

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 DE BIOLOGIE

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 :

Étude des caractéristiques de quelques bactéries isolées d'unités dentaires

Présenté par : Melle **Benkaddour Ebtissem**

Melle **OUSSOUAS IKRAM**

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

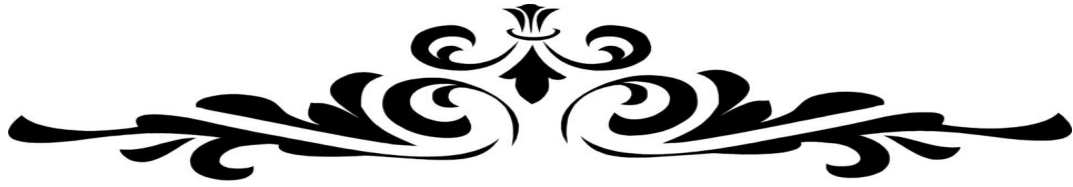
Présidente de jury : **Mme** Bousmaha Marroki leila (M.C.A/ UDL/SBA)

Examineur : **Mr** Marroki Ahmed (M.C.A/ UDL/SBA)

Promoteur : **Mme** Kara Terki Ibtissem (M.C.B/ UDL/SBA)

Année universitaire 2019 - 2020

Session : « Septembre »



Remerciements

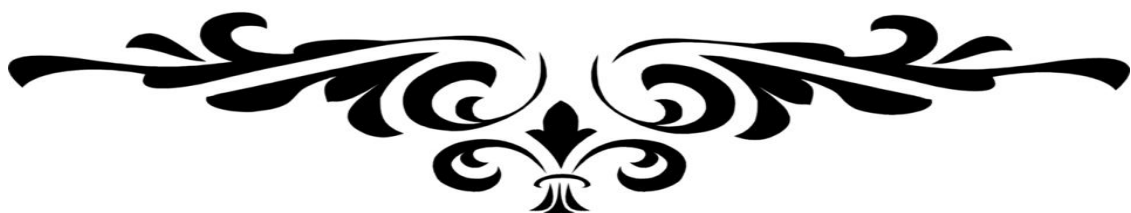
Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage, et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

En premier lieu, nous remercions notre Encadreur Dr Kara Terki Ibtissem pour nous avoir proposé ce thème et pour son encadrement. Sa grande connaissance dans le domaine, ainsi que son expérience, ont joué un rôle important dans la conception de ce travail.

Nos remerciements et nos respects vont également aux membres du jury qui nous ont fait l'honneur d'accepter de juger notre travail.

Nous adressons aussi nos sincères reconnaissances à tous les enseignants du département de biologie de la faculté SNV-UDL- SBA qui nous ont donnés beaucoup de connaissance.

Enfin, pour tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, puissent trouver ici, toute notre reconnaissance.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*À la mémoire de mon père pour toi qui n'a pas vu
l'aboutissement de mon travail, mais je sais que tu en
aurais été très fier de ta fille **PAPA**.*

*À la bougie de ma vie, la fleur de mes jours **ma chère
mère**, Merci pour tes conseils, tes sacrifices, ton soutien
et tes encouragements.*

À mes frères.

À toute ma famille : Benkaddour & Bendjennat.

*À tous mes amis, qui m'ont soutenu pour
l'aboutissement de ce mémoire.*

*À tous mes professeurs et à tous ceux qui se sont
engagés dans ce modeste travail.*

IBTISSEM

*D*édicace

Je remercie tout d'abord Dieu de m'avoir accordé des connaissances de la science et de m'avoir aidé à réaliser ce travail.

A la bougie de ma vie, la fleur de mes jours, A ma chère maman qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau. Ses sacrifices et privations ne l'ont pas empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ses enfants.

A mon père qui a sacrifié sa vie pour notre instruction.

A mon chers frères : Mohammed.

A ma chères sœurs : kheira.

A mes oncles et mes tantes, Cousins et cousines.

A tout mes amis

A toute ma grande famille : oussouas et benchohra

Mon cher binôme et mon proche ami : ibtissem.

Ikram

Résumé

L'unité de soin dentaire est un élément essentiel à la pratique de chirurgie dentaire toutefois son utilisation présente un risque infectieux non négligeable qui peut être compliquée par la formation de biofilm qui constituent une source continue d'infections associées aux soins.

L'objectif de ce travail est d'étudier les caractéristiques des bactéries isolées des unités dentaires, pour cela un isolement et une identification des bactéries a été réalisé à partir des instruments de fauteuil dentaire (turbines, pièces à main, contre-angles), afin de connaître les principaux genres bactériens présents dans ces instruments de déterminer leurs capacités à former un biofilm et leur profil d'antibiorésistance,

Nous avons espéré terminer notre travail entamé dans ce mémoire qui était très important (partie pratique), mais les conditions de santé actuelles « pandémie covid-19 » nous avons empêché d'approfondir notre étude.

Cependant, les résultats de la plupart des travaux effectués ont montré la présence des souches bactériennes essentiellement les *staphylocoques* à coagulase négatif suivi des souches d'origine hydrique tels que *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, et les *Mycobactéries atypiques*. Il existe plusieurs stratégies préventives pour éviter l'infection et la colonisation des bactéries, parmi lesquelles désinfecter les instruments d'unités de soins dentaire et l'administration de traitements d'antibiotiques en fonction des germes responsables.

Mots clés : Unités de soins dentaires, Biofilm, Bactéries, Infection.

Abstract

The dental treatment unit is an essential part of the practice of dental surgery, however its use presents a significant risk of infection which can be complicated by the formation of biofilm which constitutes a continuous source of infections associated with treatment

The objective of this work is to study the characteristics of bacteria isolated from dental units, for this an isolation and identification of bacteria was carried out using dental chair instruments (turbines, handpieces, contra-angles), in order to know the main bacterial genera present in these instruments to determine their ability to form a biofilm and their antibiotic resistance profile,

We had hoped to complete our work started in this thesis which was very important (practical part), but the current health conditions "pandemic covid-19" prevented us from deepening our study.

However, the results of most of the work performed showed the presence of bacterial strains mainly coagulase negative *staphylococci* followed by waterborne strains such as *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, and *Atypical Mycobacteria*. There are several preventive strategies to prevent infection and colonization of bacteria, including disinfecting dental unit instruments and administering antibiotic treatments depending on the germs responsible.

Keywords: Dental care units, Biofilm, Bacteria, Infection.

ملخص

تعتبر وحدة علاج الأسنان جزءًا أساسيًا من ممارسة جراحة الأسنان، إلا أن استخدامها يمثل خطرًا كبيرًا للإصابة بالعدوى والتي يمكن أن تتعدد بسبب تكوين الأغشية الحيوية التي تشكل مصدرًا مستمرًا للعدوى المرتبطة بالعلاج.

الهدف من هذا العمل هو دراسة خصائص البكتيريا المعزولة من وحدات طب الأسنان ، لذلك تم إجراء عزل وتحديد البكتيريا باستخدام أدوات كرسى الأسنان (التوربينات ، القبضات ، الزوايا المقابلة) ، من أجل معرفة الأجناس البكتيرية الرئيسية الموجودة في هذه الأدوات لتحديد قدرتها على تكوين غشاء حيوي ومقاومتها لمضادات الميكروبات .

كنا نأمل في إنهاء عملنا الذي بدأ في هذه الأطروحة التي كانت مهمة جدًا (جزء عملي) ، لكن الظروف الصحية الحالية "وباء كوفيد -19" حالت دون تعميق دراستنا.

ومع ذلك ، أظهرت نتائج معظم الأعمال التي تم إجراؤها وجود سلالات بكتيرية بشكل رئيسي المكورات العنقودية السلبية المخثرة تليها السلالات المنقولة بالماء مثل :

Pseudomonas aeruginosa و *Legionella pneumophila* و *Atypical Mycobacter*

هناك العديد من الاستراتيجيات الوقائية لمنع العدوى واستعمار البكتيريا ، بما في ذلك تطهير أدوات وحدة الأسنان وإدارة العلاجات بالمضادات الحيوية اعتمادًا على الجراثيم المسؤولة.

الكلمات المفتاحية: وحدات العناية بالأسنان ، البيوفيلم ، البكتيريا ، العدوى.

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviations

Introduction 1

Synthèse bibliographique

1. Unité de soins dentaire..... 2

1.1 Définition 2

2. Les sources de contamination de l'unit 3

2.1 Contamination externe 3

2.1.1 Les patients..... 3

2.1.2 La contamination par les dispositifs médicaux et le personnel..... 3

2.1.2 Contamination par L'air..... 4

2.2 Contamination interne 5

2.2.1 Les instruments..... 5

❖ Les instruments dynamiques 5

❖ Des porte-instruments dynamiques PID..... 6

2.2.2 Les conduites d'eau des unités dentaires (CEUD)..... 6

3. L'infection associées aux soins en unit dentaire..... 7

4. Les agents infectieux isolés en unit dentaire..... 8

4.1 Les microorganismes d'origine humaine	9
4.2 Les microorganismes d'origine environnementale.....	9
❖ Pseudomonas aeruginosa.....	10
❖ Mycobactéries atypiques (ou non-tuberculeuses).....	10
❖ Legionella pneumophila.....	11
4.3 La flore bactérienne.....	12
4.4 Fungi.....	12
4.5 Autres micro-organismes.....	12
❖ Amibe.....	12
❖ Virus.....	13
❖ Staphylocoques, principalement Staphylococcus Aureus.....	13
❖ Streptococcus Pyogène.....	14
5. Caractéristiques des bactéries isolées en unit dentaire.....	16
5.1 Biofilm.....	16
5.1 Définition	16
5.1.2 Formations des biofilms dentaires.....	16
5.1.3 Biofilm et tubulures d'eau des unités dentaires.....	17
5.1.4 Les caractéristiques favorables à la formation d'un biofilm.....	18
5.2 Résistance aux antibiotiques des bactéries isolées d'unit dentaire.....	20
5.2.1 Résistance des biofilms aux antibiotiques.....	20
5.2.2 Mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques.....	21
Partie pratique	
Matériels et méthode	
1. Lieu d'étude.....	22
2. Matériel utilisé.....	22
3. Prélèvements.....	23
4. Méthode d'analyse.....	23

4.1 Enrichissement.....	23
4.2 Isolement des bactéries.....	24
4.3 Purification.....	25
4.4 Identifications des souches purifiées.....	27
4.4.1 Tests préliminaires.....	27
a- Examen macroscopique des caractères cultureux.....	27
b- Examen microscopique a l'état frais.....	27
4.5 Test complémentaires	27
Test oxydase	27
Test catalase.....	28
Test de coagulase	28
4.6Analyse biochimique.....	29
4.6.1 La Galerie API 20 E.....	29
4.6.2Identification par galerie API®Staph.....	31
4.7Étude des caractéristiques des souches isolées.....	32
4.7.1Antibiogramme.....	32
4.8.2Détection de la formation du biofilm.....	33
4.8.2.1Méthode de plaque de culture detissus(TCP).....	33
4.8.2.2 La méthode du Rouge CongoAgar(RCA).....	35
Conclusion	36

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure 1: Représentation d'un unit de soins dentaire.....	2
Figure 2 : Expulsion des microorganismes à travers le détartreur ultrasonique.....	4
Figure 3: Quelques instruments au cabinet dentaire (courte-angle, turbine.....)	5
Figure 4 : Le développement de biofilm sur les surfaces internes des PID.....	6
Figure 5 : Coupe transversale d'une tubulure d'unité dentaire démontrant la présence d'un biofilm microbien sur sa paroi interne.....	7
Figure 6 : Modes de contamination dans l'unité dentaire unit dent.....	8
Figure 7 : Pseudomonas aeruginosa.....	10
Figure8 : Mycobactéries atypiques (ou non-tuberculeuses).....	11
Figure 9 : Legionella pneumophila.....	12
Figure 10 : Staphylococcus Aureus.....	13
Figure 11 : Streptococcus Pyogène.....	14
Figure 12 : Les étapes de formation d'un biofilm.....	17
Figure 13 : Représentation schématique du développement de biofilm dans les circuits d'eau des unités dentaires.....	18
Figure14 : Détails de la formation d'un biofilm à l'intérieur d'une tubulure.....	19
Figure15 : Les trois mécanismes de résistance du biofilm aux antibiotiques.....	21
Figure 16 : Protocole d'isolement et d'identification des bactéries d'unité dentaire..	26
Figure 17: Test de coagulase.....	29
Figure 18 : Galerie API 20 E.....	30
Figure 19: galerie API®Staph.....	31
Figure 20 : La disposition des disques d'antibiotiques.....	33
Figure21: Les étapes de formation du biofilm par la technique TCP.....	34

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les micro-organismes des unités d'eau dentaire.....	15
Tableau2 : Matériel utilisé dans notre travail.....	16
Tableau3 : d'identification du catalogue analytique API Staph.....	32
Tableau4 : Liste des antibiotiques utilisés.....	33
Tableau 5 : Classification de l'adhésion des <i>Staphylocoque spp</i>	35

Liste des abréviations

CEUD : Circuit d'Eau des Unités Dentaires

BHIB : bouillon cœur cerveau

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

EPS : Exo Polysaccharides.

IAS : Infections Associées aux Soins

ORL : Oto-rhino-laryngologie

PID : porte-instruments dynamiques

USD : Unités de soins dentaires

UFC : Unité Formant Colonie

HBV : Hépatite B Virus

HCV : Hépatite C Virus

HIV : Virus de l'immunodéficience humaine

HSV : Herpes simplex virus

MH : gélose Mueller Hinton

PVC : polychlorure de vinyle

TCP : Méthode de plaque de culture de tissus

RCA : La méthode du Rouge Congo Agar

FMAR : flore mésophile aérobie revivifiable

+ : positive

- : négative



INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'unité dentaire est l'élément principal d'une salle de soins, c'est l'unité de travail qui sert au déroulement de toutes les procédures médicales effectuées sur le patient. C'est un dispositif précieux mais, malheureusement, c'est aussi le principal véhicule d'infections croisées du secteur des cabinets dentaires entre patients et personnel, exposés à des microorganismes pathogènes véhiculés par le sang, à des sécrétions orales et respiratoires contaminées.

De nombreuses études ont démontrés que l'unité dentaire peut être colonisée par des microorganismes pathogènes formés de champignons, bactéries et protozoaires.

Les criticités dentaires, à propos de la transmission des infections, sont très nombreuses. Elles sont représentées par la multiplicité des agents microbiens, par la variété des voies d'infection possibles, par le type d'instruments utilisés, par la rotation rapide des patients et par le caractère invasif des techniques auxquelles les patients sont soumis.

Plusieurs auteurs montrent aussi que l'eau des unités dentaires est fréquemment contaminée et représente une source infectieuse potentielle cette contamination peut être compliqué par la formation de Biofilm. En effet, la formation de biofilm engendré au niveau des CEUD, les tuyaux d'aspiration et les raccords constituent une source potentielle importante de contamination croisée qui présente un risque important pour la santé car ils peuvent entrer en contact avec les patients pendant le traitement (**Rodrigues et al., 2017**) et entraîner une production d'eau fortement contaminée.

Ainsi, l'objectif de ce travail est d'évaluer le plus précisément possible la composition de la population bactérienne retrouvée dans les unités de soins dentaires et d'étudier les caractéristiques de ces bactéries en termes de résistances aux antibiotiques et formation de biofilm et ceci dans le but de contribuer à une meilleure appréhension du risque infectieux réellement associé aux soins dentaires.



1. Unité de soins dentaire

1.1 Définition

C'est au XXe siècle que la notion d'«unité dentaire» ou «unit dentaire» fasse son apparition comme équipement principal du cabinet dentaire. Il se définit comme la réunion de matériel dentaire et d'instrument dentaires interconnectés constituant un ensemble fonctionnel utilisable dans le traitement dentaire (ISO, 2011). L'unité dentaire permet notamment la mise en fonction des instruments dynamiques, du système d'aspiration. Ainsi que l'apport d'air et d'eau dans la zone du soin via des cordons souples multicanalaires.

Les différentes fonctions de l'unité et les divers éléments qui peuvent s'y connecter constituent autant de voies de contamination de l'unité que le chirurgien-dentiste devra connaître et savoir gérer afin de préserver la sécurité des soins pour le patient (Offner et al., 2011).



Figure 1: Représentation d'un unit de soins dentaire (Costa, 2015).

2. Les sources de contamination de l'unité

2.1 Contamination externe

2.1.1 Les patients

Les patients sont porteurs de germes plus au moins pathogènes. Pour se prévenir des possibilités de contamination croisée du patient vers le personnel ou de patient à patient, l'identification des patients à risque est indispensable. La contamination se fait par une dérivée de la salive et la plaque de la bouche d'un patient qui peut inoculer d'autres patients via une unité dentaire seringues à eau et pièces à main **(Ramalingam et al., 2013)**. Les microorganismes du biofilm sont continuellement excrétés lorsque l'eau s'écoule à travers les CEUD, entraînant une contamination microbienne de l'eau de traitement du patient **[(Bowen, 2015) ; (Porteous et al., 2015)]** et peuvent entraîner la libération dans l'eau des toxines à des quantités détectables qui peuvent être suffisantes pour déclencher une réaction inflammatoire, essentiellement chez les patients vulnérables (tels que les personnes âgées, les diabétiques ou patients immunodéprimés) sont fréquents **[(Coleman et al., 2009) ; (Liaquat et Sabri, 2011) ; (Costa et al., 2016)]**. Il y a au moins quatre façons par lesquelles les microorganismes d'origine hydrique peuvent provoquer une infection chez le patient subissant une intervention dentaire : la diffusion hémotogène pendant l'intervention chirurgicale, le contact (buccal ou conjonctival) avec la muqueuse locale, l'ingestion et l'inhalation **(Renaud et al., 2009)**.

2.1.2 La contamination par les dispositifs médicaux et le personnel

Les soins dentaires impliquent constamment l'utilisation en bouche de dispositifs médicaux qui sont tous souillés par de la salive ou par du sang **(Richaud-Morel et al., 2011)**, par suite toutes les surfaces de la salle de soins seront contaminées de façon plus ou moins importante par des micro-organismes issus des patients, des intervenants et des matériels (contacts manuels, projections, aérosols provoqués par les turbines...) **(Flous 2017)**.

La transmission des agents infectieux est principalement liée aux instruments utilisés pendant des actes de soins qui sont souvent difficiles à nettoyer en raison de leur

architecture complexe (**Richaud-Morel et al., 2011**), cette contamination constitue un réservoir potentiel pouvant jouer un rôle dans la contamination croisée (**Floos 2017**) .

2.1.3 Contamination par L'air

L'air ne permet pas la croissance des microorganismes, ces derniers sont présents dans l'air de manière transitoire sous forme de bio aérosols. Avec le temps, l'activité humaine est devenue une source non négligeable de bioaérosols. Un aérosol est une suspension de particules solides ou liquides dans l'air (**Raghunath et al., 2016**). En unit dentaire, l'utilisation d'instruments dynamiques, tels que la seringue air/ eau et le détartreur ultrasonique, favorise la génération d'aérosols (**Duchaine et Dutil., 2006**). La propagation de l'infection par aérosol et éclaboussures a longtemps été considérée comme l'un des principales préoccupations de la communauté dentaire. Les aérosols peuvent rester en suspension pendant de longues périodes, et être inhalés par tout le personnel dentaire et les patients (**Al Maghlouth et al., 2004**).

Lorsque les patients hébergent des virus, des pathogènes bactériens transmissibles par le sang ou respiratoires tels que *Mycobacterium tuberculosis*, la génération d'aérosols peut constituer un risque important pour la santé des dentistes et de leurs assistants. Si des aérosols infectieux persistent, il peut y avoir un certain danger d'exposition dans la zone d'attente et pour les patients subséquents (**Raghunath et al., 2016**) .



Figure 2 : Expulsion des microorganismes à travers le détartreur ultrasonique. (**Barbeau, 2007**).

2.2 Contamination interne

2.2.1 Les instruments

Les instruments sont des enjeux majeurs de la maîtrise du risque infectieux car ils sont directement en contact avec des tissus potentiellement infectés. Dans un cabinet dentaire, les instruments utilisés sont de petites tailles et souvent coupants, tranchants ou piquants. Le personnel doit donc être vigilant lors de leurs manipulations pour éviter de se blesser (MSJSCP, 2008).

❖ Les instruments dynamiques

Les instruments dynamiques sont les pièces à main, le courte-angles et les turbines, ils sont en première ligne quant à la contamination par la salive ou le sang, leur face externe peut être eux contaminée soit par contact direct avec des muqueuses, soit par les aérosols produits par les sprays.

Les conduits internes sont eux aussi contaminés car l'arrêt de l'air envoyé sur les rotors engendre une pression négative favorisant la pénétration des débris organiques contaminés (MSJSCP, 2008).



Figure 3: Quelques instruments au cabinet dentaire (courte-angles, turbines...) (Web master).

❖ Des porte-instruments dynamiques PID

Les PID n'est qu'en contact indirect avec le sang puisque cette l'extrémité de la fraise elle-même qui est en contact directe. Cette fraise se trouve au moins de 10 mm de distance de l'extrémité de PID.

Le PID est lui-même au cœur d'un aérosol produit par projection d'air et l'eau autour de la fraise et contenant des microorganismes, de la salive du sang et des de fraisage, Il est reconnu et prouve que les microorganismes pénètrent et colonisent des parties internes des PID.

Lors du fraisage des dents ou des prothèses des particules solides pénètrent dans le rotor. Ces particules proviennent de l'action stérilisatrice de la vapeur d'eau en formant avec le lubrifiant un magma isolant, elles constituent un biofilm fortement l'adhérence des microorganismes à leur support (**Clement, 2019**).

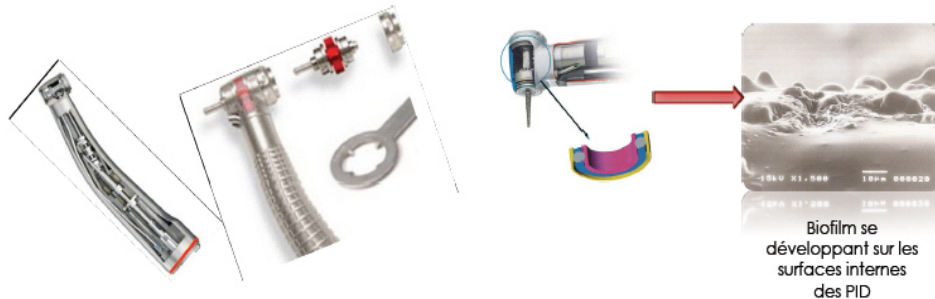


Figure 4 : Le développement de biofilm sur les surfaces internes des PID (**Clement, 2019**).

2.2.2 Les conduites d'eau des unités dentaires (CEUD)

Les conduites d'eau des unités dentaires ont pour caractéristiques des tuyaux de petit calibre (ce qui augmente la surface de contact avec l'eau), des coudes nombreux, des raccords et une température plus élevée dans l'unit. Les études hydrodynamiques révèlent que la colonne d'eau qui se trouve dans l'étroite lumière d'une tubulure se déplace au centre de celle-ci en laissant une mince de liquide virtuellement immobile sur la paroi (**Barbeau, 2007**).

L'eau contient naturellement une grande diversité de bactéries, de virus, de protozoaires et de champignons. Ces bactéries entrent en contact avec la paroi des conduites d'eau des unités dentaires, amorcent une série d'événements conduisant à la prolifération et à la formation d'un biofilm tenace et adhérent (**Barbeau, 1998**), une fois attachées aux surfaces, les bactéries adoptent des comportements et un état physiologique appropriés à un mode de vie collectif et souvent très éloigné de celui qu'elles révèlent dans une éprouvette ou dans une boîte de Pétri (**Barbeau, 2007**) . Dans la plupart des biofilms, les micro-organismes représentent 10 % du poids sec et la matrice d'exopolysaccharides (EPS), produite par eux-mêmes, compte 90 % d'eau. Cette matrice leur confère de nombreux avantages par rapport à des micro-organismes libres dans le milieu environnant (microorganismes planctoniques), notamment une résistance plus forte (**Poisson, 2011**), cette résistance est extrême, Afin de coloniser efficacement les surfaces et éviter d'en être arrachées, les bactéries produisent des colles biologiques imperméables, hydrophobe et repousse efficacement les substances hydrosolubles, les oxydants et les alcools (**Barbeau, 2007**).

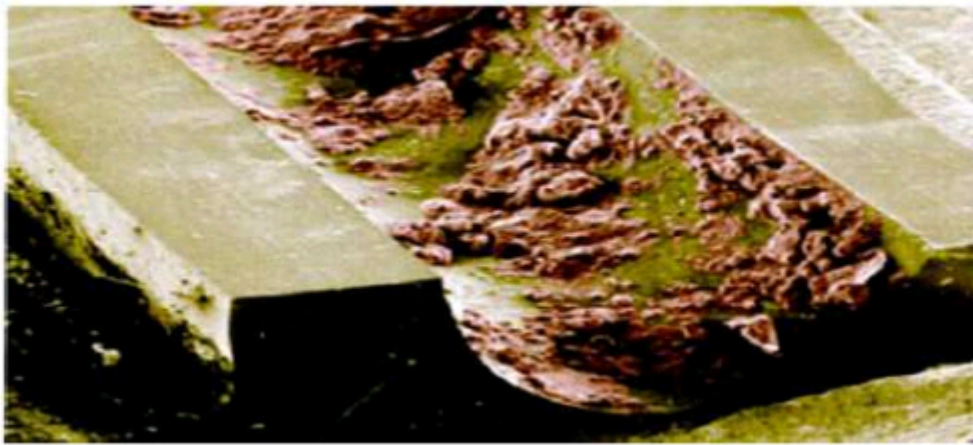


Figure 5 : Coupe transversale d'une tubulure d'unité dentaire démontrant la présence d'un biofilm microbien sur sa paroi interne (**Dutil et al., 2007**).

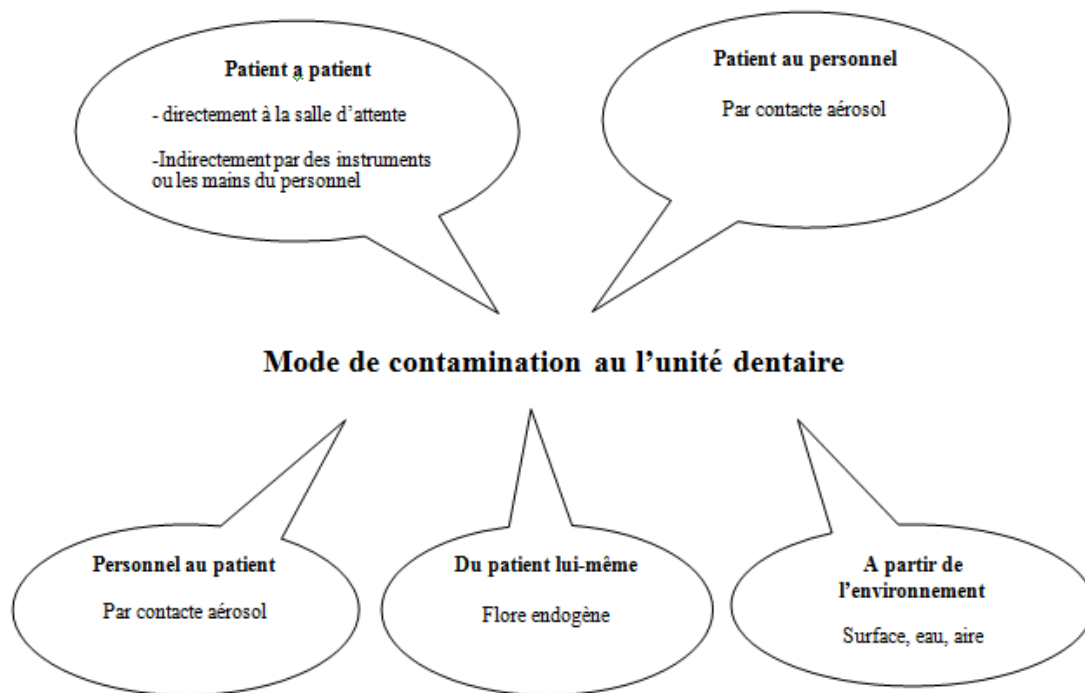


Figure 6 : Modes de contamination dans l'unité dentaire unit dent (MSJSCP, 2018).

3. L'infection associées aux soins en unit dentaire

L'infection nosocomiale est désormais intégrée dans les infections associées aux soins (IAS). Une infection est considérée comme IAS si elle survient au cours ou au décours d'une prise en charge (diagnostique, thérapeutique, palliative, préventive ou éducative) d'un patient, même si elle n'est pas présente en incubation au début de la prise en charge. Lorsque que l'état infectieux au début de la prise en charge n'est pas connu précisément, un délai d'au moins 48 heures ou un délai supérieur à la période d'incubation est couramment accepté pour définir une IAS, on considère aussi comme associées aux soins les infections survenant dans les 30 jours suivant une intervention ou, s'il y a mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique dans l'année qui suit l'intervention (MSS,2009).

Les IAS concernent les patients, malades ou non, mais également les professionnels de santé et les visiteurs (MSS, 2009).

On ne peut parler, au sens strict, d'infection nosocomiale en odontologie, puisque dans sa pratique courante il n'y a pas d'hospitalisation. On sait néanmoins qu'il existe, au cabinet dentaire, des risques de contamination dite croisée (Watteau, 2008), l'utilisation d'instruments rotatifs et chirurgicaux en dentisterie génère un jet infectieux visible qui emprisonne les éclaboussures d'eau, de salive, de micro-organismes, de sang et d'autres débris, La cavité buccale est un habitat naturel pour un grand nombre de micro-organismes, cette niche écologique peut être un réservoir de microorganismes opportunistes et pathogènes pouvant présenter un risque de contamination croisée, voire même causer des infections systémiques.

4. Les agents infectieux isolés en unit dentaire

Le risque infectieux lié aux USD implique 2 catégories de microorganismes

4.1 Les microorganismes d'origine humaine

En premier lieu les virus dont : le HIV, le HBV, le Virus de l'Hépatite C (HCV), les Herpes Simplex Virus (HSV). Puis, sont également concernées les bactéries de la sphère ORL, mais aussi le *Bacille de Koch* ou *Mycobacterium tuberculosis*: agent responsable de la tuberculose et enfin les champignons ; cependant, en ce qui concerne le risque fongique, aucun article ne recense à ce jour une infection ayant pour origine certaine un USD, pourtant la présence fongique dans l'eau de sortie de ces unités est bien documentée (Szymańska J.et al., 2005).

4.2 Les microorganismes d'origine environnementale

Parmi lesquels on retrouve principalement les *légiennelles*, les *mycobactéries non tuberculeuses* et *P. aeruginosa* (Comité technique, 2006), (Szymańska J,et al., 2008).

❖ *Pseudomonas aeruginosa*

Appelée aussi *bacille pyocyannique*, c'est une bactérie aérobie stricte a gram négatif. Elle fait partie des germes systématiquement recherchés lorsque l'on procède à une analyse microbiologique d'un échantillon d'eau en établissement de santé.

La voie principale de contamination (contact mais contamination par ingestion d'eau ou par voie aéroportée possible. Elle Provoque toute sorte d'infections (pulmonaire, méningée, auriculaire...) et parfois septicémique (Clement , 2019).

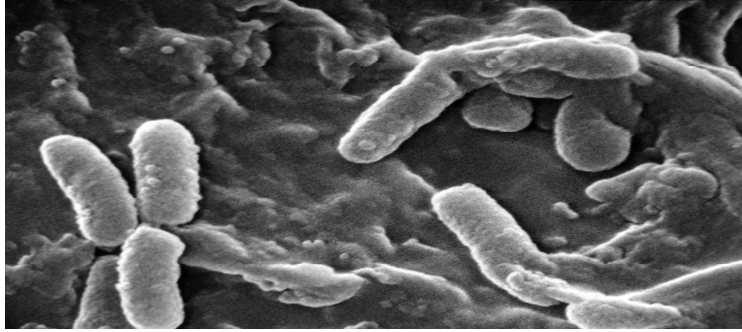


Figure 7: *Pseudomonas aeruginosa* (Web master).

❖ *Mycobactéries atypiques (ou non-tuberculeuses)*

Les microorganismes opportunistes sont largement répandus dans la nature, souvent isolés dans les sources d'eau stagnantes naturelles ou à l'intérieur des domiciles, plus de 120 espèces connues des *mycobactéries* capables de provoquer des maladies chez des personnes dont la sante est altérée. Concernant les unités dentaires, la concentration en *mycobactéries atypiques* peut être 400 fois plus élevée dans L'eau de sortie des unités dentaires (365UFC/ml) que dans l'eau du robinet et atteindre 1165 UFC/cm² dans le biofilm (Clement, 2019).



Figure8 : *Mycobactéries atypiques (ou non-tuberculeuses)* (Clement , 2019).

❖ *Legionella pneumophila*

Les *legionella* sont des bacilles à gram négatif intracellulaires, c'est une bactérie d'environnement souvent retrouvée dans les réservoirs d'eau. Dans l'environnement naturel, *legionella* est présente en concentrations basses mais sa concentration peut significativement augmenter dans des environnements artificiels selon le type de matériel, la présence d'un biofilm, la présence de nutriments, les conditions microbiologiques (présence de protozoaires), et la température de l'eau (entre 25 et 42° C).

Une étude italienne de 2007 montre que sur 48 échantillons d'eau potable d'approvisionnement d'unit dentaires, 56% étaient positifs a *legionella sp* et que sur 160 échantillon d'eau sortant des instruments, ce taux était de 12 % (dont 8% avec une concentration supérieure à (103 UFC/ml) (Clement , 2019).



Figure 9: *Legionella pneumophila* (Web master).

4.3 La flore bactérienne

La gamme de micro-organismes qui comprennent les unités d'eau dentaire sont à la fois les organismes environnementaux par exemple : *Moraxella sp*, et *Flavobacterium sp*. Ils sont opportunistes et de vrais pathogènes humains par exemples : *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium sp*, *Candidose sp*, *Actinomyces sp*, *Streptocoque sp*. et *Staphylococcus sp*. (Salam et al., 2017).

4.4 Fungi

Les champignons seraient moins répandu et significativement moins abondant que les bactéries dans les CEUD (Costa et al., 2016). La flore fongique la plus fréquente dans les unités dentaire est le *candida albicans*, il est présent sous forme de biofilm et peut causer des candidoses chez les patients immunodéprimés (Khadre, 2015). Aussi des champignons non sporulés ont été trouvés dans les CEUD (Kadaifciler et al., 2013). *Aspergillus* et *Penicillium* sont les genres les plus communs trouvés dans les CEUD alors que les spores de ces membres du genre peuvent provoquent des réactions allergiques [(Göksay et al., 2008) ; (Rocha et al., 2013)].

4.5 Autres micro-organismes

❖ Amibe

En dehors des bactéries, des espèces d'amibes ont également été observées (Lin et al., 2011).

La présence d'amibes libres semble actuellement sous-estimée, bien que des infections humaines puissent survenir en raison du contact avec l'eau contaminée par les amibes libre pendant les soins dentaire [(Dogruöz et al., 2012) ; (Costa et al., 2017)]. Il apparaît clair que la présence de matière organique en suspension et la présence de biofilm favorisent le développement amibien en environnement hydrique [(Valster et al., 2009) ; (Buse et al., 2014)].

❖ **Virus**

La plupart des virus peuvent être transmis au cours de l'exercice dentaire ; les principaux virus responsables de pathologies graves ainsi que ceux qui présentent un risque infectieux important pour le patient (Virus de l'hépatite B et C) et Virus responsables d'infections respiratoires (Influenza, Para-influenza) (Mathilde, 2015).

❖ ***Staphylocoques, principalement Staphylococcus Aureus***

Le *Staphylocoque doré* est un Cocci à gram +, responsable de nombreuses infections nosocomiales. Cette bactérie est retrouvée au niveau des fosses nasales et de la gorge. Elle peut donc être transmise par les excréments nasales et de façon manu portée (Michael, 2000).

Son pouvoir invasif est assuré par des enzymes, et son pouvoir toxique lui est conféré par des toxines [(Velvez, 2012) ;(Edouard, Haddad, et Calcagno, 2011)].

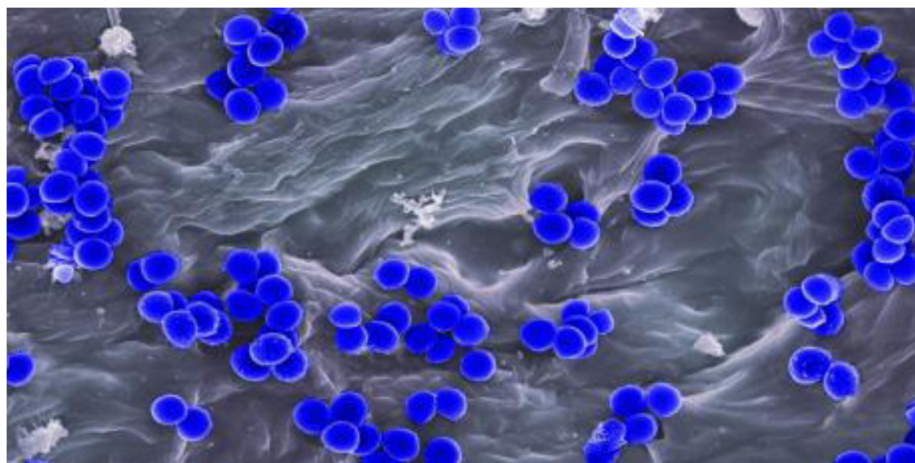


Figure 10 : *Staphylococcus Aureus* (Web master).

❖ *Streptococcus Pyogène*

Cette bactérie est une Cocci à gram +, retrouvée au niveau du rhinopharynx et de lésions cutanées. Cette bactérie est responsable d'infections telles que: angine, scarlatine, infections cutanées... [(Velvez, 2012) ;(Edouard, Haddad, et Calcagno, 2011) ;(INRS, 2012)]

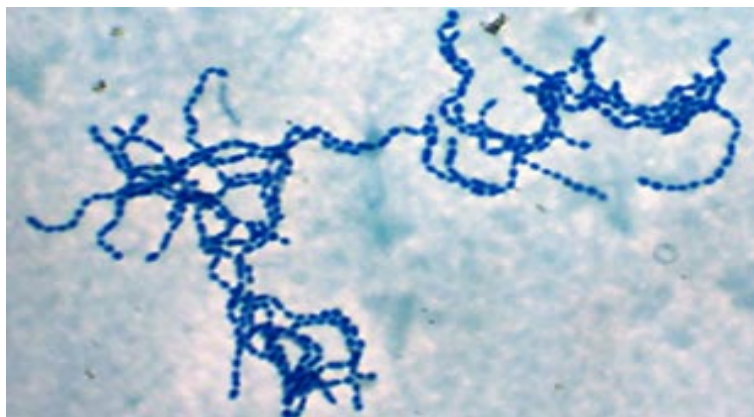


Figure 11 : *Streptococcus Pyogène* (Web master).

Tableau 1 : Les micro-organismes des unités d'eau dentaire (Barbot et *al.*, 2012)

Bactéries Gram négatives :	Bactéries Gram positives :
<i>Achromobacter xyloxidans</i>	<i>Actinomyces sp.</i>
<i>Acinetobacter sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>
<i>Aliccaligenes dentrificans</i>	<i>Brevibacterium epidermidis</i>
<i>Bacteroides sp.</i>	<i>Lactobacillus sp.</i>
<i>Brevundimonas vesicularis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Micrococcus sp.</i>
<i>Caulobacter sp.</i>	<i>Mycobacterium avium</i>
<i>Fusobacterium sp.</i>	<i>Mycobacterium sp.</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Nocardia sp.</i>
<i>Legionella sp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Moraxella sp.</i>	<i>Staphylococcus cohnii</i>
<i>Pasteurella sp.</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>
<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Streptococcus sp.</i>
<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Streptomyces albus.</i>
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	
<i>Xanthomonas sp.</i>	
Fungi	
Yeasts	<i>Filamentous</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Alternaria sp.</i>
<i>Candida curvata</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Candida sp.</i>	<i>Aspergillus sp.</i>
<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Citromyces sp.</i>
	<i>Cladosporium sp.</i>
	<i>Penicillium pusillum</i>
	<i>Phoma sp.</i>
	<i>Sclerotium sclerotiorum</i>
	<i>Scopulariopsis sp.</i>
Protozoa	
<i>Acanthamoeba sp.</i>	<i>Giardia sp.</i>
<i>Cryptosporidium sp.</i>	<i>Microsporidium sp.</i>
<i>Hartmannella sp.</i>	

5. Caractéristiques des bactéries isolées en unit dentaire

5.1 Biofilm

5.1.1 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. L'est unanimement admis que la grande majorité des micro-organismes sont présents dans leur environnement naturel, sous la forme de biofilm. 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 plusieurs études qui rendent 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).

5.1.2 Formations des biofilms dentaires

Quatre étapes sont décrites lors de la formation d'un biofilm en général, et d'un biofilm dentaire en particulier.

- 1) On observe d'abord une fixation réversible de bactéries à la surface les PID (turbines, pièces a main, contre-sangles).
- 2) Ensuite, un ancrage irréversible des bactéries via des systèmes classiques d'attaches tels que les flagelles, les pili.
- 3) Une maturation de la structure, traversée entre autres par des courants de nutriments, des molécules signal, etc...
- 4) Enfin, une dégradation du biofilm, avec un détachement cellulaire massif (Simain et al., 2010).

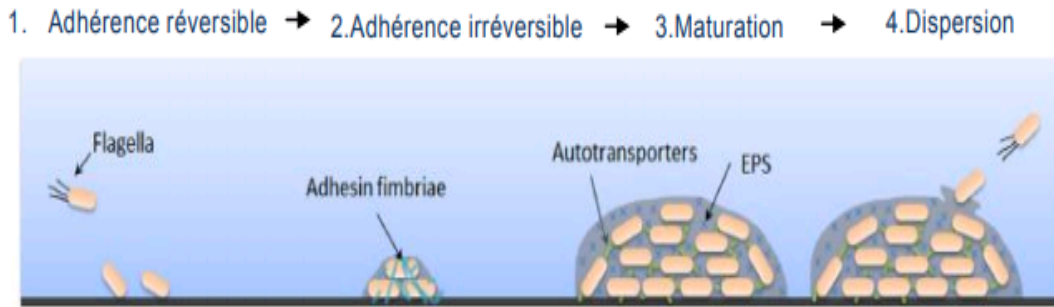


Figure 12 : Les étapes de formation d'un biofilm(Vogeleeer P, et *al.*, 2014).

5.1.3 Biofilm et tubulures d'eau des unités dentaires

Les surfaces internes des tubulures dentaires offrent un environnement particulièrement propice à la multiplication des microorganismes et à la formation de biofilms. Dans les circuits d'eau des unités dentaires (CEUD) les unités fonctionnelles contiennent des biofilms bactériens d'une épaisseur allant jusqu'à 50 microns, constitués d'une population hétérogène d'organismes [(Costa et *al.*, 2016) ; (Porteous et *al.*, 2018)]. La charge bactérienne moyenne initiale de l'eau peut alors être multipliée par 100 du fait de cette dispersion des microorganismes (Ganguly, 2011).

Dans les unités de soins dentaire, la formation du biofilm et sa maturation est caractérisé par l'adsorption de macromolécules à partir de la phase aqueuse et la formation d'un film de conditionnement, puis l'adhésion des microorganismes a la surface des unités, enfin la division ultérieure des cellules adhérentes et le recrutement de cellules planctoniques de la phase fluide (Figure11) (Khadre, 2015).

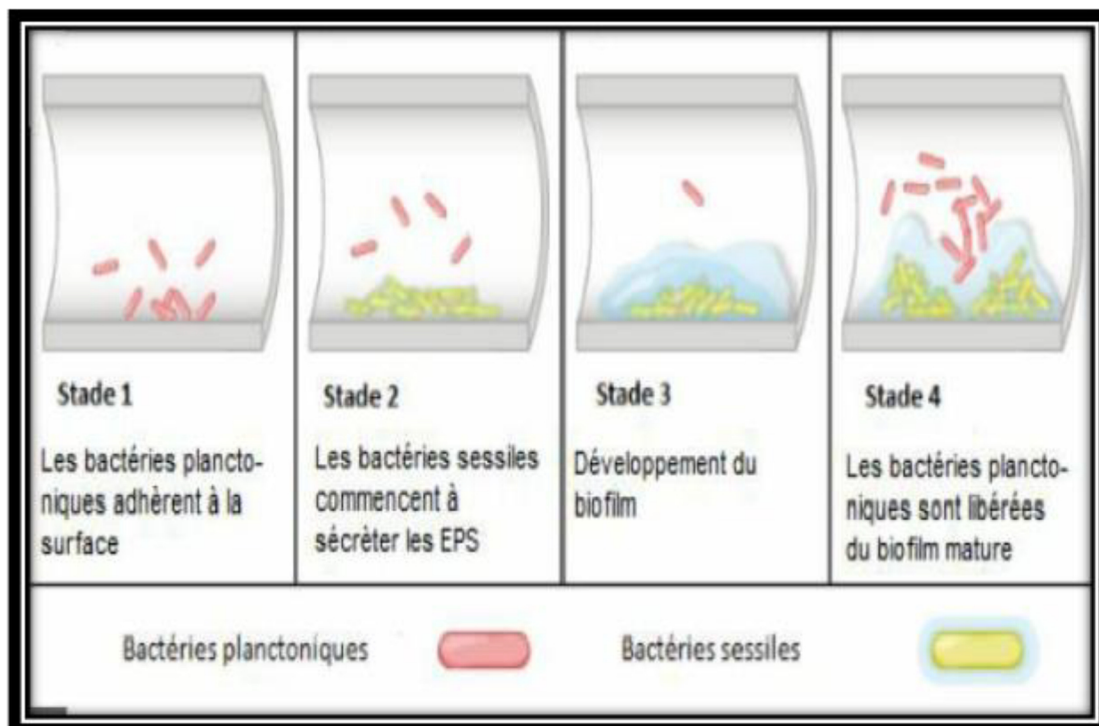


Figure 13 : Représentation schématique du développement de biofilm dans les circuits d'eau des unités dentaires [(Bacon, 2014) et (Khadre, 2015)].

5.1.4 Les caractéristiques favorables à la formation d'un biofilm

Dans le contexte des unités de soins dentaire (USD), plusieurs caractéristiques sont favorables à la formation d'un biofilm :

- La stagnation de l'eau (12H/jour au moins) (Zhang *et al.*, 2017).
- L'écoulement laminaire (Choi et Nam, 2017).
- Le rapport surface/volume des tubulures selon le physique d'écoulement laminaire d'eau passant à travers la ligne de flottaison (Zhang *et al.*, 2017).
- La dureté de l'eau (Kumar *et al.*, 2010).
- La composition des différentes tubulures (PVC, polyuréthane..), les microorganismes adhèrent plus facilement à la tubulure en plastique polymère hydrophobe utilisée dans les équipements dentaires (par exemple le chlorure de polyvinyle ou le polyuréthane) qu'à ceux composés de verre ou d'acier (Kumar *et al.*, 2010).
- La température moyenne de la plupart des circuits des unités d'eau dentaires est de 23°C. Cela peut encourager la prolifération de micro-organismes (tels que les

espèces bactériennes humérus qui préfèrent une température plus élevée) (**Barbot et al., 2012**).

Les L'USD sont fréquemment colonisées par des biofilms, mais le problème majeur est l'élimination de ces biofilms une fois implantés. En effet, l'organisation des microorganismes en biofilm leur assure une protection physique aux différents traitements. Les traitements usuels voient alors leurs efficacités amoindries par réaction avec différents constituants de la matrice extracellulaire, un métabolisme microbien ralenti, la proximité cellulaire offrant dès lors des possibilités rapides d'adaptation par échanges microbiens et phénomènes de quorum sensing (communication chimique intercellulaire). Ainsi, une réduction du biofilm peut être obtenue suite à ces traitements mais bien souvent une élimination totale d'un biofilm passe par le remplacement des surfaces colonisées, ce qui signifierait ici un remplacement de l'USD (**Costa, 2015**).

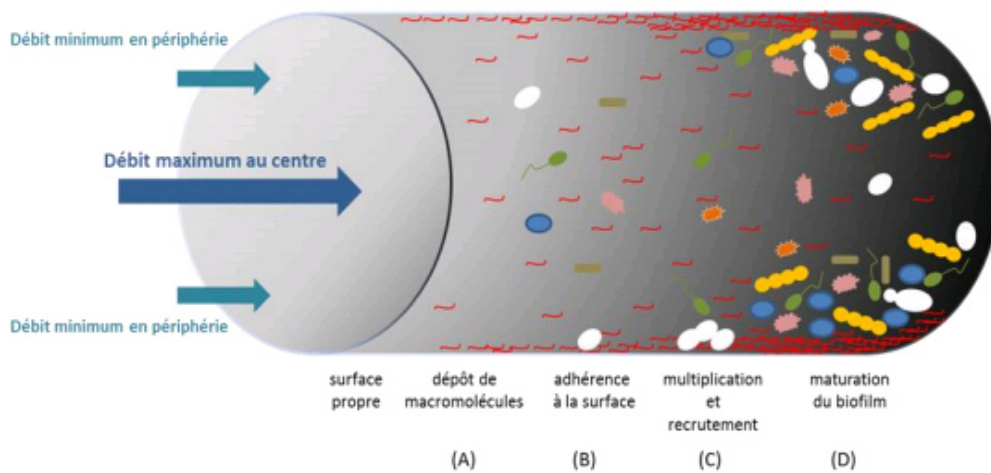


Figure14 : Détails de la formation d'un biofilm à l'intérieur d'une tubulure [(**Barbot et al., 2012**) ; (**Khadre, 2015**)].

Des macromolécules venant de la phase aqueuse sont adsorbées sur les parois de la tubulure, et forment un dépôt (A), ce qui permet aux microorganismes de se fixer à la surface de façon irréversible (B). Les divisions successives des cellules adhérentes (C), ainsi que le recrutement de nouvelles cellules planctoniques venant de l'eau, conduisent à la maturation du biofilm (D) (d'après Barbot et al).

5.2 Résistance aux antibiotiques des bactéries isolées d'unit dentaire

5.2.1 Résistance des biofilms aux antibiotiques

La résistance bactérienne se définit par la capacité d'un micro-organisme à se développer en présence d'un agent antimicrobien, dont l'action empêche ou ralentit sa croissance. Les bactéries au sein du biofilm résistent à des concentrations en antibiotiques plus élevées que les bactéries planctoniques (**Elliott et al., 2012**).

En effet, une souche bactérienne est définie comme étant résistante si sa croissance n'est pas inhibée à une concentration critique (CMI) d'antibiotique généralement observée pour la majorité des souches de l'espèce considérée. Les cellules d'un biofilm sont quant à elles décrites comme résistantes par comparaison avec leurs homologues planctoniques (**Daddi Oubeka, 2012**).

5.2.2 Mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques

Les bactéries ont démontré leur capacité à croître en présence d'antibiotique, cette résistance est due à une multitude de mécanismes. Trois hypothèses principales sont avancées afin d'expliquer les mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques.

La première repose sur une notion de barrière physique qui expliquerait la pénétration lente et incomplète de certains antibiotiques, la seconde hypothèse est liée à l'environnement spécifique du biofilm dont les zones les plus profondes, riches en résidus acides, pauvres en oxygène et en nutriments, pourraient gêner l'action de l'antibiotique et enfin la dernière hypothèse s'appuie sur les modifications phénotypiques observées dans certains biofilms dont les micro-organismes constitutifs pourraient présenter des formes plus résistantes (Figure 13), (**Stewart et Costerton 2001**).

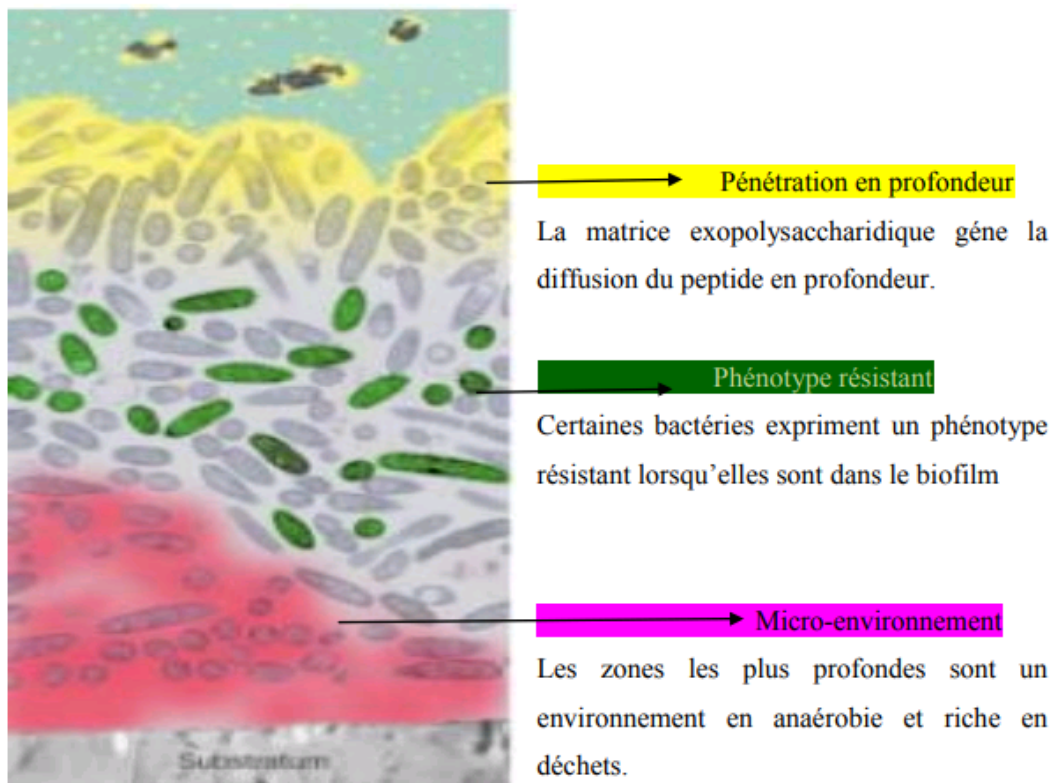


Figure15 : Les trois mécanismes de résistance du biofilm aux antibiotiques (Stewart, 1996).

Ces trois hypothèses reposent sur la nature communautaire et multi-cellulaire du biofilm. La plupart des spectres antibiotiques ont été étudiés sur des formes planctoniques et doivent maintenant être étudiés sur des modèles de biofilms plus complexes. Ainsi, de nouvelles concentrations minimales d'inhibition et de nouvelles associations médicamenteuses doivent être envisagées. Les recherches actuelles essaient d'envisager des molécules capables de rompre ou d'empêcher la formation de la matrice polysaccharidique (Etienne, 2004).



MATÉRIELS

&

MÉTHODES

1. Lieu d'étude

Notre étude a été menée au laboratoire de microbiologie appliquée de l'université Djilalli Liabes. Les prélèvements ont été effectués au niveau de la clinique dentaire du département de chirurgie dentaire à la faculté de médecine Taleb Mourad de Sidi bel-Abbes.

Le but de notre travail est l'étude des caractérisations des bactéries isolées des unités dentaires.

2. Matériel utilisé

Le matériel et les réactifs utilisés dans la partie expérimentale son représentés dans le tableau suivant :

Tableau2- Matériel utilisé dans notre travail.

Appareillages	les milieux de culture	Les réactifs et les colorons utilisées	Autres matériels
- Autoclave. -Etuve à 37° C. -Ecouvillons. -Microscope optique. -Bain marine	<p>Milieux de culture liquides</p> Bouillon cœur cervelle (BHIB) (Merck) Bouillon nutritif (BN) (Fluka)	Eau oxygénée à 10 volumes Eau physiologie Eau peptonée Ethanol Bleu de Mytilène L'alcool Huile d'immersion Acétate de Sodium (2%) Crystal violet (0.1 %) huile de paraffine VP1 et VP2 TDA Kowacks Disques d'antibiotiques AMC :Amoxicilline AT : Azithromysine NO :Nitrofurantoine VA : Vancomysine OF :Ofloxacine P : Penicillin (G) R :Rifamycine C : Chloramphenicol CN :Céfalexine. E : Erythromycine.	-Portoir. -Marqueur. - Etiquettes. -Anse de platine. -Bec Bunsen. -Boîtes de pétri stériles -Ecouvillons. -Micro pipette. -Tubes à hémolyse. -Système API20E.. -Système API Staph. -Disque d'oxydase. -Disque ONPG. -Sérum humain (O+). -Distributeurs d'antibiotiques. - microplaques à 96 puits Verrerie : -Lames et lamelles. -Pipettes Pasteur. -Tubes à essai stériles
	<p>Milieux de culture solide</p> Gélose Chapman (Merck) Gélose nutritive (Fluka) Mueller Hinton (Fluka) Gélose au sang Gélose Hecktoen Gélose rouge congo Gélose Sabouraud Gélose Mac Conkey Shaccarose Agar agar		

3. Prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés sur les instruments de fauteuil dentaire les PID (pièces a main, turbines, contre-angles).

La méthode d'écouvillonnage s'applique à toutes les surfaces, elle permet en particulier de dépister les individus microbiens pouvant se former dans les coins de cavités, ou sur les surfaces bombées sur les instruments des unités dentaires.

Les prélèvements doivent être pris dans des conditions stériles à l'aide d'un écouvillon stérile à usage unique en suivant les étapes suivantes :

- Imbiber l'écouvillon dans l'eau physiologie après prélever (en frotte les surfaces) sur les instruments de fauteuil dentaire (tubulure et turbine).
- Mettre l'écouvillon dans des tubes à vis stérile contenant de bouillon nutritif pour aider à la multiplication des bactéries.
- Faire un marquage simple c'est à dire le tube et le lieu de prélèvement portent le même numéro.
- Incuber les tubes à 37 °C pendant 18h à 24h pour l'enrichissement.

4. Méthode d'analyse

4.1 Enrichissement

L'absence des colonies suspectes sur l'isolement sélectif ne suffit pas pour affirmer l'absence de ces bactéries dans le prélèvement. C'est pourquoi un enrichissement est mis en route en même temps que l'isolement (**Guillaume, 2004**).

Le Bouillon nutritif est un milieu largement utilisé pour l'enrichissement et la culture des micro-organismes peu exigeants.

Après avoir effectuer les différents prélèvements, les écouvillons sont introduits dans des tubes de bouillon nutritif ou d'eau peptonée tamponnée, comme étant le milieu le plus utilisé pour l'isolement des bactéries. Les tubes sont ensuite acheminés au laboratoire dans un délai qui n'a pas dépassé 02 heures, où ils sont incubés dans une étuve réglée à 37°c pendant 24h - 48h jusqu'à l'apparition d'un trouble (croissance bactérienne).

4.2 Isolement des bactéries

Après l'observation macroscopique des différents types bactériens, nous cherchons à isoler les bactéries du mélange pour permettre de les identifier et d'obtenir des souches pures.

A partir des milieux d'enrichissement présentant une croissance nous avonsensemencé plusieurs milieux de culture gélosés préalablement coulés dans des boîtes de pétri afin d'isoler le maximum des bactéries présentes sur les surfaces analysées. L'ensemencement a été effectuée par la méthode des stries transversales sur des boîtes de pétri. Les boîtes sont mises à l'incubation à 37°C pendant 24 heures. Les milieux d'isolement utilisés sont :

- **Gélose Nutritive** : Une gélose nutritive ou gélose ordinaire est un milieu gélosé d'isolement qui permet la culture de toutes les espèces bactériennes, à condition qu'elles soient non exigeantes (**Guillaume, 2004**).

Milieu d'isolement utilisé pour la recherche de FMAR (flore mésophile aérobie revivifiable) (**Vincent, 2008**).

- **Gélose Hektoen** : Est un milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes comme des *Salmonelles* et des *Shigelles*. Bien que de nombreuses bactéries à Gram négatif puissent se développer sur ce milieu (**Guillaume, 2004**).

- **Gélose Chapman** : Est un milieu sélectif, surtout utilisé en microbiologie médicale, pour l'isolement et la numération des staphylocoques. Permettant la croissance des genres halophiles. Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus*, mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, les *Bacillus*, et de rares bactéries à Gram négatif (**Chringle, 2011**).

- **Gélose Mac Conkey** : C'est une gélose utilisée pour l'isolement des Entérobactéries, ainsi que la différenciation entre les bactéries qui fermentent le lactose Lac(+) en acide et celle qui ne le fermentent pas Lac(-) ; (**Joseph, 2003**).

- **Gélose Sabouraud** : La gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes. Dans

le cas de prélèvements fortement contaminés, il est préférable d'utiliser la gélose Sabouraud + chloramphénicol (**Guillaume, 2004**).

4.3 Purification

La purification consiste à effectuer des repiquages successifs sur gélose nutritive, Chapman, Hektoen, Mac conkey jusqu'à l'obtention de colonies pures bien distinctes et homogènes.

La technique consiste à prélever quelques colonies à partir des géloses utilisées, à l'aide d'une anse de platine préalablement flambée et refroidie, qu'on dispose à la surface de la gélose et on ensemence par la méthode des stries. Les boîtes de Pétri et les tubes sont mis en incubation durant 37°C pendant 24 à 48 heures (**Bousseboua, 2003**).

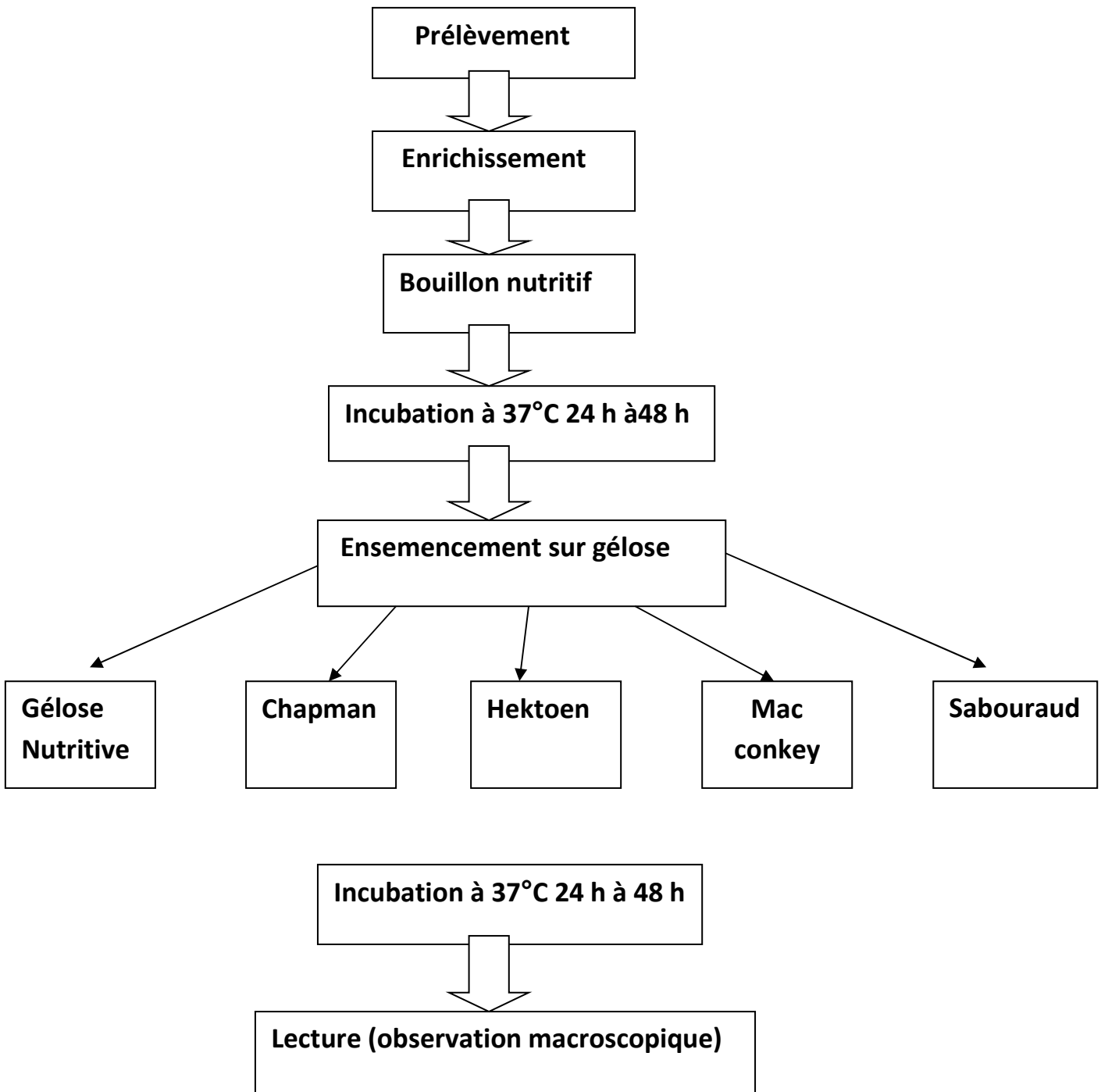


Figure 16 : Protocole d'isolement et d'identification des bactéries d'unité dentaire.

4.4 Identifications des souches purifiées

L'identification des souches a porté sur une série des tests préliminaires (examen macroscopique et examen microscopique), tests biochimiques.

4.4.1 Tests préliminaires

a- Examen macroscopique des caractères cultureux

L'identification des germes débute par sur l'observation de l'aspect macroscopique des colonies obtenues à partir des différents milieux d'isolement. Cette observation servira de moyen d'orientation pour une identification plus approfondie (**Bousseboua, 2003**).

La description des colonies doit mentionner plusieurs éléments :

- La taille
- La forme: bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé, irréguliers.
- L'aspect de la surface: lisse, rugueux.
- L'opacité : opaque, translucide, transparent.
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse.
- La couleur et/ou Pigmentation ; (**In Rouaiguia, 2010**).

b- Examen microscopique à l'état frais

Permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce microbiennes, elle comprend l'examen à l'état frais qui permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de groupement et de leur mobilité éventuelle (**Camille. 2007**).

Une suspension bactérienne est prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile, étalée sur une lame propre et recouverte avec une lamelle par limitation des bulles d'air dans une zone stérile .les cellules sont observée en microscope obtique à un grossissement x40 après l'ajout de l'huile d'immersion. La présence de petit bacille et des cocci.

4.5 Test complémentaires

L'étude de quelques tests biochimiques dont : Test Oxydase, Catalase, Coagulase.

Test oxydase

L'oxydase ou Cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaines respiratoires cytochromiques bactériennes.

La recherche de cette enzyme est utile dans le repérage des colonies de *Neisseriaceae* et dans le diagnostic des bacilles à Gram négatif (**Camille, 2007**).

Méthode

La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce Déposer, sur une lame porte-objet propre, un disque « OX » et l'imbiber avec deux goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile.

Prélever une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.

Une réaction positive se traduit par un virage rapide du réactif de l'incolore au violet foncé apparaît immédiatement sur le disque ou en quelques secondes (**Carbonnelle, 1988 et Labres, 2004**).

Puis vire au noir : test oxydase (+).

Disque incolore: test oxydase (-).

Test catalase

Le catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobie facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène gazeux qui se dégage. L'objectif de ce test est de reconnaître la présence de l'enzyme catalase.

La méthode qui permet de rechercher cette enzyme est :

Prendre une lame porte objet propre.

Déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes au contact d'une colonie bien isolée (**Joffin et Leylor, 2001**).

Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase : test catalase (+).

Test de coagulase

Le test mettant en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma est le principal test caractérisant *S. aureus*, Le test de détection consiste à incuber pendant 4 heures à 37°C un mélange de plasma oxalaté de l'homme et de la souche à tester, de préférence à partir d'une culture en gélose Chapman.

L'apparition d'un caillot est observée en inclinant le tube à 90°C. Le test de la coagulase, il existe de très rares souches de *S. aureus* non sécrétrices de coagulase (**In Rouaiguia ,2010**).



Figure17: Test de coagulase.

4.6Analyse biochimique

4.6.1 La Galerie API 20 E

API 20 E est un système pour l'identification des Entérobactéries et autres bacilles Gram négatif, utilisant 20 tests standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données.

Principe

La galerie API 20 E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Mode opératoire

Préparation de la galerie

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau dans les alvéoles avec pipette pour créer une atmosphère humide.

Déposer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

Ouvrir une ampoule de « Suspension Medium » ou introduire quelques ml d'eau distillée stérile (avec une pipette Pasteur) dans un tube à vis stérile.

Avec la pipette Pasteur, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.

Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.

Inoculation de la galerie API 20 E

Avec la suspension bactérienne et la pipette ayant servi au prélèvement, remplir tubes et cupules des tests |CIT |, |VP |, |GEL|, avec la suspension bactérienne.

Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.

Créer une anaérobiose dans les tests ADH, LCD, ODC, URE, H2S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 35 - 37° C pendant 18 à 24 heures.

Lecture

Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées. Si le glucose est positif et/ou si 3 tests ou plus sont positif : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.

Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.

Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kowacks. Un anneau rouge obtenu en 2minutes indique une réaction positive.

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20E.

Elle se fait avec le tableau API 20 E, et à l'aide du logiciel d'identification.



Figure18 : Galerie API 20 E.

4.6.2 Identification par galerie API®Staph

API®Staph BioMérieux est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus*, comprenant 20 tests biochimiques classiques. Les tests étudiés par cette galerie sont : la dégradation de différents sucres ou polyalcools, recherche de nitrate réductase, de phosphatase, d'arginine di-hydrolase et d'uréase.

Le principe consiste à inoculer dans les micro-tubes à l'aide d'une pipette pasteur une suspension bactérienne homogène qui reconstitue les milieux déshydratés. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau3 de lecture permettant une identification de l'espèce bactérienne et la détermination du biotype.



Figure19 : galerie API®Staph

Tableau3 : d'identification du catalogue analytique API Staph

API STAPH V4.1	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	YP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ACH	LPE	LSTR
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	100	100	95	96	88	91	80	0	0	83	97	78	1	0	97	2	90	80	80	0
<i>Staphylococcus auricularis</i>	0	100	99	36	72	10	90	9	0	0	81	0	1	0	0	40	0	15	90	1	0
<i>Staphylococcus capitis</i>	0	100	99	80	43	22	2	36	0	0	86	23	90	0	0	50	0	1	85	35	0
<i>Staphylococcus caprae</i>	0	100	99	70	10	75	74	10	0	0	99	95	99	0	0	0	0	1	99	80	0
<i>Staphylococcus carnosus</i>	0	100	100	99	0	99	99	99	0	0	99	83	83	0	0	0	0	100	100	0	0
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	0	100	100	99	79	100	100	13	0	0	96	96	1	0	1	100	0	31	89	95	0
<i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i>	0	100	99	66	99	2	97	88	33	0	21	96	94	0	0	2	0	9	2	1	0
<i>Staph. cohnii ssp urealyticum</i>	0	100	100	99	98	98	100	94	64	0	1	94	87	0	0	0	0	98	0	99	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	100	99	70	99	81	2	0	0	1	80	84	68	1	0	97	4	16	73	88	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0	99	75	5	99	80	91	60	0	1	78	3	57	0	0	98	13	83	85	1	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	0	98	94	41	97	50	86	28	0	1	82	27	70	1	0	97	4	50	43	84	0
<i>Staphylococcus hyicus</i>	0	100	99	99	0	87	99	0	0	0	90	90	15	0	0	99	2	93	100	88	0
<i>Staphylococcus lentus</i>	0	100	100	100	100	100	100	7	99	92	21	57	100	100	100	28	100	0	1	0	0
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	0	100	89	88	99	86	99	0	0	0	99	16	99	0	0	100	0	90	1	80	0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0	100	99	2	97	90	99	88	22	0	36	14	79	1	0	96	1	70	30	65	0
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	0	100	80	100	0	1	71	0	0	0	99	97	99	0	0	0	0	94	99	0	0
<i>Staphylococcus sciuri</i>	0	99	99	99	99	70	93	98	0	0	83	57	30	0	16	95	7	68	0	0	0
<i>Staphylococcus simulans</i>	0	100	100	57	11	95	92	73	4	0	83	27	38	0	4	97	2	90	97	84	0
<i>Staphylococcus warneri</i>	0	99	99	80	98	18	96	70	0	0	23	16	90	0	0	99	0	6	77	97	0
<i>Staphylococcus xylosum</i>	0	100	100	92	81	85	95	90	30	9	82	75	57	11	82	87	10	80	5	90	0
<i>Kocuria kristinae</i>	0	99	96	99	90	9	84	3	0	0	6	3	93	0	0	90	12	0	0	0	97
<i>Kocuria varians/rosea</i>	0	91	92	6	1	1	6	1	0	0	75	4	6	4	6	4	0	1	1	29	95
<i>Micrococcus spp</i>	0	2	4	0	1	0	1	0	0	0	8	15	1	0	0	1	0	1	11	11	91

4.7 Étude des caractéristiques des souches isolées

4.7Antibiogramme

Nous avons par la suite testé l'efficacité d'antibiotiques sur toutes les souches identifiées. Pour cela nous avons utilisé une gélose Mueller Hinton (MH) dans une boîte de Pétris ensemencée par l'utilisation de l'écouvillon la suspension obtenue (3 à 5 colonies sont prélevées et dissociées dans 5ml d'eau distillée stérile) On assure la disposition de culture sur toute la boîte.

On disposera alors des pastilles d'antibiotiques différents (5 ,4 ,3 pour une boîte de Pétris) suivant la disposition du (figure 20). Après étuvage à 37 °C pendant 24 heures nous pouvons obtenir des diamètres sans bactérie (zone d'inhibition) autour des pastilles d'antibiotique. Selon le logiciel ATB Whonet 5,3 et les diamètres mesurés on a distingués des bactéries résistantes et d'autres sensibles ou intermédiaires.

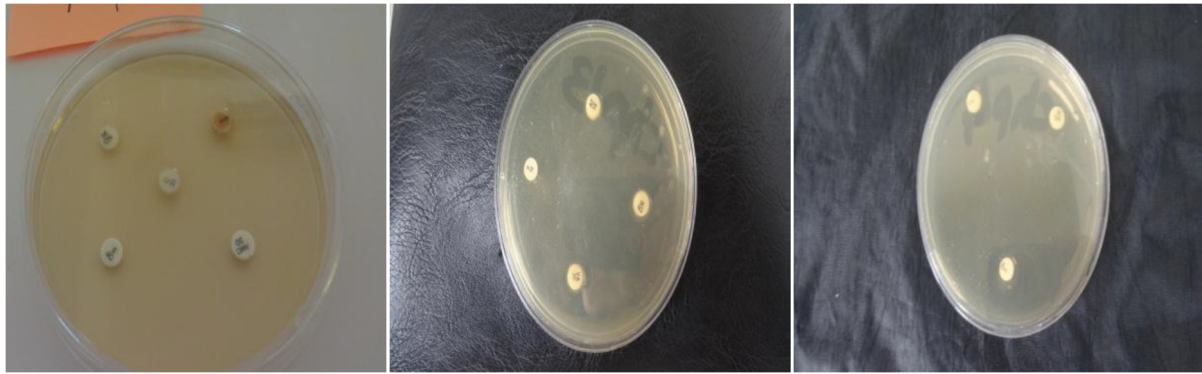


Figure 20 : La disposition des disques d'antibiotiques

Tableau 4 : Liste des antibiotiques utilisés

Entérobactéries	Streptococcus	Staphylococcus
Amoxicilline AMC. Chloramphénicol. Penicilline G Nitrofurantoïne Ofloxacine Rifamycine	Erythromycine Penicilline G Chloramphenicol Amoxicilline AMC. Nitrofurantoïne Ofloxacine	Amoxicilline AMC. Azithromysine Nitrofurantoïne Vancomysine Ofloxacine Penicilline G Rifamycine Chloramphenicol Céfalexine

4.8 Détection de la formation du biofilm

Vu la diversité bactérienne retrouvée dans les tubulures d'eau des fauteuils dentaire, seules les souches de staphylocoques seront retenues pour la suite de notre étude.

4.8.1 Méthode de plaque de culture de tissus(TCP)

La méthode TCP est un test quantitatif de la formation de biofilm, décrit par Christensen et al en 1985, dont les étapes sont les suivantes :

- Les bactéries sont cultivées dans un bouillon nutritif et incubées à 37°C pendant 24h,
- La culture est ajustée pour l'obtention de 10⁸ UFC/ml,

Matériels et méthodes

- Chaque puits de la plaque contient 150 μ l de bouillon nutritif et ensuite rempli avec 20 μ l de la dilution,
- La microplaque est recouverte, scellée stérilement et incubée pendant 24h à 37°C.
- Après l'incubation, les puits de la microplaque sont vidés, rincés 3 fois avec de 200 μ l d'eau distillée, séchés en position inversée, ensuite colorés avec 200 μ l de cristal violet et incubés pendant 30 min.
- Après l'incubation, éliminer l'excès du cristal violet par lavage avec 200 μ l d'eau distillée stérile.
- Le colorant incorporé par les cellules formatrices de biofilm est solubilisé par 200 μ l d'Éthanol.
- La quantité du cristal violet solubilisé est mesurée par la lecture de la DO à 570 nm et les souches sont classées selon les valeurs de la DO (tableau5).

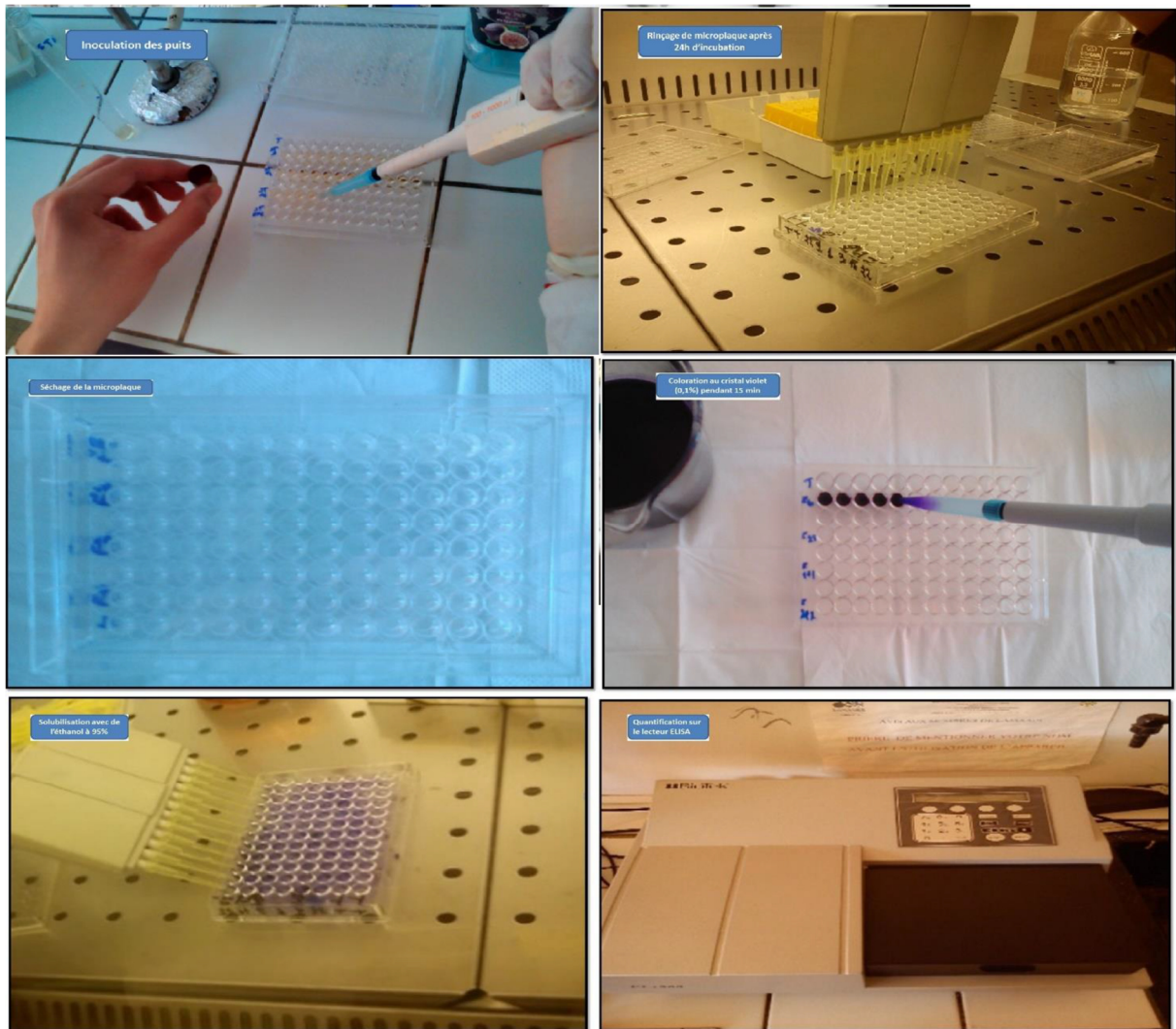


Figure21 : Les étapes de formation du biofilm par la technique TCP

Tableau 5 : Classification de l'adhésion des *Staphylocoque spp* (Mathur *et al.*, 2006)

Valeur DO	Formation de biofilm
<0,120	Faible
0,120-0,240	Modéré
>0,240	Forte

4.8.2 La méthode du Rouge Congo Agar (RCA)

La caractérisation phénotypique de la production de biofilm par production de slime a été réalisée par culture des isolats staphylococciques sur le milieu RCA. Cette technique proposée par (Freeman *et al.*, 1989) requiert l'utilisation d'un milieu solide préparé d'un bouillon cœur cerveau (BHIB) additionné de 5% de saccharose et de rouge Congo. Le milieu est composé de BHIB (37 g/l) de saccharose (50 g/L) d'agar agar (10 g/L) et de rouge Congo (0,8 g/L).

Le rouge Congo a été préparé séparément en solution aqueuse concentrée et autoclavée à 121°C pendant 15 minutes. Cette solution est ajoutée ensuite aux autres constituants du milieu (en surfusion à 55°C).

Le milieu ainsi préparé est ensuiteensemencé avec une anse d'une suspension de la souche bactérienne et incubé à 37°C pendant 24 heures.

Le rouge Congo interagit directement avec certains polysaccharides bactériens formant un slime et donnant des colonies noires sur milieu CRA contrairement aux colonies non productrices qui restent rouge (Nasr *et al.*, 2012).



CONCLUSION

Conclusion

L'unité de soins dentaire est un élément essentiel à la pratique de la chirurgie dentaire. Son utilisation présente toutefois un risque infectieux lié à de possibles contaminations externes par l'eau qui y circule, le système d'aspiration, ou encore via des dispositifs médicaux qui y sont connectés (notamment les porte-instruments dynamiques). Le problème principal des unités dentaires semble être la formation de biofilms à la surface des instruments dentaire et à l'intérieures des conduites d'eau. Les micro-organismes impliqués sont alors ceux des réseaux hydriques, mais également de l'environnement et des bactéries d'origine humaine.

Nous avons espéré terminer notre travail entamé dans ce mémoire dont le but été de mieux connaître les microorganismes isolés d'unités dentaires mais les conditions de sante actuelles suite à la pandémie du covid-19 nous avons empêché de mener au bout de cette étude.

Cependant, Les résultats de la pluparts des travaux effectués par d'autres (Amraoui et Benbachir, 2018), ont montré la présence dans les unités dentaires des bactéries essentiellement du genre staphylocoques à coagulase négatif suivi des souches d'origine hydrique tels que *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Mycobactéries atypiques*, *Klebsiella pneumoniae* et *Acinetobacter baumannii* qui sont toutes capable de former des biofilms dans les instruments d'unités dentaire. Ont montré la formation du biofilm réalisée par la méthode TCP donne un bon aperçu sur l'évaluation quantitative de l'adhésion bactérienne sur une surface.

Les résultats du contrôle bactériologique de l'eau des tubulures ont révélés que celle-ci était impropre à l'utilisation. 87 souches ont été isolées des 13 tubulures d'eau, celles-ci comprennent 56 bacilles à Gram négatif et 31/87 cocci à Gram positif. La production de biofilm chez les *staphylocoques* a été détectée chez 26/31 des isolats par TCP et 20/31 des isolats par la méthode de l'ARC (Iachachi, 2015).

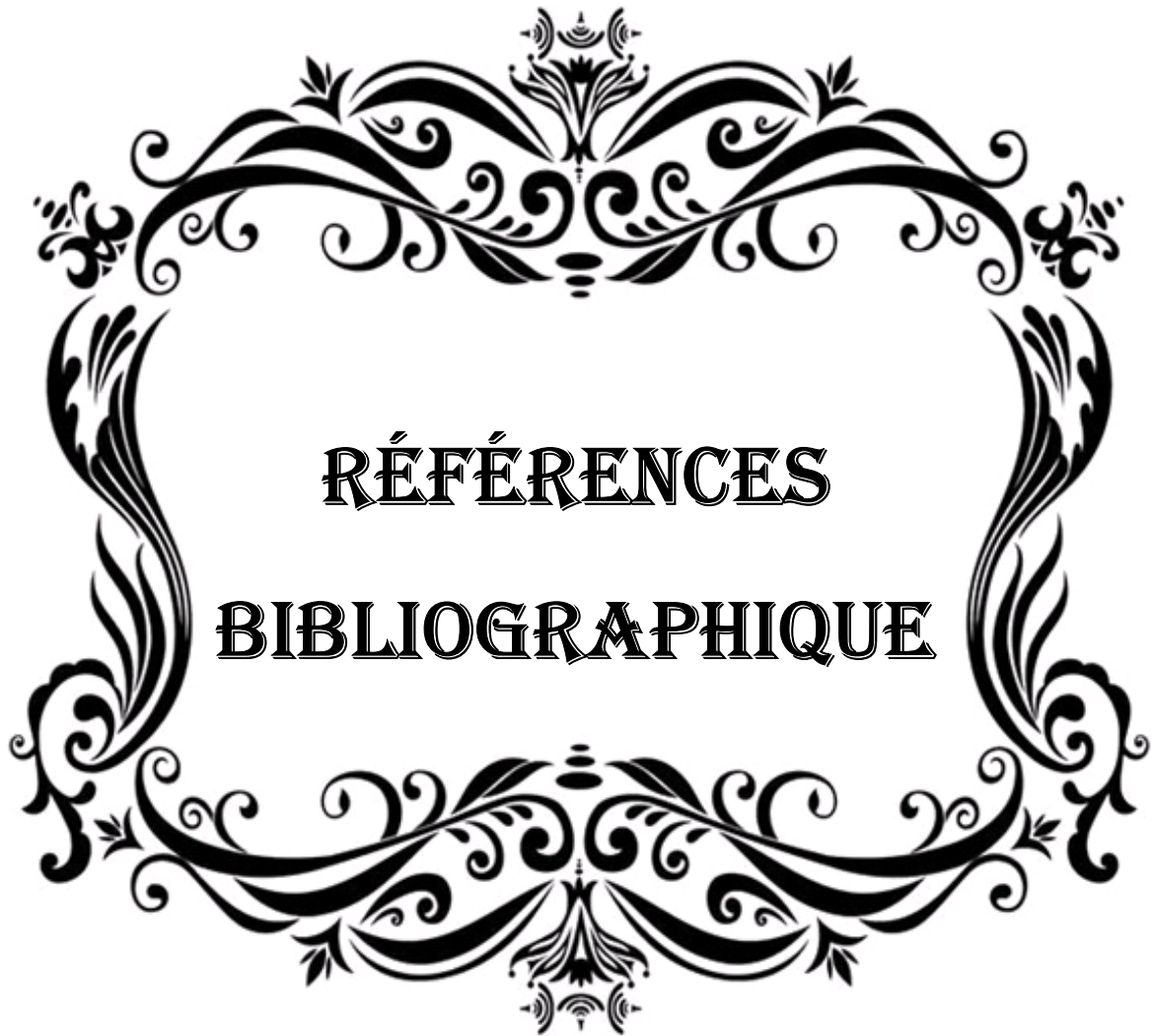
L'étude de leurs sensibilités aux antibiotiques a montrée que la majorité de ces bactéries isolées ont une résistance importante aux différents antibiotiques utilisés.

Conclusion

Ces résultats montrent aussi que L'exposition à long terme aux bactéries provenant d'unités dentaire et aux toxines qu'elles portent pourrait présenter un risque pour les patients et le personnel dentaire.

Les dentistes peuvent prendre des mesures pour réduire la présence de microorganismes dans les tuyaux provenant de l'unité dentaire en effectuant certaines opérations d'entretien principales tels que , purger chacune des conduites en faisant circuler l'eau après avoir enlevé les pièces à main , faire fonctionner les pièces à main à haute vitesse pendant 20 à 30 secondes après chaque patient de manière à en purger tout l'air et l'eau , surveiller régulièrement l'état microbiologique de l'eau dans les unités dentaires afin d'éviter la formation de biofilm à l'intérieur des tubulures, un rinçage de la bouche du patient juste avant le traitement dentaire avec une solution antiseptique diminue de façon significative le nombre de microorganismes , aérer le cabinet dentaire à la sortie de chaque patient pour diminuer la concentration des bioaérosols au niveau du cabinet dentaire , stériliser les dispositifs médicaux utilisés ainsi que les instruments rotatifs après chaque usage, et enfin le port de masque et de lunettes protectrices par le praticien lors des soins dentaires est nécessaire.

En guise de perspective de ce travail, il serait très intéressant de pouvoir approfondir l'étude sur l'inhibition de tous micro-organismes en mode biofilm dans les unités de soin dentaire pour éviter l'infection croisées dans en milieu dentaire. Nous proposons aussi de faire un traitement des unités de soin dentaires par un désinfectant pour stériliser l'eau circulant à l'intérieur des tubulures et les instruments de fauteuil dentaire cela permet d'éviter la colonisation des bactéries.



RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUE

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Al Maghlouth A., Al Yousef Y., Al Bagieh N (2004).** Qualitative and Quantitative Analysis of Bacterial Aerosols, *J Contemp Dent Prac*, 4 (5), 091-100.
- **Axelsson, P. (2000).** *Prediction of caries risk and risk profils in Diagnosis and risk prediction of dental caries.* Quintessence Books vol. 2.
- **Azizi, D. (2006).** *Cours national de microbiologie des eaux et des aliments.* Institut Pasteur d'Algérie.

B

- **Barbeau J., Gauthier C., Payment P. (1998).** Biofilms, infections agents, and dental unit waterlines: a review. *Canadian Journal of Microbiology*, 44, 1019-1028.
- **Barbeau J. (2007a).** Un monde merveilleux. *Journal de l'Ordre des dentistes du Québec*, 44, 517-524.
- **Barbeau J. (2007b).** Poursuite judiciaire contre un dentiste concernant une infection oculaire grave possiblement liée à l'eau de la turbine. *Journal de l'Association dentaire canadienne*, 7, 618-622.
- **Barbot V., Robert A., Rodier M., Imbert C. (2012).** Update on infectious risks associated with dental unit waterlines. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 65 : 196-204.
- **Bass, W.M. (2005).** *Human osteology - A laboratory and field manual.* Missouri Archaeological Society, 5th edition.
- **Bousseboua, H. (2003).** *Cours de microbiologie générale.* Université Mentouri Constantine. page:28-12 ISSN : 9947-0-0192-3
- **Bowen M., Greenwood C., Guevara C., Washington M. (2015).** Effectiveness of a Dental Unit Waterline Treatment Protocol With A-Dec ICX and Citrisil Disinfectants. *Military Medicine.*180 : 10-1098.
- **Buse HY., Lu J., Lu X., Mou X., Ashbolt NJ. (2014).** Microbial diversities (16S and 18S rRNA gene pyrosequencing) and environmental pathogens within drinking water biofilms grown on the common premise plumbing materials unplasticized polyvinylchloride and copper. *FEMS Microbiol Ecol.* 88 : 280 - 295.

C

- **Carbonnelle, D. and Kouyoumdjian, S. (1988).** Bactériologie médicale techniques usuelles. *Méd. Mal. Inf.* 251 p.
- **Choi J., Nam S. (2017).** A study on the dental unit chair waterline control status and management method. *Biomedical Research.* 12 : 5397-5401.
- **Chringle. (2011).** *Les milieux de culture en bactériologie*Flamarion.

Références bibliographiques

- **Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J., Baddour L.M., Barrett F.F., Melton D.M., Beachey E.H. (1985).** Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*. 22:996-1006.
- **Clement C,** 2019-2020. risque infection en médecine et chirurgie bucco-dentaire. « UE6-EC2 Hygiène-DFGSO3 » :6 -100.
- **Coleman C., O'Donnell J., Shore C., Russell J. (2009).** Biofilm problems in dental unit water systems and its practical control. *Journal of Applied Microbiology*. 106 : 1424-1437.
- Comité technique nationale des infections nosocomiales et des infections liées aux soins. 2006.
- **Costa D. (2015).** Analyse de l'écologie microbienne des conduites d'eau d'unités de soins dentaires du grand Poitiers. Thèse de doctorat Université Poitiers .Faculté de Médecine et de Pharmacie. Poitiers,france.
- **Costa D., bossard V., brunet K., fradin B., imbert C. (2017).** Planktonic free-living amoebae susceptibility to dental unit waterlines disinfectants. *Pathogens and disease*. 75 : 8.
- **Costa D., Mercier A., Gravouil k., Lesobre J. (2016).** Occurrence and diversity of both bacterial and fungal communities in dental unit waterlines subjected to disinfectants. *Pathogens and Disease*. 74 : 7.

D

- **Daddi Oubekka S. (2012).** Dynamique réactionnelle d'antibiotiques au sein des biofilms de *Staphylococcus aureus* Apport de la microscopie de fluorescence multimodale. Thèse de doctorat : Université Paris Sud XI Spécialité : Microbiologie. 190p.
- **Decoster. (2008).** *Les streptocoques* - Cours de Anne Decoster, FLM, page : 1 ; 6.
- **DelarrasC. (2007).** *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire*. Lavoisier. Editions TEC and DOC
- **Dogruöz., Sungur E., Göksay D., Türetgen I. (2012).** Evaluation of microbial contamination and distribution of sulphate-reducing bacteria in dental units. *Environ Monit Assess*. 184 : 133-139.
- **Dutil S., Duchaine C (2006).** Nettoyage dentaire : risque d'exposition aux bioaérosols. VOL. 29, 2.
- **Dutil S., Veillette M., Mériaux A., Lazure L., Barbeau J., Duchaine C. (2007).** Aerosolization of mycobacteria and legionellae during dental treatment: low exposure despite dental unit contamination. *Environmental Microbiology*, 9, 2836-2843.

Références bibliographiques

E

- **Eaton, A.D., Clesceri, L.S. et Greenberg, A.E. (1995).** *Méthodes normalisées d'examen des eaux et eaux usées.* 19 e éd. Association américaine de santé publique, Washington, D.C.
- **Edouard S, Haddad V, Calcagno F. 2011.** *Infectiologie-Pharma Memo.* Ed : Vernazobres.
- **Elliott, T., Casey, A., Lambert, P.A., Sandoe, J. (2012).**lecture notes: Medical Microbiology and infection Wiley, Edition 2 288p.
- **Etienne O. (2004).** Développement d'interfaces a propriétés antimicrobiennes par la fonctionnalisation de multicouches de polyelectrolytes .Thèse de doctorat : Université Louis Pasteur Strasbourg d'Odontologie .221p

F

- **Flous E (2017).** Contaminations croisées : comment les éviter.

G

- **Goksay D., Cotuk A., Zeybak Z. (2008).** Microbial contamination of dental waterlines in Istanbul, turkey. *Environ monit assess.* 147 : 265-269.
- **Guillaume, P.Y. (2004).** *Les milieux decultures* 32.

I

- **ISO7494-1 :** Médecine bucco-dentaire-unités dentaires-partiel: exigences générales et méthodes d'essai international standard organisation .2011.

J

- **Joffin, J., J N and Leylor, G. (2001).** *Microbiologie technique 1 :* dictionnaire des techniques. 3eme éditions ; CRDP d'aquitaine ; page 320
- **Joseph, P.G., (2003).** *Microbiologie alimentaire,* 3émeéditiondunob, paris p 678.

K

- **Kadaifciler G., Ökten S., Sen B. (2013).** Mycological contamination in dental unit waterlines in Istanbul, Turkey. *Brazilian Journal of Microbiology.* 44 : 977-981.
- **Khadre R. (2015).** contrôle de la qualité de l'eau des unités dentaires du cctd de Casablanca. Thèse de doctorat Université Hassan 2. Faculté de médecine dentaire - Casablanca.

Références bibliographiques

- **Kumar S., Atray D., Paiwal D., Balasubramanyam D., buranwamy P., kulkarni S. (2010).** Dental unit waterlines: source of contamination and cross-infection. *Journal of Hospital Infection.* 74 : 99-111.

L

- **Liaqat I., Sabri A. (2011).** Biofilm Dental Unit Water Line and its control. *Clinical and experimental microbiology.* 1 : 12-0.**Lin M., Svoboda K., Giletto A., Seibert J., Puttaiah R. (2011).** Effects of Hydrogen Peroxide on Dental Unit Biofilms and Treatment Water Contamination. *European Journal of Dentistry.* 5 : 47-59.

M

- **Mathilde R. (2015).** Les soins dentaires: Enquête auprès d'étudiants en Sciences Pharmaceutiques. Thèse de doctorat Université Poitiers .Faculté de Médecine et de Pharmacie. Poitiers-France.
- **Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay DJ., Fatma T., Rattan A. (2006).** Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology.* 24:25-29.
- **Michael, J. 2000.** "Risque de transmission bactérienne dans le cabinet dentaire," J Can Dent Assoc 2000; 66:550, 552, N°66 (Novembre).
- **Ministère de la santé, de la jeunesse et des sports-contact presse-. Jan 2008.** Les infections nosocomiales : nouvelles mesures & classement des établissements de santé (en ligne).
- **Ministère de la santé et des sports.** « infections nosocomiales ». Décembre 2009.P3.

O

- **OFFNER D DEBOSCHER S BELOTTI L BRISSET L LAVIGNE T MUSSET A.M.**-élaboration et évaluation d'un protocole d'entretien des unités et fauteuils dentaire (ADEC et Planmeca) aux Hopitaux universitaires de stasbourg.Hygiènes 2013 :21(2) :21-2018.

P

- **Poisson A. (2011).** CORRODYS – Laboratoire de microbiologie/biocorrosion –Cherbourg.
- **Porteous J., Sun Y., Schoolfield J. (2015).** Evaluation of 3 dental unit waterline contamination testing methods. *Gen Dent.* 63 : 41-47.

Références bibliographiques

- **Portous J., Dang S., Schoofield J., Sun Y. (2018).** Evaluation of the Antimicrobial Functions of N-halamine Dental Unit Waterline Tubing for One Year .*clin dental*. 1 : 19-22.

R

- **Ramalingam K., Frohlich N., Lee AV. (2013).** Effect of nanoemulsion on dental unit waterline biofilm. *Journal of Dental Sciences*. 8 : 333-336.
- **Raghunath N, Meenakshi S, Sreeshyla H.S and Priyanka N (2016),** Aerosols in Dental Practice- A Neglected Infectious Vector. *British Microbiology Research Journal*, 14(2), 1-8.
- **Renaud J., Gonzalez M., Meunier O., Musset A., Mathis R., Haikel Y. (2009).** Contamination bactérienne des réseaux d'eau au cabinet de chirurgie dentaire. *Revue Belge de Médecine Dentaire*. 64 : 1-4.
- **Richaud-Morel B., Boudot E., Arlin L.R., Perrin C., Faoro B. (2011).** Prévention des infections associée aux soins en chirurgie dentaire dans les établissements de santé. *CCLIN Sud- Ouest*, 1-12.
- **Rocha S., Martinez P., Gonçalves S., Urrutia M., Carlesse F., Seber A., Silva M., Petrilli A.,Colombo A. (2013).** The water supply system as a potential source of fungal infection in paediatric haematopoietic stem cell units. *BMC Infectious Diseases*. 13 : 289.
- **Rodrigues S., suvarna S., suvarna J., Saralaya V., Saldanha S., shenoy K. (2017).** Microbial assessment of dental unit waterlines in an institutional setup in Karnataka, South India. *Indian J Dent Res*. 28 : 555-559. **Rouaiguia, M. (2010).** *Qualité micrbiologique de l'eau d'Oued Messida*. Mémoire de master 2. Université 8 mai 1945 Guelma.78p. 64 .

S

- **Salam N., Mulamoottil V., George B. (2017).** Assessment of microbial contamination in dental unit waterLines an analytical tudy. *Indian Association of Public Health Dentistry*. 5 : 97-101.
- **Santé DGD.L.** Guide de prévention des infections liées aux soins réalisés en chirurgie dentaire et stomatologie. Ministère de la santé et des solidarités, Direction générale de la santé, Conseil supérieur d'hygiène publique de France, Deuxième édition.juin 2006.Simain s., Rompen E., Heinen E., 2010, biofilm bactériennes et médecine dentaire.
- **Stewart P. S, Costerton J .W. (2001).** Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* .358: 135-138.
- **Stewart P.S. (1996).** Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 40: 2517–22.
- **Szymańska J.** Evaluation of mycological contamination of dental unit waterlines. *Ann Agric Environ Med*. 2005;12(1):153-5.

Références bibliographiques

V

- **Valster RM., Wullings BA., Bakker G., Smidt H., Kooij D. (2009).** Free-living protozoa in two unchlorinated drinking water supplies, identified by phylogenetic analysis of 18S rRNA gene sequences. *Appl Environ Microbiol.* 75 : 4736-4746.
- **Velvez S. 2012.** “Staphylococcus aureus.” Encyclopedia of life. <http://eol.org/>.
- **Vincent, A. (2008).** *Infection associées aux soins définition, fréquences et facteurs de risque.* Laprugne-GARCIA E, Saint genislaval.CCLIN sud-est.CCLIN, p5.
- **Vogeleer P, Tremblay YD, Mafu AA, Jacques M, Harel J.** Life on the outside: role of biofilms in environmental persistence of Shiga-toxin producing Escherichia coli. *Front Microbiol.* 2014;5:317.

Z

- **Zhang Y., Ping Y., Zhou R., Wang J., Zhang G. (2017).** High throughput sequencing-based analysis of microbial diversity in dental unit waterlines supports the importance of providing safe water for clinical use. *Journal of Infection and Public Health.* 822 : 7.