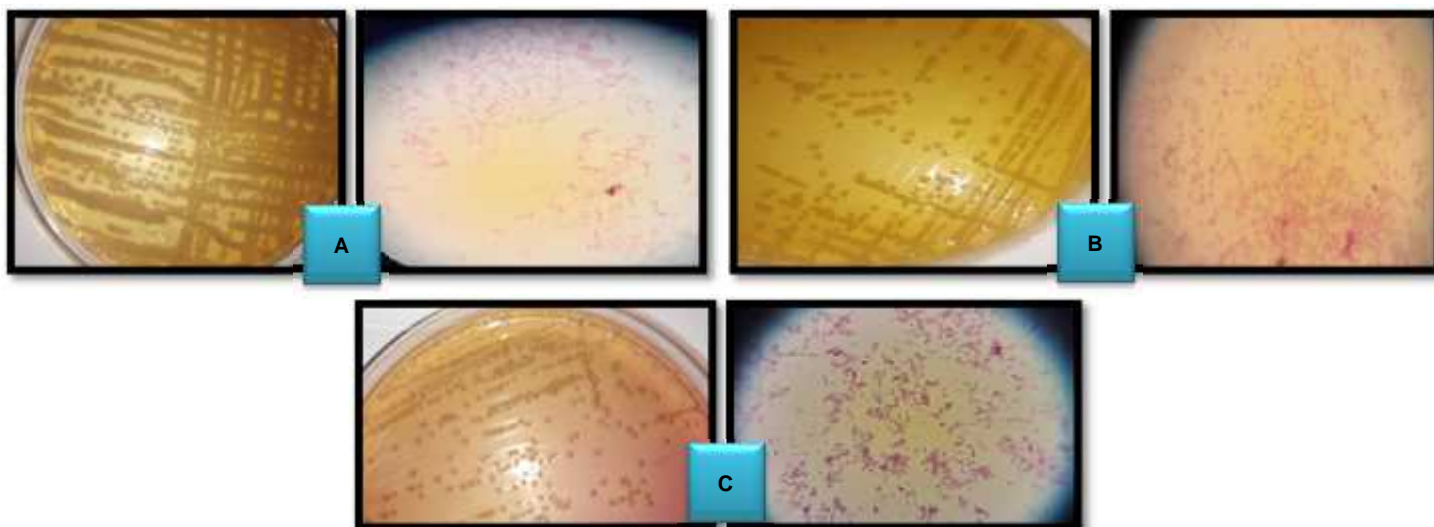


Figure 36 : Observation microscopique et macroscopique de Bacilles Gram -. **A :** *Eubacterium* spp, **B :** *Pontoea* spp, **C :** *Enterobacter* spp.

Selon l'aspect macro et microscopique **A** (Figure 36) est *Eubacterium* spp., qui apparaît sous forme de petites colonies, plate, brillante, beige à grise sur milieu Mac-conkey. Au microscope elles sont apparues sous forme des très fins bacilles à Gram -. Pour la figure **B** c'est *Pontoaea* spp présenter sous forme de colonie de taille moyenne, jaune bombé irrégulière et sèche sur milieu M17, au microscope, ce sont de fines bacilles en amas à Gram-. **A, B** ont été isolé à partir de tartre dentaire. Et enfin **C**, est une *Enterobacter* spp., isolées à partir d'une carie dentaire, cette souche se présente sous forme de petites colonies rose, régulière sur milieu Mac-conkey avec une acidification du milieu par fermentation du lactose (lactose +), au microscope, ce sont des coccobacille en amas à Gram -.

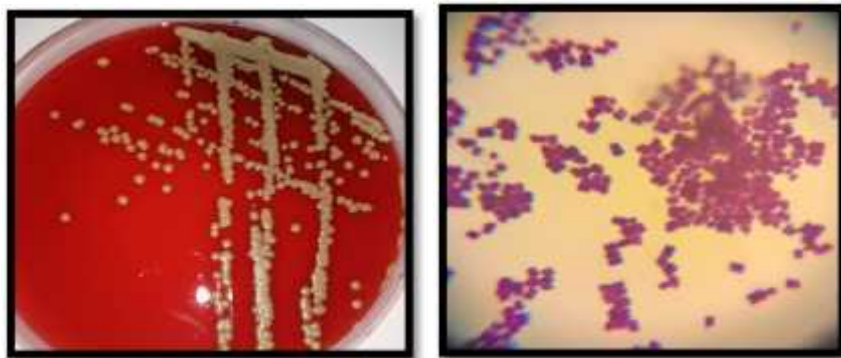


Figure 37 : Observation macro et microscopique de *Candida* spp.

Candida spp a été isolé à partir de tartre dentaire, elle se présente sous forme de colonies beiges à jaunes, régulières de tailles moyennes sur milieu Gélose au sang, au microscope ce sont des cocci en tétrades à Gram+ (Figure 37).

III.2. Coloration de spore

La coloration au vert de malachite est essentielle à l'observation des spores, ces derniers apparaissent en roses et les cellules en verts, elles peuvent être déformantes ou non déformantes, terminales subterminales ou centrales. Cette coloration a été appliquée pour les bacilles Gram positif. Une seule souche est observée comme sporulant. La figure 38 illustre les spores à l'intérieur de ce bacille Gram positif ayant une association en chaîne.



Figure 38 : Photo de la coloration au vert de malachite pour *Bacillus* spp.

III.3. Identification biochimique

3.1. Identification par galerie classique

3.1.1. Résultats de tests catalase

Une colonie a été prélevée de chaque souche obtenu, puis déposer sur de l'eau oxygénée, un résultat positif se traduit par un dégagement de bulles gazeuses. Certaines souches produisent la catalase, d'autres sont catalase négative (Figure 39).

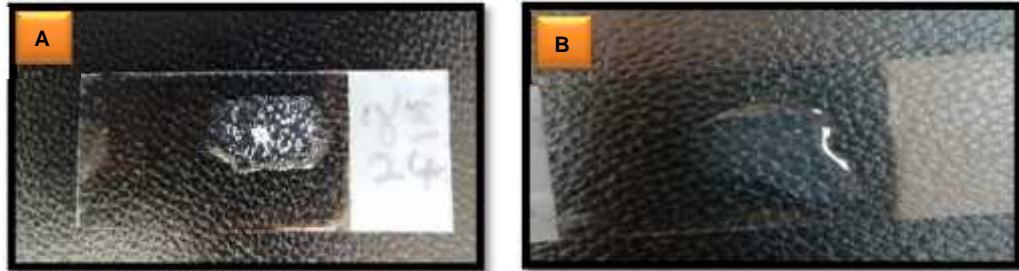


Figure 39 : Photos d'observation du test de catalase. A : catalase positive, B : catalase négative

3.1.2. Résultats de tests coagulase

Le test de la coagulase a été appliqué pour les espèces présumées du genre *Staphylococcus*. Toutes les souches de staphylocoque isolées n'ont présenté aucune coagulation du plasma humain (coagulase négative) lors du test coagulase, ce qui les attribue au groupe de Staphylococque coagulase négative (Figure 40).



Figure 40 : Photos d'observation du test de coagulase négative

3.1.3. Test Citrate de Simmons

Le milieu de citrate de Simmons met en évidence la dégradation du citrate, il est présenté sous forme de gélose inclinée. Après ensemencement de la pente par une strie longitudinale à partir d'une colonie de culture solide le résultat apparaît par un virage de couleur du vert au bleu roi après 7 jours d'incubation à 37°C (Figure 41). Quatre isolats avaient l'aptitude de dégrader le citrate.

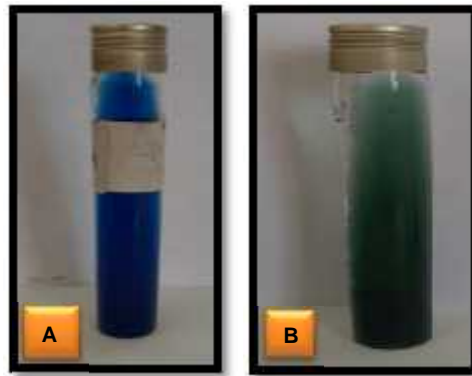


Figure 41 : Photos d'observation du test de dégradation du Citrate de Simmons. **A** : citrate positif, **B** : citrate négatif

3.1.4. Mannitol-Mobilité

Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement, créant un trouble dans le milieu alors que les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la strie d'ensemencement. Nous avons noté la mobilité chez deux isolats, tandis que les autres souches sont immobiles (Figure 42).

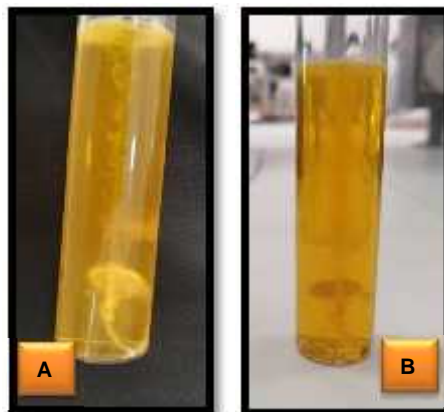


Figure 42 : Test Mannitol-Mobilité. **A** : Bactérie mobile, **B** : Bactérie immobile

3.1.5. Test VF

Ce test permet d'identifier 4 types de métabolisme respiratoire : aérobie stricte, anaérobie stricte, aéro-anaérobie facultative, et microaérophilie. Parmi l'ensemble des isolats nous avons noté qu'ils appartiennent à deux métabolismes respiratoires, soit le type respiratoire aérobie strict et aéro-anaérobie facultatif (Figure 43 et 44).



Figure 43 : type respiratoire Aéro-anaérobie facultatif



Figure 44 : Type respiratoire Aérobie stricte

3.1.6. Test TSI

Des bouillons contenant les trois sucres d'identification (TSI) ont été préparés préalablement sans agar et les 3 sucres ont été ajouté séparément. Puis chaque souche a été ensemencer en anaérobiose dans les bouillons contenant les sucres diffèrent (Lactose, Saccharose, Glucose). Le résultat positif se traduit par un virage de couleur vers le jaune (Figure 45) ; ce qui signifie que la bactérie a fermenté le sucre en question, si la couleur reste rouge, cela veut dire que la bactérie ne fermente pas le sucre. Les résultats de la fermentation des trois sucres présents séparément dans les bouillons liquide sont décrits dans le tableau N°7



Figure 45 : Fermentation des sucres. A : test positifs, B : test négatifs.

3.1.7. Résultat de l'identification des souches réparties par patient

Les résultats de la galerie classique nous ont permis d'identifier les isolats au niveau genre (tableau 07). Le patient 1 souffrait de grave détérioration de sa cavité buccale, les souches identifiées sont : *Citobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Candida albicans*. Le prélèvement de carie dentaire douloureuse chez le patient 2, révèle la présence de souches *Staphylococcus* spp., *Lactobacillus* spp. Les souches obtenus d'un prélèvement de carie dentaire du troisième patient souffrant sont ; *Staphylococcus* spp, *Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterobacter* spp. Les souches isolées à partir d'un prélèvement de carie dentaire du patient 4 souffrant d'un abcès, sont ; *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp, *Enterococcus* spp. Concernant le patient 5 qui développait une carie dentaire douloureuse, les souches isolées sont ; *Streptococcus* spp., *Aerococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Staphylococcus* spp. La souche obtenue du prélèvement de tartre du patient 6 a été identifiée comme *Pontae* spp.

L'identification par la galerie classique a permis de déterminer plusieurs souches de *Staphylococcus* spp, ces données corroborent avec celles rapportées dans des travaux antérieurs du (**Ohara-Nemoto, 2008**) qui a révélé la présence de *Staphylococcus* spp dans les plaques supra-gingivales de lésions carieuses. Des études ont également prouvé le rôle d'*Enterococcus* spp dans le processus carieux a été démontré suite aux travaux de (**Candids et al., 2012**). Dans une autre étude la souche *Micrococcus* spp. a été isolée à partir des plaques supra gingivales de patients ayant ou non des caries dentaires (**Rozkiewicz et al., 2006**).

Tableau 7 : résultats de l'identification des souches isolées de la cavité dentaire des patients avec pathologies bucco-dentaires

Souche	Patient/à partir de	Obs. microscopique	G	Type respiratoire	C	Coagulase	Citrate	Glucose	Saccharose	Lactose	Mannitol mobilité	Spore
<i>Citrobacter freundii</i>	Patient n°1/Tartre	Bacille en chaînette	-	Aérobie stricte	+	*	+	+	+	+	mobile	asporulée
<i>Enterococcus faecalis</i>		Cocci en amas	+	Aéro-anaérobie facultatif	-	*	-	+	+	+	immobile	*
<i>Micrococcus kristinae</i>		Cocci en amas	+	Aérobie stricte	+	*	-	-	+	-	immobile	*
<i>Candida albicans</i>		Cocci en tétrade	+	Aérobie stricte	+	*	-	-	-	-	immobile	*
<i>Staphylococcus xylosus</i>	Patient n°2 / Carie dentaire	Cocci en tétrade	+	Aéro-anaérobie facultatif	+	-	-	+	+	-	immobile	*
<i>Lactobacillus salivarius</i>		Bacille en amas	+	Aérobie stricte	-	*	+	+	+	+	immobile	asporulée
<i>Staphylococcus spp</i>	Patient n°3/ Carie dentaire	Cocci en amas	+	Aéro-anaérobie facultatif	+	-	-	-	+	-	immobile	*
<i>Bacillus spp</i>		Bacille en chaînette	+	Aéro-anaérobie facultatif	+	*	+	+	-	-	immobile	sporulée
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		Cocci en amas	+	Aéro-anaérobie facultatif	+	-	+	+	+	+	immobile	*
<i>Enterobacter sakazaki</i>		Coccobacille en amas	-	Aéro-anaérobie facultatif	+	*	-	+	+	+	immobile	asporulée
<i>Enterococcus faecium</i>	Patient n°4/ Carie dentaire	Cocci en paire, tétrade	+	Aérobie stricte	-	*	-	-	+	-	immobile	*
<i>Lactobacillus paracasei spp</i>		Coccobacille en amas	+	Aéro-anaérobie facultatif	-	*	-	+	+	+	immobile	asporulée

<i>Lactococcus lactis</i>		Cocci en chaînette	+	Aéro-anaérobie facultatif	-	*	-	+	+	+	immobile	*
<i>Streptococcus mutans</i>	Patient n°5/ Carie dentaire	Cocci en amas	+	Aérobie stricte	-	*/présence d'hémolyse	-	+	+	+	immobile	*
<i>Aerococcus viridans</i>		Cocci en amas	+	Aéro-anaérobie facultatif	-	*	-	-	+	-	immobile	*
<i>Lactobacillus brevis</i>		Bacille en amas	+	Aéro-anaérobie facultatif	-	*	-	+	+	+	mobile	asporulée
<i>Staphylococcus hominis</i>		Cocci en tétrade	+	Aérobie stricte	+	*	-	+	+	+	immobile	*
<i>Pontae spp.</i>	Patient n°6/ Tartre dentaire	Bacilles en amas	-	Aérobie stricte	+	*/présence d'hémolyse	-	-	-	-	immobile	asporulée

Légende : G : Gram, C : catalase, * : non déterminé

3.2. Résultats d'identification biochimique par Api système

3.2.1. API 20 Strep

Les résultats de la galerie API 20 Strep nous ont permis d'identifier les souches au niveau d'espèce : *Aerococcus viridans*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis* et *Streptococcus mutans* (Figure 42). *Streptococcus mutans* s'établit dans la bouche seulement après l'éruption des dents (Caufield et al., 1993). Cette espèce *S. mutans* jouera un rôle prédominant dans la formation des caries dentaires (Mitchell, 2003).

Mais aussi l'étude réalisée par (Ziouani et al. 2015) a pu confirmer la présence d'*Aerococcus viridans* souche dans les prélèvements des plaques supragingivales et sous-gingivales des adultes Algériens sains.

les résultats d'une étude antérieure révélant la présence de *Lactococcus lactis* souche dans les plaques dentaires issus des gens avec ou sans dents cariées (Tanner et al., 2011) .

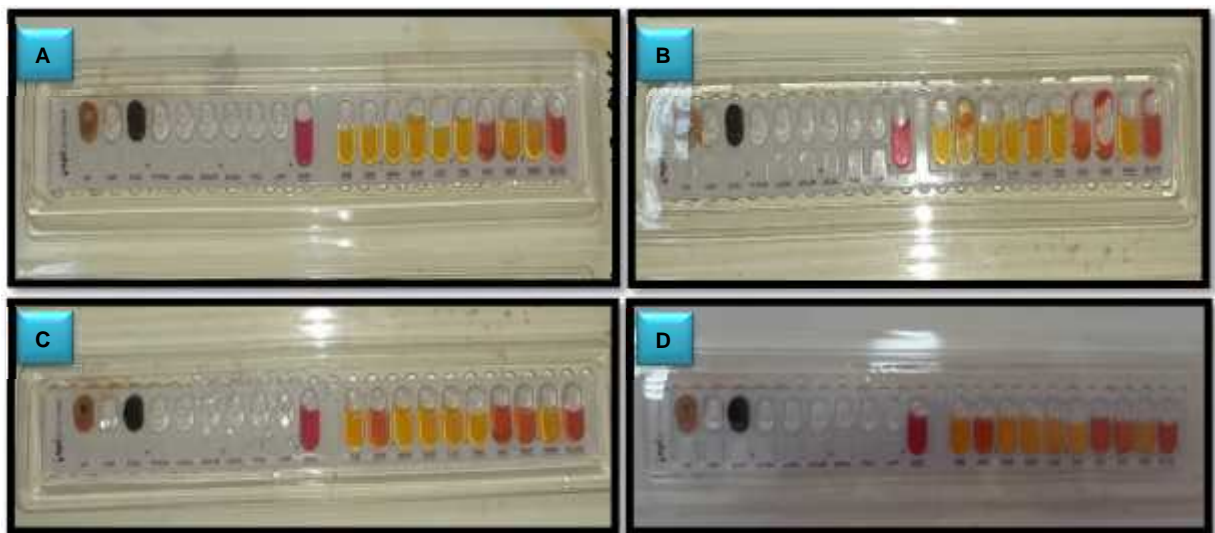


Figure 46 : Identification des isolats par l'Api 20 Strep. **A** : Identification d'*Aerococcus viridans*. **B** : Identification de *Lactococcus lactis*. **C** : Identification d'*Enterococcus faecalis*. **D** : Identification de *Streptococcus mutans*.

3.2.2. API Staph

Les résultats de la galerie API Staph nous a permis d'identifier la souche *Staphylococcus* comme appartenant à l'espèce *Staphylococcus xylosus* (Figure 43).



Figure 47 : Identification de *Staphylococcus xylosus* par la plaque API Staph

3.2.3. API 20E

Les résultats de la galerie API 20 E nous a permis de révéler les souches suivantes : *Pontoea* spp, *Citrobacter frendi*, *Enterobacter sakazaki*. Des études en microbiologie de maladie infectieuse de la bouche ont prouvé que les bacilles à Gram négatif pouvaient représenter (10 à 15 %) (Sixou et al., 2007).

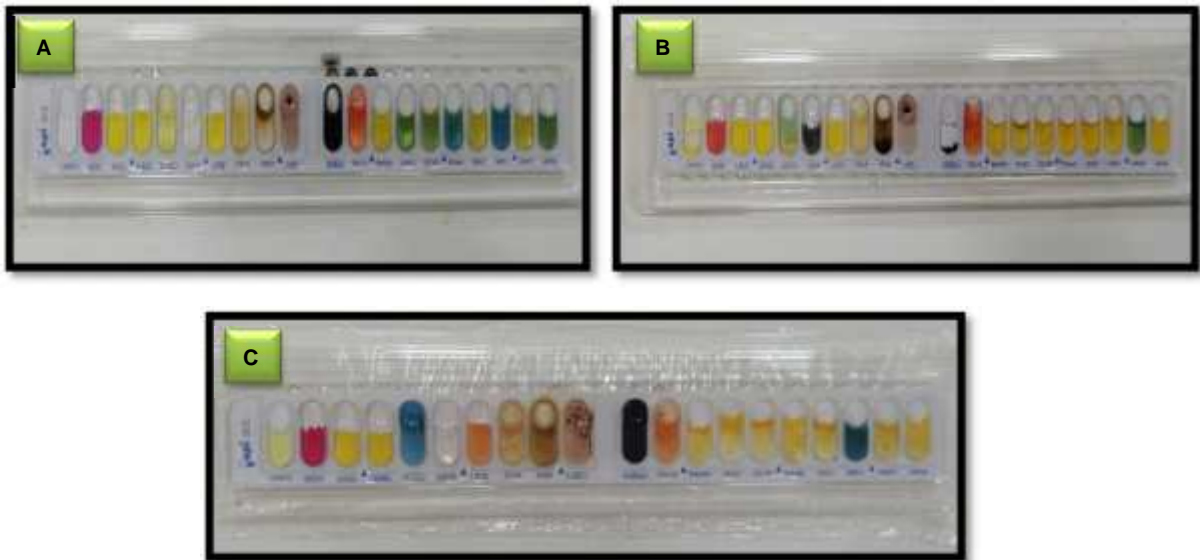


Figure 48 : Identification de souches par la plaque API 20E. **A** : Identification de *Pontoea* spp. **B** : Identification de *Citrobacter frendi*. **C** : Identification d'*Enterobacter sakazaki*

3.2.4. API 50 CHL

Les résultats de la galerie API 50 CHL nous ont permis d'identifier les souches du genre *Lactobacillus* comme appartenant aux espèces : *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus paracasei*.

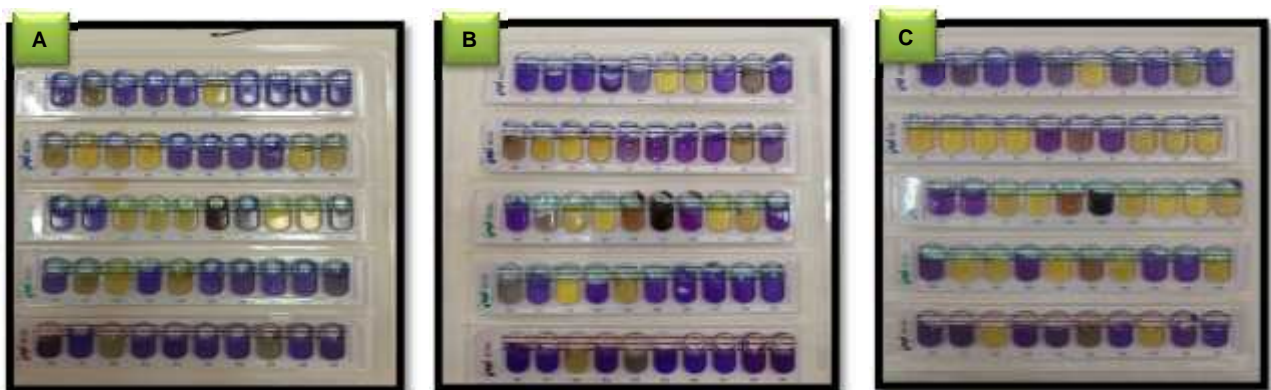


Figure 49 : Identification des souches de *Lactobacillus* par la plaque API 50CHL. **A** : Identification de *Lactobacillus brevis*. **B** : Identification de *Lactobacillus salivarius*. **C** : Identification de *Lactobacillus paracasei*.

La présence d'un nombre important des Lactobacilles dans les plaques supra-gingivales des deux populations incluses dans cette étude est conforme aux données signalées par (**Candids et al., 2012**). Les lactobacilles métabolisent rapidement les sucres alimentaires, puis, les acides produits par ces derniers créent un environnement propice pour leur croissance et causent à la suite la décalcification des dents (**Marsh, 2006**).

IV. Résultats de l'évaluation de l'aptitude des isolats à former un biofilm

Les souches isolées ont été testées pour mettre en évidence leur capacité à former un biofilm par deux techniques : la méthode de Rouge Congo (RCA) et la méthode sur lame.

IV.1. Production de biofilm par la méthode RCA

La recherche de la production de slime sur milieu Rouge Congo Agar a révélé que 15 souches sur 18 isolées à partir de tartre et des caries dentaires sont productrice de slime 83% et 17% (3) non productrice de slime.

Cette étude nous a permis de constater que les 3 souches non formatrice de slime ont été isolé à partir d'un même patient de 12ans et qui présentent une carie dentaire donc en peut dire que la formation de slime bactérien à une relation avec l'âge, les souches isolées sont : *Aerococcus viridans*, *lactococcus brevis* et *staphylococcus hominis*.

Des études antérieures ont constaté que les lactobacilles, les *Enterococcus* et les lactobacillus, les Streptococcus sont fortement formatrices de biofilm (**Al Ahmad et al., 2014**) ce qui leur confère un rôle important dans le procesus de développement des lésions carieuses



Figure 50 : fréquence de production du slime par les souches isolées

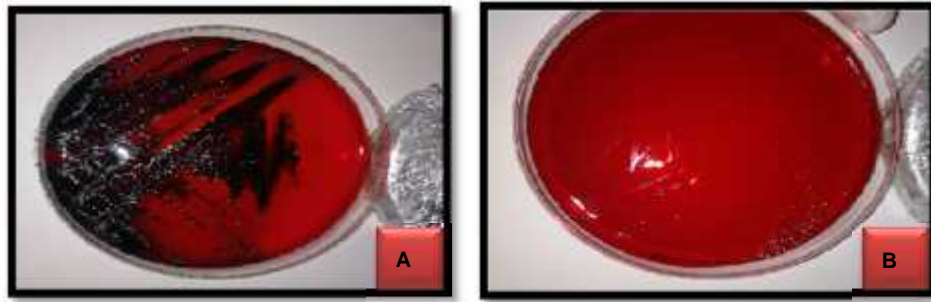


Figure 51 : Dépistage de la production de biofilm par la méthode Rouge Congo Agar (RCA).

A : Fortement productrice de biofilm, **B** : Non productrice de biofilm

IV.2. Adhésion de biofilm par méthode de goutte

La recherche de la capacité d'adhésion de biofilm dentaire sur lame a montré que 27% (4 souches) de souches isolées ont une forte capacité d'adhésion sur lame après 3h et 53% (8 souches) ont une adhérence modéré par contre 20% (3 souches) est non adhésive sur lame. L'adhésion des souches sur lame après 24h est forte chez tous les isolats.

La taille des biofilms s'est considérablement accrue après 23 heures d'incubation, et les formes planctoniques se font plus rares. Cela démontre que les micro-organismes isolés adoptent préférentiellement le mode de vie en biofilm. En résumé, les bactéries s'organisent donc en biofilm pour optimiser l'utilisation des substrats disponibles et pour se protéger de conditions défavorables (Jefferson, 2004).

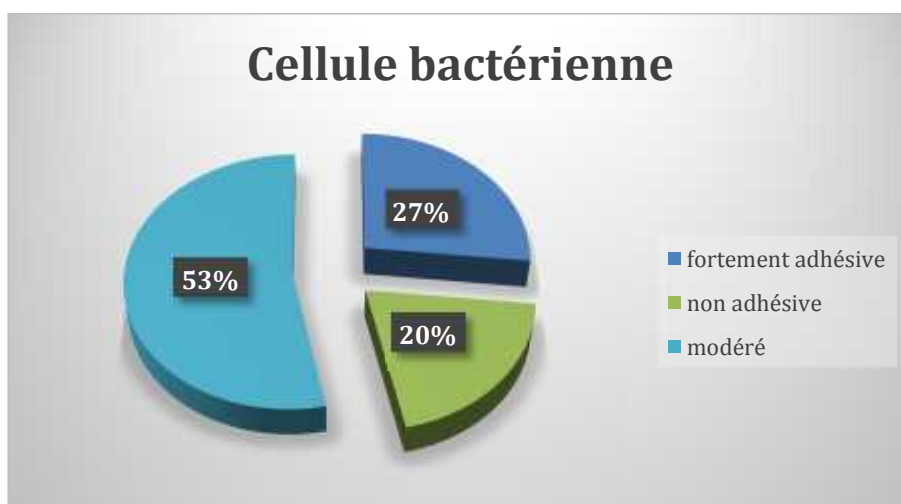


Figure 52 : fréquence d'adhésion des souches isolées sur des lames après 3h.

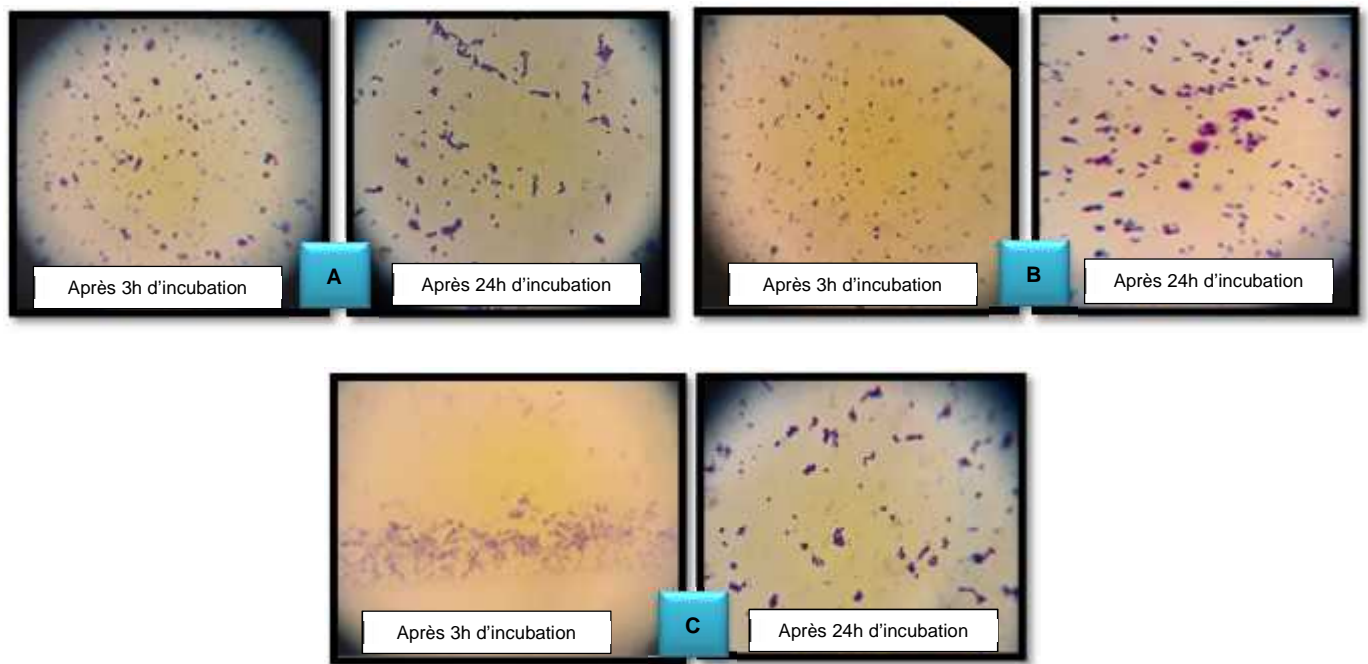


Figure 53 : Observation microscopique de production du slime bactérien par *Staphylococcus*. **A** : *Staphylococcus xylosus*. **B** : *Staphylococcus* spp. **C** : *Staphylococcus epidermidis*.

Staphylococcus xylosus et *Staphylococcus* spp sont fortement adhésives sur verre après 24h (présence de cellule bactérienne) par contre après 3h ne sont pas adhésives on voit que les taches du colorant par contre *Staphylococcus epidermidis* est fortement adhésive sur verre après 3h et 24h (présence de cellule bactérienne) (Figure 53).

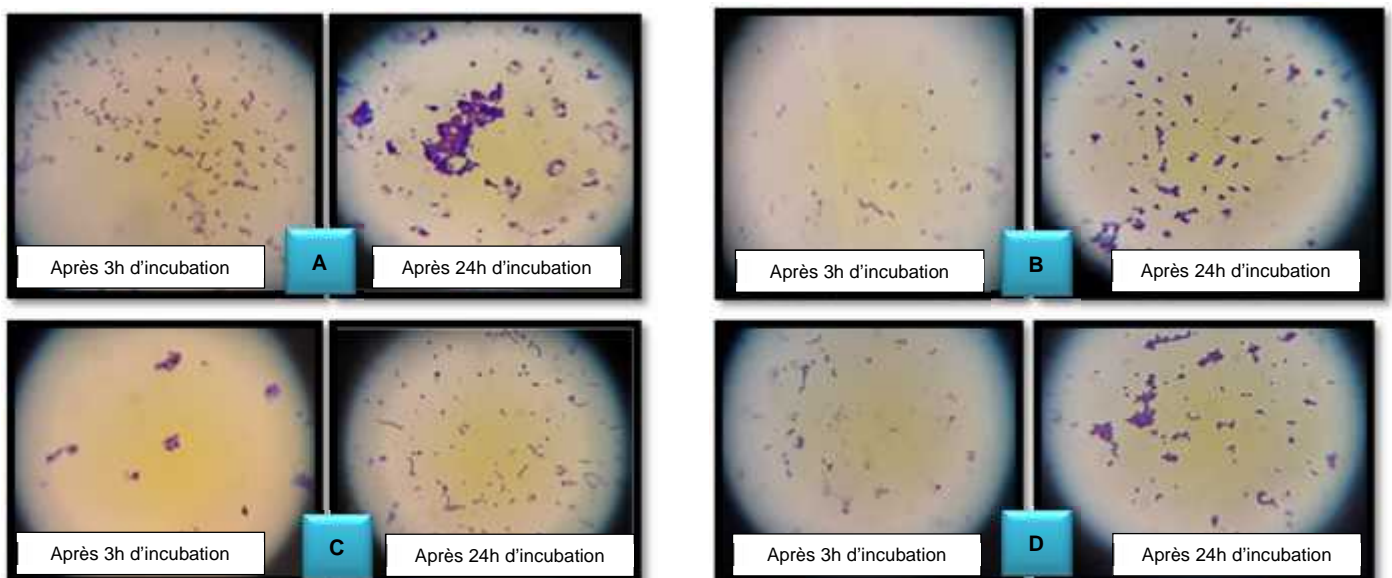


Figure 54 : Observation microscopique de production du slime bactérien par les Cocci Gram +. **A** : *Enterococcus faecalis*, **B** : *Enterococcus faecium*, **C** : *Micrococcus kristiniae*, **D** : *Lactococcus lactis*.

Enterococcus faecium, *Enterococcus faecalis*, *Lactococcus lactis*, *Micrococcus kristinae* sont fortement adhésives sur verre après 24h par rapport à la lame de 3h d'incubation ou l'adhésion est modérée (Figure 54).

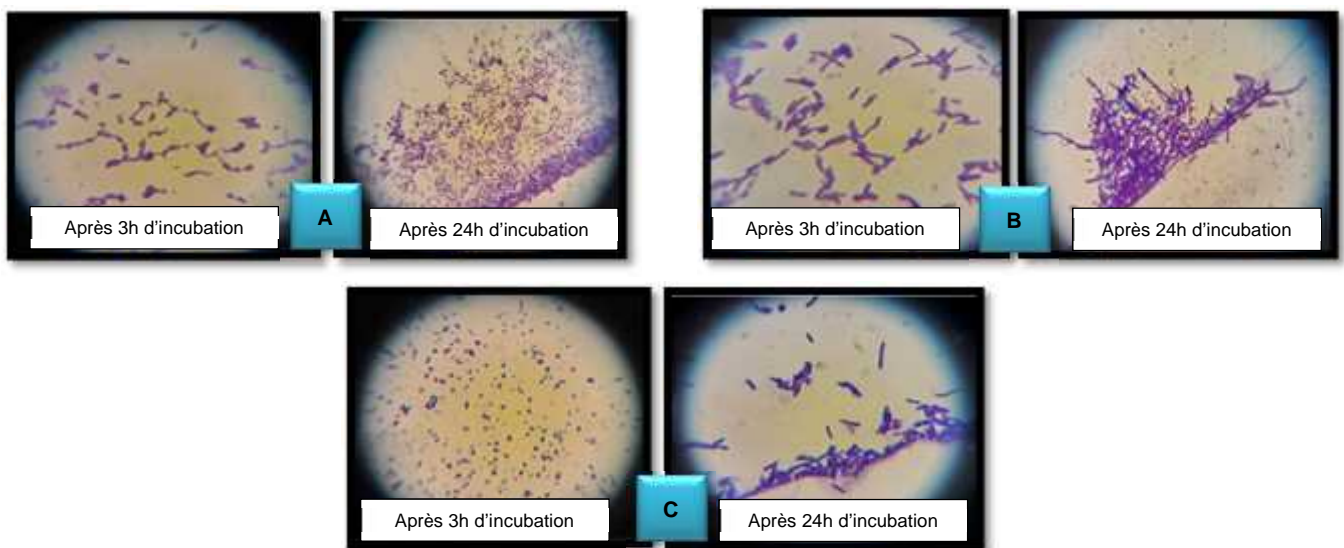


Figure 55 : Observation microscopique de production du slime bactérien par les Bacilles Gram +. **A** : *Lactobacillus paracasei* spp. **B** : *Lactobacillus salivarius*. **C** : *Bacillus cereus*.

Lactobacillus salivarius est fortement adhésive sur verre après 3h et 24h (présence de cellule bactérienne) par contre *Lactococcus paracasei* spp. est fortement adhésive sur verre seulement après 24h par rapport à la lame de 3h d'incubation, son adhésion est modérée. *Bacillus cereus* est fortement adhésive sur verre après 24h (présence de cellule bactérienne) par contre après 3h elle est non adhésive on voit que les taches du colorant (Figure 55).

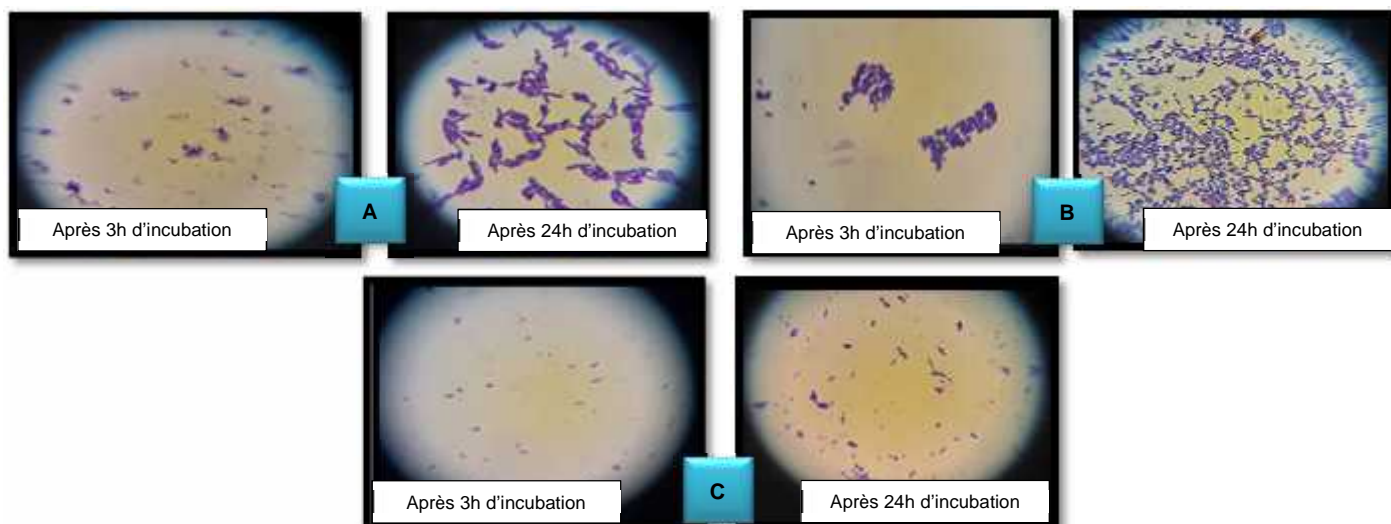


Figure 56 : Observation microscopique de production du slime bactérien les Bacilles Gram -. **A** : *Enterobacter sakazaki*, **B** : *Pontoea* spp, **C** : *Citrobacter freundii*.

Citrobacter freundii, *Pantoea spp.*, *Enterobacter sakazaki* sont tous trois fortement adhésives sur verre après 24h par rapport à la lame de 3h d'incubation ou l'adhésion est modérée (Figure 56).

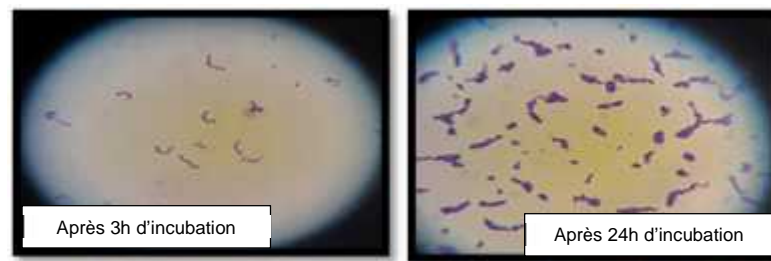


Figure 57 : Observation microscopique de production du slime bactérien par *Streptococcus mutans*.

Streptococcus mutans est fortement adhésive sur verre après 24h par rapport à la lame de 3h d'incubation, son adhésion est modérée (Figure 57).

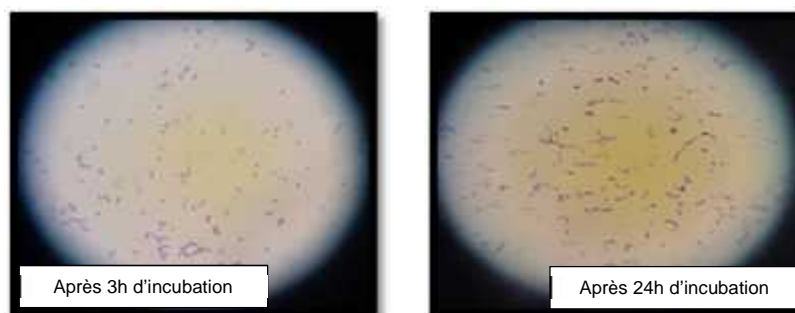


Figure 58 : Observation microscopique de production du slime bactérien par *Candida albicans*.

Candida albicans est fortement adhésif sur verre après 3h et 24h (présence de cellule bactérienne) (Figure 58).

V. Résultats de sensibilité et de résistance bactérienne

L'évaluation des résultats du test de la résistance et la sensibilité des bactéries qui constituent le biofilm dentaire, ont été interprétés en fonction du diamètre de la zone d'inhibition, celle-ci est toujours comparée au diamètre critique bas et le diamètre critique haut.

Les résultats ont démontré que le biofilm dentaire contenant, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus spp* et *Staphylococcus epidermidis* ont une même résistance à la pénicilline et l'oxacilline et même la sensibilité à la vancomycine, tétracycline et la rifampicine.

Les résultats de *Streptococcus mutans* ont révélé une forte sensibilité à tous les antibiotiques testés. Pour *Enterococcus faecalis*, ces résultats ont dévoilé également une forte sensibilité à tous les antibiotiques testés qui sont ; C, CIP, AMP, DA, AML.

Enterococcus faecium et *Aerococcus viridans* ont présenté presque le même profil de résistance aux antibiotiques testés, elles sont fortement sensible à : P, AMP et CIP, et ont une sensibilité à la ciprofloxacine. Quant à *Bacillus cereus* elle présente une grande résistance à AMX, PB, OX, et une sensibilité à la vancomycine ainsi qu'à la pénicilline, comme *Bacillus cereus Staphylococcus hominis* est sensible à la vancomycine et résistante à l'oxacilline et la pénicilline, mais elle est également sensible à FA et RA.

Lactobacillus salivarius et *Pantoea* spp ont présenté presque le même profil de sensibilité aux antibiotiques testés, elles sont fortement sensible à : OFX, SXT et CIP, et ont une résistance à la pénicilline. *Lactococcus brevis* a présenté une sensibilité vis-à-vis de CIP, et une résistance à P, OX, PB, AML, pour sa part *Lactococcus lactis* a été résistante à tous les antibiotiques testés ; P, AMP, VA, OX, CAZ. Le test de sensibilité aux antibiotiques de *Lactococcus lactis* à montrer sa résistance à la Vancomycine et l'oxacilline conformément aux résultats de l'antibiogramme du *Lactococcus* établi dans une autre étude (Mofredj et al., 2006).

Candida albicans a été sensible à CIP, VA et FA, et résistante à PB et OX. Quant à *Micrococcus kristinae* a été résistante à OX, FA, PB et sensible à SXT et VA. Ces résultats ont également prouvé que *Enterobacter sakazaki* était sensible à de nombreux antibiotiques ; OFX, CIP, AMP, AK. Et résistante uniquement au chloramphénicol.

Par contre *Citobacter freundii* et *Lactobacillus paracasei* spp semblent résistantes à pratiquement tous les antibiotiques testés ; OFX, SXT, C, AML, AMP, VA, OX, PB, DA. Et présente une sensibilité à ciprofloxacine. Cependant on remarque que toutes les bactéries étudiées ont présenté une résistance à l'oxacilline et la quasi-totalité de ces souches sont sensibles à CIP.

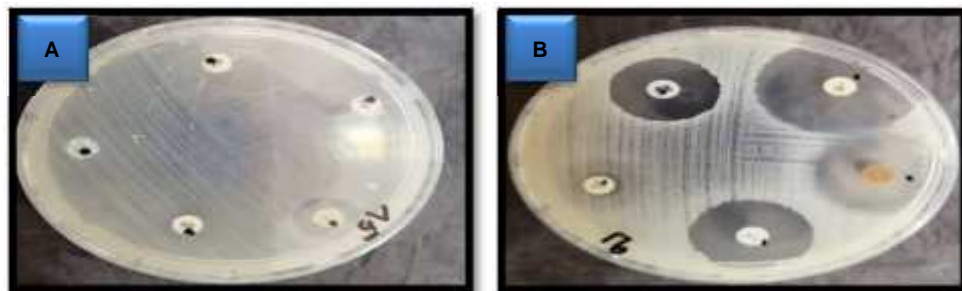


Figure 59 : Observation de résultat de sensibilité et de résistance bactérienne après l'antibiogramme. **A** : *Aerococcus viridans* ; Présentant une forte résistance, **B** : *Staphylococcus xylosus*, présentant une forte sensibilité.

Tableau 08 : Résultats de l'antibiogramme des souches de la plaque dentaire

Souche	OFX	SXT	C	CIP	P	AMP	VA	OX	TE	FA	PB	AK	DA	CAZ	AML	RA
<i>Citrobacter freundii</i>	R	R	R	S	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	R	*
<i>Staphylococcus xylosum</i>	*	*	*	*	R	*	S	R	S	*	*	*	*	*	*	S
<i>Staphylococcus spp</i>	*	*	*	*	R	*	S	R	S	*	*	*	*	*	*	S
<i>Bacillus cereus</i>	*	*	*	*	S	R	S	R	*	*	R	*	*	*	*	*
<i>Lactobacillus salivarius</i>	S	S	*	S	R	R	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	*	*	*	*	*	*	S	R	*	S	R	*	R	*	*	*
<i>Enterobacter sakazaki</i>	S	*	R	S	*	S	*	*	*	*	*	S	*	*	*	*
<i>Lactobacillus paracasei</i>	R	*	*	*	S	R	R	R	*	*	R	*	R	*	R	*
<i>Pontoea spp</i>	S	S	R	S	R	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Streptococcus mutans</i>	*	R	*	R	*	R	*	*	*	*	*	*	R	*	R	*
<i>Enterococcus faecalis</i>	*	*	R	R	*	R	R	*	*	*	*	*	*	R	*	*
<i>Lactococcus lactis</i>	*	*	*	*	R	R	R	R	*	*	*	*	*	R	*	*
<i>Micrococcus kristinae</i>	*	S	*	*	*	*	S	R	*	R	R	*	*	*	*	*
<i>Enterococcus faecium</i>	*	R	*	S	R	R	*	*	*	*	*	*	*	*	R	*
<i>Aerococcus viridans</i>	*	S	*	S	R	R	R	R	*	R	R	*	*	*	R	*
<i>Lactobacillus brevis</i>	*	*	*	S	R	*	*	R	*	*	R	*	*	*	R	*
<i>Candida albicans</i>	*	*	*	S	*	*	S	R	*	S	R	*	*	*	*	*
<i>Staphylococcus hominis</i>	*	*	*	*	R	*	S	R	S	*	*	*	*	*	*	S

Légende : * : non déterminé, R : résistance, S : sensibilité

VI. Détermination de l'effet d'HE de lavande sur les souches de la plaque dentaire.

Selon l'OMS la CMI est la concentration minimale d'une substance antiseptique capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une souche appréciable à l'œil nu après une période d'incubation (Euzeby et al., 2006).

Le tableau montre l'effet de l'huile essentielle de lavande sur l'ensemble des souches étudiées de la plaque dentaire. 90% des cocci présentent une sensibilité à cette huile essentielle de lavande avec une CMI égal 640 μ l sauf les *Staphylococcus epidermidis* présentent une CMI=1280 μ l, cependant les *Streptococcus mutans* et les *Micrococcus kristinae* se sont montrés plus résistants que les autres souches, elles ont poussées dans pratiquement toutes les concentrations.

Selon la charge microbienne présente dans les boîtes de pétri des souches suivantes à différentes concentrations : *Citrobacter freundii*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus brevis*, on a constaté que 60% des bacilles présentent une résistance à l'huile essentielle de lavande. En effet, *Enterobacter sakazaki*, *Pantoea* spp s'inhibent à une concentration minimale égale 640 μ l et *Lactobacillus paracasei* spp sensible à la CMI=1280 μ l.

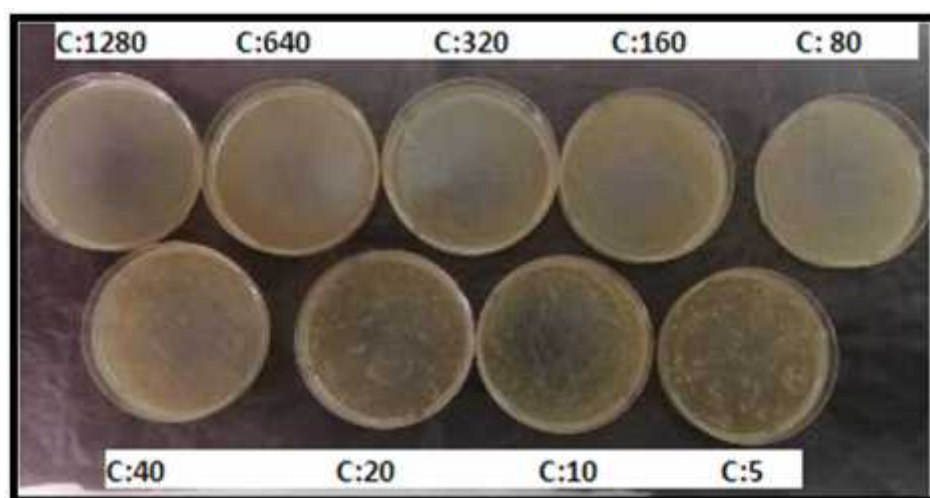


Figure 60 : les résultats de l'étude du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de lavande sur les *staphylococcus epidermidis* (C : la concentration en μ l).

Tableau 09 : L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de lavande sur les isolats de la plaque dentaire

Souche	C=1280	C=640	C=320	C=160	C=80	C=40	C=20	C=10	C=5
<i>Citrobacter freundii</i>	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Staphylococcus xylosum</i>	-	CMI	*	*	*	*	*	*	*
<i>Staphylococcus spp</i>	-	CMI	*	*	*	*	*	*	*
<i>Bacillus cereus</i>	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Lactobacillus salivarius</i>	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	CMI	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Enterobacter sakazaki</i>	-	CMI	*	*	*	*	*	*	*
<i>Lactobacillus paracasei</i>	CMI	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Pontoea spp</i>	*	CMI	*	*	*	*	*	*	*
<i>Streptococcus mutans</i>	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	CMI	*	*	*	*	*	*	*
<i>Lactococcus lactis</i>	-	CMI	*	*	*	*	*	*	*
<i>Micrococcus kristinae</i>	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Enterococcus faecium</i>	-	CMI	*	*	*	*	*	*	*
<i>Aerococcus viridans</i>	-	CMI	*	*	*	*	*	*	*
<i>Lactobacillus brevis</i>	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Candida albicans</i>	CMI	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Staphylococcus hominis</i>	*	CMI	*	*	*	*	*	*	*

Légende :* : Présence d'une charge microbienne, - : Absence d'une charge microbienne, CMI : Concentration minimale inhibitrice, C : Concentration

Conclusion

Conclusion

La flore buccodentaire se développe en harmonie avec l'hôte. Elle s'oppose à la persistance ou au développement de germes pathogènes et se caractérise par une constante stabilité dans sa composition pour un site donné. Au niveau de la flore colonisant les surfaces dentaires, cet état d'équilibre et de stabilité, décrit sous le terme d'homéostasie microbienne, dépend fortement des interactions bactéries-bactéries, d'une part, et des interactions bactéries-hôte d'autre part. La rupture de cet équilibre est à l'origine de la maladie et plus particulièrement des caries dentaires et des maladies parodontales.

Par notre étude nous avons constaté que la plaque et le tartre sont les principaux responsables des maladies buccodentaires chez les patients cible d'un nombre de six. Le questionnaire avait pour but d'évaluer l'impact des paramètres du questionnaire (l'âge et le sexe, le motif de consultation et la présence d'une mauvaise haleine ou non et les pratiques d'hygiène). Les données du questionnaire ont révélé que la prévalence de la carie dentaire est importante chez les hommes spécifiquement chez la tranche d'âge jeune par rapport aux femmes qui détartrent leurs dents, ces données statistiques ont également montré qu'un bon état de santé bucco-dentaire est significativement associé à une bonne pratiques d'hygiènes afin d'éviter la mauvaise haleine.

Les prélèvements de tartre ainsi que de carie dentaire de différents patients, nous ont permis d'isoler et d'identifier par galerie classique les principaux genres suivants ; *Streptococcus*, *Candida*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Aerococcus*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Pantoea*, démontrent la diversité bactérienne présente dans la cavité buccale. L'identification par le système Api, nous a permis de conclure que les espèces : *Staphylococcus* spp, *staphylococcus xylosus*, *staphylococcus epidermidis*, *staphylococcus hominis*, *citrobacter freundii*, *candida albicans*, *Aerococcus viridans*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Pantoea* spp, *Enterobacter sakazaki*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus paracasei* spp, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecium*, *Micrococcus kristinae* sont incriminées dans le développement de caries dentaire et l'installation de la plaque.

Nous avons également constaté à travers notre étude que le biofilm dentaire est aisément formé par 15 des bactéries isolées à partir de la cavité buccale, contre 3 souches qui ont été non formatrice de slime bactériens. Leurs potentiels d'adhésion à différents supports en fonction du temps ont été confirmés. Les résultats de l'antibiogramme ont permis de constater et d'évaluer la résistance et la sensibilité aux antibiotiques de chaque bactérie isolée, cependant une forte résistance à l'oxacilline, l'amoxicilline, la polymexine B et l'ampicilline a été observée et une sensibilité considérable à la ciprofloxacine et la tétracycline.

D'après l'étude du pouvoir antimicrobien, nous pouvons affirmer que l'huile essentielle de *Lavandula dentata* L., une espèce aromatique spontanée et endémique en Algérie, est active à certaines concentrations sur les souches de la plaque dentaire, avec des concentrations minimales inhibitrices situées entre 1280 µl et 640 µl.

Enfin, nous espérons que cette étude, sera intéressante dans le but d'approfondir les recherches sur les pathologies buccodentaires et de sensibiliser les gens sur l'importance d'une hygiène dentaire afin d'assurer une bonne santé bucco-dentaire, et surtout sur l'intérêt porté vis-à-vis des plantes médicinales ainsi que l'importance des huiles essentielles qui peuvent aider à lutter contre les maladies parodontales et de les introduire dans l'industrie pharmaceutique.

Références bibliographiques

Références bibliographique

AH. 2016. Antibacterial Activity of *Salvadora persica* L. (Miswak) Extracts against Multidrug Resistant Bacterial Clinical Isolates. *EvidBased Complement Altern Med ECAM*.

Al-Ahmad A., Ameen H., Pelz K., Karygianni L., Wittmer A., Anderson A.C., Spitzmuller B. et Hellwig E., 2014. Antibiotic Resistance and Capacity for Biofilm Formation of Different Bacteria Isolated from Endodontic Infections Associated with Root-filled Teeth. *J Endod.*, 40: 223–230.

Almas AK, Almas K. 2013. Miswak (*Salvadora Persica* Chewing Stick) And Its Role In Oral Health; An Update. *J Pak Dent Assoc* 2013.

Amir Jalal Abbasi, Farnoush Mohammadi, Mohamad Bayat, Shimelis Megersa Gema, Hannaneh Ghadirian, Hasti Seifi, Hananeh Bayat and Naghmeh Bahram. 2018. Applications of Propolis in Dentistry: A review. *Ethiop J Health*.

Bhat N, Bapat S, Asawa K, Tak M, Chaturvedi P, Gupta VV, et al., 2015. The antiplaque efficacy of propolis-based herbal toothpaste: A crossover clinical study. *J Nat Sci Biol Med*.

Baudoux D. 2008. *Guide Pratique d’Aromatherapie familiale et scientifique*. Paris :Amyris.

Candids Patrice A.R. et Leslie Michelle M.D., 2012. Bacterial Diversity in the Saliva and Plaque of Caries-free and Caries-active Filipino Adults. *Philippine Journal of Science*, 141 (2): 217-227.

Caufield P.W., Cutter G.R. et Dasanayake A.P., 1993. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J. Dent. Res.* , 72(1): 37-45.

D. Lebeaux, J. Ghigo, 2012. Infections associées aux biofilms, Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale ; 28 : 727-39.

Dodwad V, Kukreja BJ. 2011. Propolis mouthwash: A new beginning. *J Indian Soc Periodontol*.

Dersot, J.-M. 2013. How to recognize the eight signs of periodontitis? *International Orthodontics*, 11(2), 166–176.

E., Milewska R., Marczuk-Kolada G. et Stokowska W., 2006. Bacterial composition in the supragingival plaques of children with and without dental caries. *Adv Med Sci.*,51(1):182-6.

E. Varoni, M. Tarce, G. Lodi, A. Carrassi. 2012. Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art. *Review Minerva Stomatol*.

El-Latif Hesham A, Alrumman SA. 2016. Antibacterial activity of Miswak *Salvadora persica* extracts against isolated and genetically identified oral cavity pathogens. *Technol Health Care Off J Eur Soc Eng Med*.

EUCAST, 2018.

Euzeby. J.P. 2006. Bouihdid S, Idaomar M, Zhiri A, BAUDOUX D, Skali N.S, Abrini J. *Dictionnaire de bactériologie vétérinaire*

F. Simain, E. Rompen , E. Heinen. 2010. «biofilms bactériens et médecine dentaire.» s.d. Rev Med Liège.

Fonseca,b Ana R Sokolonski,b Kathleen R Deegan,c Roberto PC Araújo,b Marcelo A Umsza-Guez,d Josiane DV Barbosa,e Ricardo D Portelaa* and Bruna AS Machadoe. 2019. Propolis : types, composition, biological activities, and veterinary productpatent prospecting Laerte M Santos,a Maísa S.

L. M., Fonseca, M. S., Sokolonski, A. R., Deegan, K. R., Araújo, R. P. C., Umsza-Guez, M. A., ... Machado, B. A. S. 2019. Propolis: Types, composition, biological activities and veterinary product patent prospecting. Journal of the Science of Food and Agriculture.

Fuller, J. L., & Johnson, W. W. 1977. Citric acid consumption and the human dentition. The Journal of the American Dental Association, 95(1), 80–84.

G. Tortora, B. R. Funke, C. L. Case. 2012. Introduction à la microbiologie, 2eme édition, ERPI 2012.

H. Chardin, O. Barsotti, M. Bonnaure-Mallet. 2006. Microbiologie en odonto-stomatologie, édition Maloine.

Holland, G. R., Abbott, P. V., & Roda, R. S. Levin, L. G., Law, A. S. 2009. Identify and Define All Diagnostic Terms for Pulpal Health and Disease States. Journal of Endodontics, 35(12), 1645–1657.

Hojo, K., Nagaoka, S., Ohshima, T., & Maeda, N. 2009. Bacterial Interactions in Dental Biofilm Development. Journal of Dental Research, 88(11), 982–990.

Houle, M. , & Grenier, D. 2003. Maladies parodontales : connaissances actuelles. Médecine et Maladies Infectieuses, 33(7), 331–340.

I. Calas-Bennasar, P. Bousquet, O. Jame, V. Orti, P. Gibert. 2005. Examen clinique des parodontites. Elsevier SAS. 23-442.

J. Freney, F. Renaud, R.Leclecrq R, P. Riegel. 2007. Précis de Bactériologie Clinique (2eme édition).ESKA.

J.C. Kaqueler, O. Le may. 1998. Anatomie pathologies bucco-dentaire. MASSON.

Jack Charon, Christian Mouton. 2003. Parodontie médicale. Editions CdP.

Jane Manakil, 2012. «Periodontal deseases a clinician’s guide.». Intechopen.

Jefferson, K. K. 2004. What drives bacteria to produce a biofilm. I Microbiology Letters. 236:163-173.

Jose A, Butler A, Payne D, Maclure R, Rimmer P, Bosma ML. 2015. A randomised clinical study to evaluate the efficacy of alcohol-free or alcohol-containing mouthrinses with chlorhexidine on gingival bleeding. Br Dent J. août 2015;219(3):125-30.

Kang M.S., Oh J.S., Lee H.C., Lim H.S., Lee S.W., Yang K.H., Choi N.K., Kim S.M., 2011. Inhibitory effect of Lactobacillus reuterion periodontopathic and cariogenic bacteria.J. Microbiol., 49: 193–199

- Kolenbrander, P. E., Andersen, R. N., Blehert, D. S., Eglund, P. G., Foster, J. S., & Palmer, R. J. 2002.** Communication among Oral Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(3), 486–505.
- Kolenbrander P.E., Palmer R.J. Jr., Rickard A.H., Jakubovics N.S., Chalmers N.I., Diaz P.I., 2006.** Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontol* 42: 47–79.
- L. Bousmaha, J. B. Boti, F. Atik Bekkara, V. 2006.** Castola and J. Casanova. Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Lavandula dentata* L. from Algeria. *Flavour Fragr. J.* 2006; 21: 368–372.
- L. Pierrard. 2015.** *Étiopathogénie des maladies parodontales.* Elsevier Masson SAS.
- Mahejabeen R., Sudha P., Kulkarni S.S. et Anegundi R., 2006.** Dental caries prevalence among preschool children of Hubli: Dharwad city. *J Indian Soc Pedod Prev Dent .*, 24:19-22.
- Marsh, P. D. 2000.** Role of the Oral Microflora in Health. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 12(3), 130–137.
- Marsh P.D., 2003.** Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology.*,149:279–294.
- Marsh, P. D. 2004.** Dental Plaque as a Microbial Biofilm. *Caries Research*, 38(3), 204–211.
- Marsh P.D., 2006.** Dental plaque as a biofilm and a microbial community - implications for health and disease. *BMC Oral Health.*, 6(1): S14
- Marsh, P. D. 2009.** Dental plaque as a biofilm: the significance of pH in health and caries.
- Michel goldberg, Etienne Piette, 2001.** *La dent normale et pathologique,* Edition de boeck.
- Mitchell T.J., 2003.** The pathogenesis of streptococcal infections: from tooth decay to meningitis. *Nat. Rev. Microbiol.*, 1(3): 219-230.
- Mofredj A., Bahloul H. et Chanut C., 2007.** *Lactococcus lactis: an opportunistic bacterium.* *Med. Mal. Infect.*, 37 (4) : 200-207.
- Muller M., Lupi L., Medioni E. et Bolla M., 1997.** *Epidemiologie de la carie dentaire* Encyclopédie Médico-Chirurgicale (Elsevier, Paris), Odontologie, 23-010-A-20, 8 p.
- Naseem S, Hashmi K, Fasih F, Sharafat S, Khanani R. 2014.** In vitro evaluation of antimicrobial effect of miswak against common oral pathogens. *Pak J Med.*
- Ohara-Nemoto Y., Haraga H., Kimura S. et Nemoto T.K., 2008.** Occurrence of staphylococci in the oral cavities of healthy adults and nasal oral trafficking of the bacteria. *J Med Microbiol.*, 57 (1) : 95–99.
- Øilo M., Bakken V., 2015.** Biofilm and Dental Biomaterials. *Materials*, 8(6), 2887–2900.
- OMS, 2018** Santé bucco-dentaire [Internet]. WHO. Disponible sur: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/fr/>
- O’Toole, G., Kaplan, H. B., & Kolter, R. 2000).** Biofilm Formation as Microbial Development. *Annual Review of Microbiology*, 54(1), 49–79.

- P. Kugler, 2014.** Anatomie – Physiologie – Pathologie di corps humain. Maloine.
- P., Bouchard.2015.** Parodontologie & dentisterie implantaire, Volume 1 : médecine parodontale. Lavoisier.
- Petrova, O. E., & Sauer, K. 2016).** Escaping the biofilm in more than one way: desorption, detachment or dispersion. *Current Opinion in Microbiology*, 30, 67–78.
- Pratibha P.K., Bhat K.M. et Bhat G.S., 2006.** Oral Malodor: A Review of the Literature. Source: *Journal of Dental Hygiene*, 80(3).
- Regnault, J., 2002.** Élément de microbiologie et d'immunologie, Decarie Editeur Inc.
- Ricketts, D., Innes, N., & Schwendicke, F. 2018.** Selective Removal of Carious Tissue. *Monographs in Oral Science*, 82–91.
- Eglė Slabšinskienė, Ingrida Vasiliauskienė ; *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal*, 17: 107-12, 2015.
- Roberts-Harry, E. A., Clerehugh, V., Shore, R. C., Kirkham, J., & Robinson, C. 2000.** Morphology and Elemental Composition of Subgingival Calculus in Two Ethnic Groups. *Journal of Periodontology*, 71(9), 1401–1411.
- Rozkiewicz D., Daniluk T., Zaremba M.L., Cylwik-Rokicka D., Luczaj-Cepowicz**
- Rūta Grigaluskienė, Eglė Slabšinskienė, Ingrida Vasiliauskienė 2015.** Biological approach of dental caries management ; *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal*, 17: 107-12, 2015.
- Secci G., 2006.** Manuel d'hygiène bucco-dentaire, Destiné à la formation de prophylaxistes, SDI 2006/ 2007, Ed. n°1.
- Shang X.H, LI D.L., Huang Y., Chen H. et Sun R.P. , 2008.** Prevalence of dental caries among preschool children in Shanghe County of Shandong Province and relevant prevention and treatment strategies *Chin Med J .*, 121(22):2246- 2249.
- Shirzaiy M, Sarani Z, Bagheri S. 2016.** Miswak/Derum Manipulation, a Common Habit in Baluchestan, Iran. *Int J High Risk Behav Addict*.
- Sixou, M., Diouf, A., Alvares, D. 2007.** Biofilm buccal et pathologies buccodentaires. *Antibiotiques*, 9(3), 181–188.
- Socransky, S.S, Haffakee, A.D. 2002.** Dental biofilms : difficult therapeutic targets. *Periodontology 2000*, 28(1), 12–55.
- Sofrata A, Santangelo EM, Azeem M, Borg-Karlson A-K, Gustafsson A, Pütsep K. Benzyl isothiocyanate. 2011.** a major component from the roots of *Salvadora persica* is highly active against Gramnegative bacteria. *PloS One*.
- Takahashi N., 2005.** Microbial ecosystem in the oral cavity: Metabolic diversity in an ecological niche and its relationship with oral diseases, /*International Congress Series 1284 (2005) 103–112.*

Tanner A. C. R., Mathney J. M. J., Kent R. L. , Chalmers N. I., Hughes C. V., Loo C. Y., Pradhan N., Kanasi E., Hwang J., Dahlan M. A., Papadopolou E. et Dewhirst F. E.,2011. Cultivable Anaerobic Microbiota of Severe Early Childhood Caries. *J. Clin.*

Microbiol., 49(4) : 1464-1474

Tanzer J.M., Livingston J, et Thompson A., 2001. The Microbiology of Primary Dental Caries in Humans. *Journal of Dental Education*, 65(10): 1028-1038.

Trisha, E. 2011. How Subgingival Plaque Biofilm Gets Started, O’Hehir, RDH, MS, Hygiene town Editorial Director.

Vacher C., Maladiere E, 2008. « Examen clinique en stomatologie ». EMC – Médecine Buccale. p. 1-9 [Article 28-230-P10].

Varma S. 2018. Meswak teatree oil. *J Int Soc Prev Community Dent.*

Vieira A.R., Marazita M.L. et Goldstein-McHenry T., 2008. Genome-wide scan finds suggestive caries loci, *Journal of Dental Research*, 87(5) : 435–439, 2008.

Y. Filaretova,2020. Effects of Cinnamon (Cinnamomum spp.) in Dentistry.

Ziebuhr W., Lobner I., Krimmer V. et Hacker J., 2001. Methods to detect and analyse phenotypic variation in biofilm-forming. *Methods in Enzymology*, 336: 195-203.

Ziouani S., Klouche Khelil N., Ben-yelles I., Hoceini A., Aissaoui N., Nas F. et Ghellai L., 2015. Oral microflora of supragingival and subgingival biofilms in Algerian healthy adults. *African Journal of Microbiology Research*, 9(23): 1548-1557

Annexe

Annexe 1 : Questionnaire

Prélèvement N° :

Nom et prénom :

Date :

Sexe : Homme Femme

Age :

Motif de consultation :.....

Fréquence de brossage des dents :.....

Type de prélèvement :.....

Signature du patient

Annexe 2 : Préparation des milieux de culture et Réactifs de coloration

1. Milieu de culture

Gélose au sang :

Gélose columbia

Sang humain 50 ml

Milieu Rouge Congo Agar :

Rouge congo0,8 g

Saccharose36 g

Agar10 g

BHIB37 g

Eau distillé1000 ml

PH=7,4

Préparation : 83,8g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20min.

TSI :

Extrait autolytique de levure3,0 g

Extrait de viande3,0 g

Peptone20,0 g

Chlorure de sodium5,0 g

Lactose10,0 g

Saccharose10,0 g

Glucose1,0 g

Thiosulfate de sodium0,3 g

Citrate de fer (III)0,3 g

Rouge de phénol 24,0 mg

pH : 7,4

Meduim 50CHL :

Polypeptone.....	2,0 g
Extrait de levure.....	5,0 g
Tween 80.....	1 ml
Phosphate dipotassique.....	2,0 g
Acétate de sodium.....	5,0 g
Citrate diamonique.....	2,0 g
Sulfate de magnésium.....	0,20 g
Sulfate de maganèse.....	0,50 g
Pourpre de bromocrésole.....	0,17 g
Eau déminéralisée.....	1000ml
pH : 6,7-7,1	

2. Réactifs de coloration

Violet de gentiane :

Violet de gentiane	1 ,0 g
Phénol	2,0 g
Ethanol à 90°	10 ml
Eau distillée	100 ml

Fushine :

Fuschine basique	1 ,0 g
Phénol	5,0 g
Ethanol à 90°	10 ml
Eau distillée	100 ml

Vert de malachite :

Vert de malachite.....	0,5 g
Eau distillée.....	1000 ml

Cristal Violet :

Cristal violet1 ,0 g

Phénol2,0 g

Ethanol à 90°10 ml

Eau distillée100 ml