

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA -1-



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département de biologie

Projet de Fin d'Études

Pour l'obtention du diplôme de Master en : Sciences Biologiques.

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Thème

**Isolement et identification de la flore buccale chez les patients porteurs
d'appareils orthodontiques fixes**

Réalisé par :

M^{lle}. MAHREZ Nesrine

Devant le jury :

Mme EDDAIKRA A.	MCA	Université de Blida-1-	Présidente
Mme AIT SAADI N.	MCA	Université de Blida-1-	Examinatrice
Mme ZEROUTI K.	MCB	Université de Blida-1-	Promotrice
Mme Henni FZ.	Doctorant	Université de Blida-1-	Co-Promotrice

Année universitaire 2024-2025

Remerciements

Nous remercions tout d'abord le bon Dieu « ALLAH », le Tout puissant de nous avoir aidés à réussir ce travail.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à l'ensemble du membre de jury :

*Nous tenons à gratifier **Mme. EDDAIKRA A** D'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à **Mme. AIT SAADI N** Pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de le juger.*

*Nous remercions également notre promotrice **Mme. ZEROUTI K** et notre Co-promotrice **Mme. HENNI** Pour leur encadrement et leur conseils avisés tout au long de ce travail.*

*Remerciements particuliers à **Mme AMMALI** pour son aide et ses précieux conseils.*

*Nous tenons à adresser nos sincères remerciements à **Mr. TEFFAHI** pour son soutien, sa gentillesse, ses conseils et son aide précieuse, son engagement et ses encouragements ont grandement été d'une grande aide tout au long de ce travail.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à **Dr Mustapha** pour la générosité de son soutien et la sincérité de sa gentillesse, sa bienveillance et ses conseils avisés tout au long de ce travail. Sa disponibilité, sa pédagogie et son engagement à transmettre son savoir ont été d'une aide précieuse et ont grandement contribué à la réussite de ce projet.*

Nous remercions sincèrement les assistantes pour leur disponibilité, leur aide précieuse et leur collaboration tout au long de ce travail.

Enfin, nous exprimons notre profonde gratitude à nos familles ainsi qu'à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes parents et ma famille pour leur soutien

A mon frère Et ma sœur et ma belle sœur

A mes oncles et à mes tantes

A ma chère grand-mère

A mes cousins et cousines

Et à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin.

Nesrine.

Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction..... 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. La cavité buccale	2
I.1 Définition et anatomie.....	2
1. Les dents.....	2
2. Le parodonte	2
2.1. La gencive.....	3
3. La langue.....	3
I.1.1 La flore buccale	4
I.2.1. Le développement de la microbiote buccale.....	4
I.3 Ecosystème microbien de la cavité buccale	5
I.3.1 Paramètres de l'hôte affectant la colonisation microbienne buccale.....	6-7
I.3.2 La distribution des bactéries buccale	8
I.4 Les types d'orthodontie.....	9
I.4.1 Impact de l'orthodontie sur la microflore buccale	10
I.5 Les maladies buccales due aux microorganismes buccaux.....	11
I.5.1 Les maladies parodontales	11

1) Gingivite	11
2) Parodontite	11
I.5.3 Prévention des maladies parodontales	11
I.6 Les maladies linguales	13
I.6.1 La candidose	13
I.6.2 Les facteurs de risque	13-14

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes	15
I.1 Matériel	15
I.1.1 Matériel biologique	15
I.1.2 Matériel non biologique	15
I.2 Méthodes	15
I.2.1. Critères d'inclusion	15
I.2.2 Techniques d'échantillonnage et de collecte	15
I.2.3. Examen macroscopique et enrichissement des prélèvements	17
I.2.3 Examen microscopique	17
I.2.3.1 Etat frais	17
I.2.4 Mise en culture	18
I.2.5 Examen macroscopique après culture	18
I.2.5.1 Examen microscopique après culture	18
A) Etat frais	18
B) Coloration de Gram	19
I.3 Test d'orientation rapide	19

I.3.1 Test de Catalase.....	19-20
I.4 Identification biochimique	20
I.5 Antibiogramme	21
1) Choix de milieu	21
2) Technique de diffusion des disques	22-23

CHAPITRE II : Résultats et discussion

II.1 Données épidémiologiques.....	24
II.1.1 Prélèvements salivaires.....	24
1.1.1 Sexe.....	24
1.1.2 Taux de positivité.....	25
II.2 Résultats de l'observation macroscopique pour l'identification morphologique des souches isolées	25
II.3 Résultats de l'observation microscopique	25
3.1 Coloration de Gram.....	28
II.4 Test d'orientations	29
4.1 Test de catalase	30
II.5 Résultats de l'identification biochimique	31
A) Identification des bactéries Gram négative par la galerie API 20 E.....	31
II.6 Profil de résistance aux antibiotiques	32-33
III.6.1 Détection et évaluation de la formation de biofilm	34
<i>Conclusion</i>	36
<i>Références bibliographiques</i>	38
<i>Annexes</i>	44

Listes des tableaux

Tableau I. Composition du microbiome oral chez un adulte sain	6.
Tableau II. Distribution des bactéries selon les zones de la cavité buccale	8.
Tableau III. Observation macroscopique des colonies isolées.....	26
Tableau IV. Résultats des galerie API 20 E.....	31
Tableau V. Résultats de la production de biofilm par la méthode RCA	34

Listes des figures

Figure 1. La cavité buccale.....	2.
Figure 2. Schéma montrant les repères anatomiques de la gencive	3
Figure 3. Schéma montrant les repères anatomiques de la langue	3
Figure 4. Plaque dentaire présente chez des patients portant l'appareil dentaire fixe.....	10
Figure 5.	11
A) Gencive cliniquement saine chez un jeune adulte.....	11
B) Hyperplasie gingivale liée à la prise d'Adalat®	11
C) Gingivite bactérienne aggravée par la présence d'un appareillage orthodontique.....	11
Figure 6. Parodontite moyenne de l'adulte (à gauche) et Parodontite sévère de l'adulte (à droite), Schéma montrant la différence entre une gencive saine (à gauche) et une parodontite (à droite)	12
Figure 7. Candidose aiguë palatine (à gauche) et une langue villeuse noire avec surinfection candidosique (à droite)	14
Figure 8. Organigramme des différentes étapes d'identification des <i>Enterobacteriaceae</i> et de <i>Staphylococcus aureus</i>	16
Figure 9. Organigramme de l'examen macroscopique après culture	18
Figure 10. Antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé.....	23
Figure 11. Répartition des prélèvements salivaires selon le sexe.....	24
Figure 12. Taux de prélèvements salivaires positive	25
Figure 13. Aspect macroscopique des colonies sur les milieux Chapman et Hektoen	27
Figure 14. Observation microscopique après coloration de Gram (Gx 100)	28
Figure 15. Répartition des prélèvements selon le Gram	28
Figure 16. Répartition des bactéries isolées de la cavité buccale.....	29
Figure 17. Test de catalase.....	30
Figure 18. Répartition des prélèvements selon le Gram chez les patients non orthodontiques.....	32
Figure 19. Résultats de l'antibiogramme	33
Figure 20. Résultats de RCA	34

Listes des abréviations

ADH : Arginine déshydrogénase

AMC : Amoxicilline-acide clavulanique

BHIB : Brain Heart Infusion Broth

CIT : Citrate

CTX : Cefotaxime

CX : Cefoxitine

CZ : Céfazoline

DA : Clindamycine

CN : Gentamycine

C : Chloramphénicol

E : Erythromycine

FA : Acide fusidique

GEL : Gélatinase

IND : Indole

LDC : Lysine décarboxylase

LPS : Lipopolysaccharides

McF : Mac Farland

MH: Mueller Hinton

ODC: Ornithine décarboxylase

ONPG: L'orthonitrophenyl--galactoside (ou 2-nitrophenyl-B-D-galactopyrannoside)

RIF : Rifampicine

TDA : Tryptophane désaminase

URE : Urée

VP : Voges-Proskauer

VA : Vancomycine

RCA : Rouge Congo Agar

Résumé

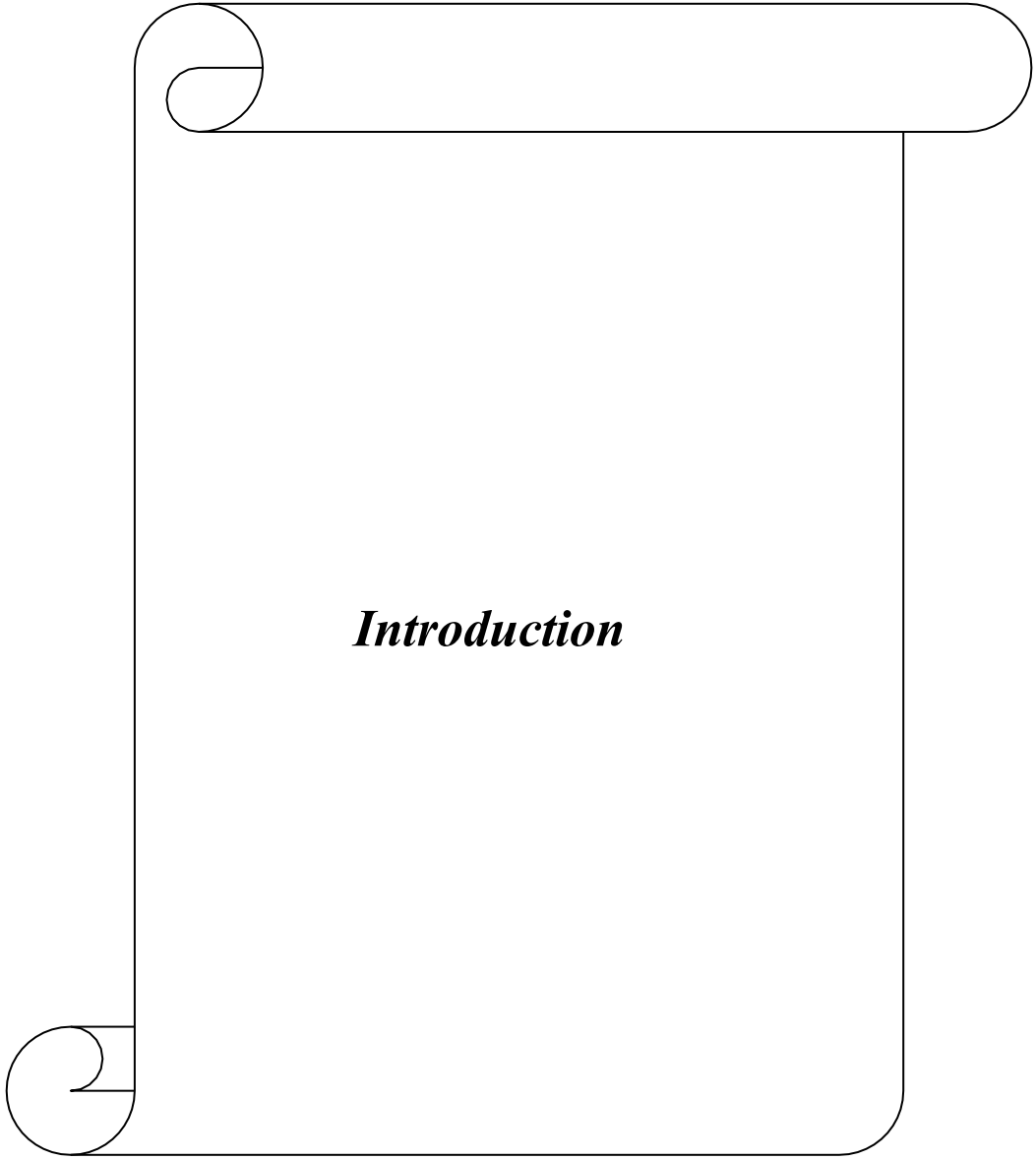
Le traitement orthodontique, en particulier avec des appareils fixes, peut perturber l'équilibre de la microflore buccale en favorisant l'accumulation de biofilms et en créant des conditions favorables à la prolifération de micro-organismes pathogènes. Cette étude a pour but d'isoler et d'identifier les principales espèces bactériennes chez les patients soumis à un traitement orthodontique. Au total, 60 échantillons ont été prélevés sur 30 individus dans deux sites intra-oraux : les gencives et la langue. L'analyse microbiologique, réalisée à l'aide de milieux de culture sélectifs, de la coloration de Gram et de tests biochimiques, a révélé une prédominance de bactéries à Gram négatif telles que *Klebsiella spp*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes* et *Flavimonas oryzihabitans*. Des bactéries à Gram positif telles que *Staphylococcus aureus* ont également été fréquemment isolées. Ces micro-organismes opportunistes sont fortement associés aux maladies bucco-dentaires observées chez les patients étudiés, notamment les caries dentaires, la gingivite et les premiers signes de parodontite. Plusieurs souches isolées ont montré une résistance significative à certains antibiotiques, soulignant l'importance d'un suivi ciblé et d'une utilisation rationnelle des traitements antimicrobiens. Ces résultats soulignent la nécessité de renforcer les mesures préventives, y compris une hygiène bucco-dentaire rigoureuse, des visites dentaires régulières et un suivi microbiologique tout au long du traitement orthodontique.

Mots-clés : Orthodontie, cavité buccale, microflore buccale, gingivite, parodontite, antibiotiques.

Abstract

Orthodontic treatment, particularly with fixed appliances, can disrupt the balance of the oral microflora by promoting biofilm accumulation and creating conditions favorable to the proliferation of pathogenic microorganisms. This study aims to isolate and identify the main bacterial species in patients undergoing orthodontic treatment. A total of 60 samples were collected from 30 individuals at two intraoral sites: the gums and the tongue. Microbiological analysis, performed using selective culture media, Gram staining, and biochemical tests, revealed a predominance of Gram-negative bacteria such as *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, and *Flavimonas oryzihabitans*. Gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus* were also frequently isolated. These opportunistic microorganisms are strongly associated with oral diseases observed in the studied patients, including dental caries, gingivitis, and early signs of periodontitis. Several isolated strains showed significant resistance to certain antibiotics, highlighting the importance of targeted follow-up and rational use of antimicrobial treatments. These findings emphasize the need for reinforced preventive measures, including rigorous oral hygiene, regular dental visits, and microbiological monitoring throughout the orthodontic treatment.

Keywords: Orthodontics, Oral cavity, Oral microflora, Gingivitis, Periodontitis, Antibiotics.



Introduction

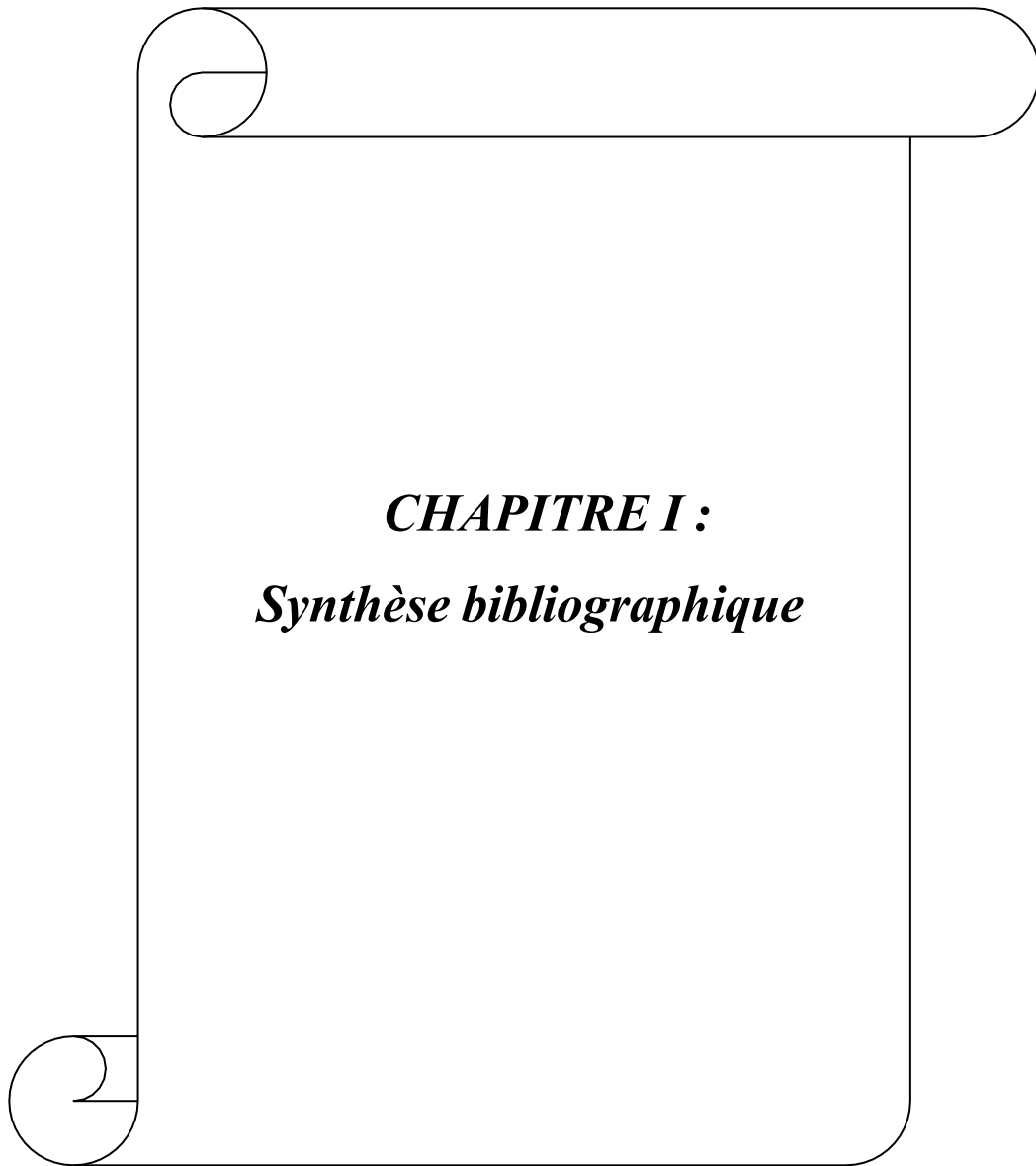
Introduction

La cavité buccale constitue une composante essentielle du microbiome humain, car elle représente l'un des sites les plus densément colonisés par des micro-organismes. Grâce aux méthodes moléculaires récentes, plus de 700 espèces supplémentaires ont pu être isolées. La cavité buccale abrite une microflore diversifiée comprenant notamment des bactéries, des champignons, des mycoplasmes, des protozoaires, et possiblement des virus, les bactéries en étant le groupe prédominant. Des communautés microbiennes distinctes s'établissent sur les différentes surfaces de la cavité orale muqueuse linguale, muqueuse jugale, surfaces dentaires, sillons gingivaux, ainsi que sur les surfaces artificielles comme les prothèses et les appareils en raison de la diversité environnementale propre à cet écosystème **(Sanketh & Amrutha, 2013)**.

Ces microorganismes coexistent et interagissent au sein de cet environnement, se présentant généralement sous la forme d'un biofilm multi-espèces transitant via la salive **(Khelaifia et al., 2023)**. Il joue un rôle essentiel en empêchant la colonisation par des bactéries extérieures potentiellement nuisibles à la santé systémique. Toutefois, certaines pathologies bucco-dentaires fréquentes telles que les caries, la gingivite et la parodontite trouvent leur origine dans des déséquilibres ou des perturbations de cette flore microbienne **(Arweiler et Netuschil, 2016)**.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés à l'analyse de la microflore buccale chez les patients porteurs d'appareils orthodontiques fixes, en poursuivant les objectifs suivants :

- L'isolement et l'identification de la flore buccale chez les patients portant les appareils dentaire fixes à partir de 2 sites : la gencive et la langue.
- Évaluer le profil de résistance aux antibiotiques du microbiote buccal *vis-à-vis* de l'antibiotique sélectionné.



CHAPITRE I :
Synthèse bibliographique

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Cavité buccale

I.1.1. Définition et anatomie

La cavité buccale, en communication avec l'extérieur, se caractérise par un environnement humide, une température stable comprise entre 34 et 36 °C, ainsi qu'un pH proche de la neutralité (Chardin, 2002). Elle est composée de ses structures anatomiques principales suivantes : Les dents ; La langue ; La gencive ; Les muqueuses buccales et les glandes salivaires (Figure 1).

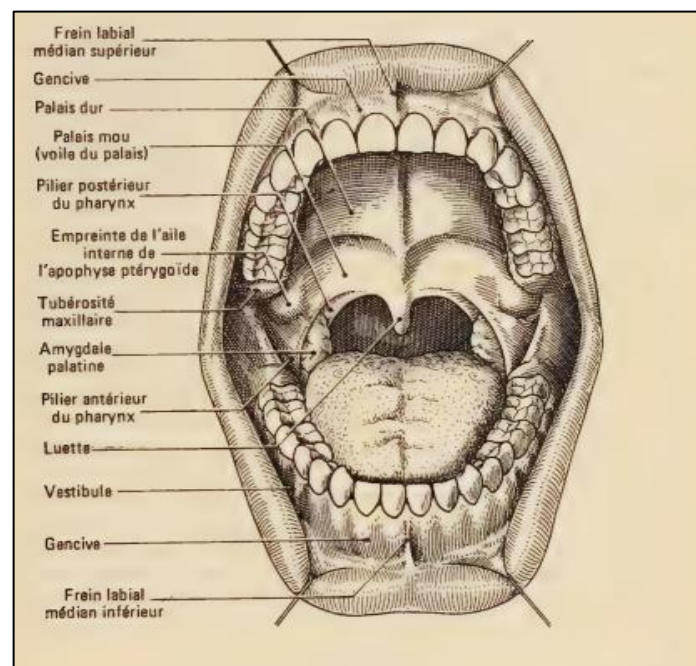


Figure 1. La cavité buccale (Lautrou, 1997).

- **Les dents**

Organe minéralisé inséré dans le maxillaire, dont seule une partie émerge à la surface, Les dents jouent un rôle essentiel dans la mastication, première étape du processus de digestion (Larousse médicale, 2012).

- **Le parodonte**

Le parodonte regroupe l'ensemble des structures qui assurent la fixation et le soutien de la dent aux maxillaires. Il se divise en deux parties : le parodonte profond, composé de l'os alvéolaire, du ligament alvéolodentaire (ou desmodonte) et du cément ; et le parodonte superficiel, représenté par la gencive (Larousse médicale, 2012).

- **La gencive**

La gencive est un tissu de la muqueuse buccale qui recouvre les faces internes et externes des os maxillaires. Elle forme une bande continue de 2 à 4 millimètres de large autour des dents. Sa surface kératinisée joue un rôle protecteur en empêchant la pénétration des microbes au niveau de sa jonction avec la dent. Une gencive saine se caractérise par une consistance ferme et une couleur rose pâle. **(Figure 2) (Larousse médicale, 2012).**

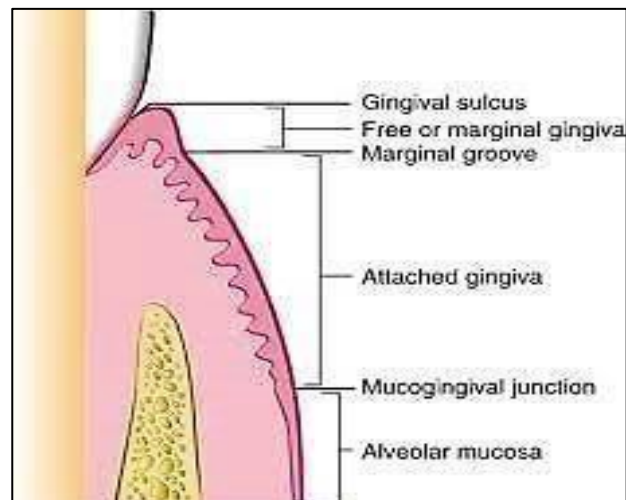


Figure 2. Schéma montrant les repères anatomiques de la gencive **(Larousse médicale, 2012).**

- **La langue**

Organe qui intervient dans des fonctions aussi diverses qu'essentielles, comme la mastication, le goût et la parole **(Figure 3) (Vigarios et al., 2015).**

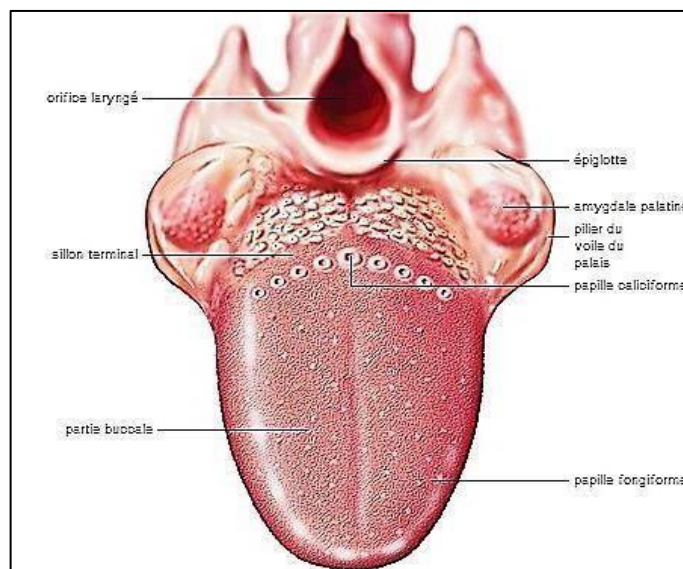


Figure 3. Schéma montrant les repères anatomiques de la langue. **(Larousse médicale, 2012).**

I.1.2. Flore buccale

Les termes « microbiome buccal », « microbiote buccal » ou « microflore buccale » font spécifiquement référence à la communauté de micro-organismes résidant dans la cavité buccale humaine (Deo et Deshmukh, 2019).

La cavité buccale abrite plus de 700 espèces de bactéries qui jouent un rôle essentiel dans le maintien de la santé bucco-dentaire et du bien-être général de l'organisme (Sulaiman et al., 2024).

Le microbiome humain se compose d'un microbiome de base et d'un microbiome variable. Le microbiome de base est commun à l'ensemble des individus, tandis que le microbiome variable est propre à chacun, en fonction du mode de vie et des différences physiologiques (Deo et Deshmukh, 2019).

I.1.3. Développement de microbiome buccal

Généralement, la cavité buccale du nouveau-né est stérile malgré le risque élevé de contamination. Dès la première tétée, la bouche est régulièrement inoculée par des micro-organismes, marquant le début du processus d'acquisition de la microflore orale résidente (Deo et Deshmukh, 2019).

La colonisation débute dès la naissance ou peu après, avec l'apparition des premières espèces dites « pionnières », telles que *Streptococcus salivarius*. Au cours de la première année de vie, la flore buccale se diversifie, dominée principalement par des bactéries aérobies comme *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Neisseria* et *Veillonella*. Ils constituent les éléments clés du microbiome oral de base (Deo et Deshmukh, 2019).

Avec l'apparition des premières dents, des bactéries anaérobies comme *Porphyromonas*, *Prevotella* et *Fusobacterium* deviennent dominantes, du fait des conditions sans oxygène dans le sillon gingival (Bostanghadiri et al., 2024).

Avec l'éruption des premières dents, Il y aura une prédominance des anaérobies tels que *Porphyromonas*, *Prevotella* et *Fusobacterium*, en raison du caractère anaérobie du sillon gingival, Au cours du développement dentaire, *Streptococcus parasangis* et *S. mutans* s'implantent sur l'émail, tandis que *S. salivarius* colonise les surfaces épithéliales buccales et gingivales, ainsi que la salive, Ces streptocoques synthétisent un glycocalyx ainsi que différents facteurs d'adhésion qui facilitent leur fixation aux surfaces buccales, Leur présence

favorise la formation de la plaque dentaire et participe au développement des caries, des gingivites et des parodontites (**Prescott et al., 2003**).

Au fil de l'évolution humaine, divers changements environnementaux ont profondément influencé la composition du microbiome. Des étapes majeures comme le développement de l'agriculture, la consommation d'aliments transformés (notamment le sucre raffiné après la révolution industrielle) et l'introduction des antibiotiques ont entraîné des transformations significatives de notre microbiome (**Kilian et al., 2016**).

I.1.3 Ecosystème microbien de la cavité buccale

La bouche représente un environnement unique au sein du corps humain, abritant plus de deux cents genres et espèces différentes de bactéries. Cette spécificité s'explique par son écosystème particulier. En effet, la diversité des conditions présentes dans la cavité buccale agit comme un filtre naturel, influençant le développement et la présence de certaines bactéries adaptées spécifiquement à cet environnement. (**Bercy et Tenenbaum, 1996**).

Chez l'adulte en bonne santé, la cavité buccale renferme deux types de tissus : d'une part, des muqueuses dont le degré de kératinisation varie selon leur localisation (langue, joues, gencives, lèvres, vestibule...) ; d'autre part, un tissu minéralisé dur, l'émail dentaire. Ces structures sont immergées dans le fluide buccal et abritent une flore microbienne commensale (**Chardin, 2002**).

Le maintien de l'équilibre dans la cavité buccale, ou homéostasie, dépend de l'interaction entre trois éléments étroitement liés : la flore microbienne, l'organisme hôte et des influences extérieures (**Chardin, 2002**).

Les principaux genres bactériens présents dans une cavité buccale saine sont les suivants (**Tableau I**) :

La cavité buccale abrite une grande diversité de micro-organismes, incluant des protozoaires, des champignons et des virus. Les protozoaires les plus fréquemment rencontrés sont *Entamoeba gingivalis* et *Trichomonas tenax*, principalement de nature saprophyte. Parmi les champignons, les espèces du genre *Candida* sont les plus couramment associées à la cavité buccale (**(Deo et Deshmukh, 2019)**).

Tableau I. Composition du microbiome oral chez un adulte sain (Sulaiman et al., 2024).

Gram	Forme	Genres bactériens
Gram positif	Coques	<i>Abiotrophia, Peptostreptococcus, Streptococcus, Stomatococcus</i>
	Bâtonnets	<i>Actinomyces, Bifidobacterium, Corynebacterium, Eubacterium, Lactobacillus, Propionibacterium, Pseudoramibacter, Rothia</i>
Gram négatif	Coques	<i>Moraxella, Neisseria, Veillonella</i>
	Bâtonnets	<i>Campylobacter, Capnocytophaga, Desulfobacter, Desulfovibrio, Eikenella, Fusobacterium, Haemophilus, Leptotrichia, Prevotella, Selenomonas, Simonsiella, Treponema, Wolinella</i>

I.2 Paramètres de l'hôte affectant la colonisation microbienne buccale

✓ Température

Les variations de température peuvent influencer les microbes buccaux, car elles affectent la synthèse de régulateurs globaux de l'expression génétique chez les bactéries, appelés régulateurs transcriptionnels (comme les facteurs sigma). Ces protéines régulatrices contrôlent ensuite l'expression des protéines dites de choc thermique (Lamont et al., 2013).

✓ pH

Une exposition fréquente à des conditions de pH bas perturbe l'équilibre microbien et favorise la prolifération de bactéries acidogènes et acidurantes, ce qui augmente le risque de formation de caries dentaires (Marsh, 2003).

✓ La salive

La salive contient des peptides, des vitamines, des acides aminés, des glycoprotéines et des protéines. Ces composants offrent ainsi aux micro-organismes buccaux des nutriments essentiels issus de la salive, favorisant leur croissance et leur développement (Bostanghadiri et al., 2024).

✓ Age de l'hôte

Les conditions écologiques d'une niche buccale peuvent évoluer en fonction de l'âge de la personne (**Chardin, 2002**). Le déclin naturel de l'immunité lié au vieillissement peut également contribuer aux modifications de la composition de la microflore buccale (**Xu et al., 2014**).

✓ L'alimentation

Depuis les années 1960, le passage à une alimentation de type occidental, riche en viande d'élevage, produits sucrés, huiles raffinées et céréales transformées, a entraîné des modifications nuisibles du microbiote oral, avec une augmentation des bactéries acidogènes et acidotolérantes (**Bostanghadiri et al., 2024**).

✓ L'hygiène orale

La fréquence du brossage influence la diversité du microbiote oral, tandis que l'utilisation du fil dentaire agit principalement sur les bactéries présentes entre les dents. De plus, la gomme à mâcher peut modifier la composition du microbiote buccal. Quant aux bains de bouche, leurs effets sont variables, mais ceux contenant des agents antimicrobiens actifs comme la chlorhexidine gluconate ont un impact significatif sur la composition du microbiote oral (**Weyrich, 2020**).

✓ Le tabagisme

La fumée de cigarette contient de nombreux agents toxiques entrent directement en contact avec les bactéries buccales. Ces substances peuvent perturber l'écologie microbienne de la cavité orale en exerçant des effets similaires à ceux des antibiotiques, en provoquant une privation d'oxygène ou par d'autres mécanismes potentiels (**Wu et al., 2016**).

✓ Le port de prothèses

La flore cultivable des prothèses dentaires amovibles révèle une communauté bactérienne complexe. Cela confirme la possibilité d'une contamination microbienne, les prothèses amovibles agissant comme des réservoirs hébergeant un biofilm bactérien composé de plusieurs espèces (**Nair et al., 2016**).

I.3. Distribution des bactéries buccale

La distribution des bactéries buccales varie selon les différentes surfaces de la cavité orale, en fonction de l'oxygénation, du pH, de la disponibilité en nutriments et des caractéristiques des tissus. Les espèces d'*Actinomyces* colonisent les tissus durs en proportions beaucoup plus élevées comme *Actinomyces naeslundii*. (Mager et al., 2003).

Cependant, Les tissus mous (gencives, langue, joues) conviennent mieux à des espèces comme *Streptococcus mitis*, *Eubacterium saburreum* et *Prevotella melaninogenica*. À l'opposé, La plaque sous-gingivale (environnement anaérobie sous la ligne gingivale) abrite des pathogènes parodontaux tels que *Tannerella forsythia*. (Tableau II) (Mager et al., 2003).

Tableau II. Distribution des bactéries selon les zones de la cavité buccale (Mager et al., 2003).

Zone de la bouche	Conditions dominantes	Bactéries courantes
Surfaces dentaires (émail)	Surface dure, plus exposée à l'oxygène	<i>A. naeslundii</i> , espèces de <i>Streptococcus</i>
Tissus mous (gencives, langue, joues)	Surface molle, humidité, contacts fréquents	<i>S. mitis</i> , <i>E. saburreum</i> , <i>P. melaninogenica</i>
Plaque sous-gingivale	Milieu anaérobie, sous la ligne gingivale	<i>T. forsythia</i> (pathogène parodontal).

En effet, la plaque dentaire est une accumulation de bactéries et de matrice intercellulaire formant un biofilm qui adhère aux surfaces des dents et d'autres structures buccales en l'absence d'une hygiène bucco-dentaire efficace (Heasman, 2003). Deux types de plaques distinctes sont notées ; la plaque supra-gingivale et la plaque sous-gingivale. L'environnement supra-gingivale (plaque supra-gingivale) est principalement aérobie, tandis que l'environnement sous-gingivale (plaque sous-gingivale) est quasi exclusivement anaérobie (Mouton et Robert, 1994).

I.4 Types d'orthodontie

I.4.1. Définition

L'orthodontie comprend plusieurs formes, adaptées à l'âge du patient, au type d'anomalie à traiter et à la technique choisie :

On distingue en premier lieu l'orthodontie préventive, qui a pour objectif de limiter l'apparition de malpositions dentaires dès l'enfance. L'orthodontie interceptive, quant à elle, intervient durant la croissance pour corriger précocement les déséquilibres des mâchoires ou de l'alignement dentaire. Enfin, l'orthodontie correctrice est la forme la plus répandue, visant à réaligner les dents une fois la dentition permanente en place. Voici quelques exemples :

a) Appareils orthopédiques : Ils agissent sur les os (os maxillaires)

- ✚ Masque de Delaire
- ✚ Disjoncteurs
- ✚ Monobloc de Robin

b) Appareils orthodontiques : sont utilisés pour corriger l'alignement des dents et des mâchoires tels que :

- ✚ Appareils amovibles comme les aligneurs.
- ✚ Appareils fixes.

En effet, les prothèses dentaires se divisent principalement en deux catégories : les prothèses fixes (partielles ou totales) et les prothèses amovibles (unitaires, plurales ou bridges).

I.4.2 Impact de l'orthodontie sur la flore buccale

Le traitement orthodontique influence la santé bucco-dentaire en modifiant l'environnement micro écologique, l'immunité de l'hôte, les pratiques d'hygiène buccale, et est affecté par des facteurs tels que l'âge et le sexe (**Zhao et al., 2024**).

Selon certains auteurs, le port d'appareils orthodontiques fixes peut compromettre le maintien d'une hygiène bucco-dentaire efficace et accroître le risque de développement carieux. En outre, la difficulté à assurer une hygiène optimale pourrait influencer la composition du microbiote sous-gingivale, les dispositifs orthodontiques favorisant la rétention de la plaque bactérienne. Ces éléments peuvent conduire à une colonisation par des bactéries pathogènes, responsables d'inflammations gingivales, de la destruction du tissu de soutien parodontal ainsi que de modifications de la surface de l'émail (**De Freitas et al., 2014**).

Certaines études ont mis en évidence des modifications du microbiote au niveau de la plaque sous-gingivale chez les patients sous traitement orthodontique, avec une augmentation significative des bactéries pathogènes associées aux maladies parodontales (**Guo et al., 2017**).

- **Biofilm**

Un biofilm est une communauté organisée et multicouche de cellules sessiles, établissant une association syntrophique, et enveloppées dans une matrice hydratée de substances polymériques extracellulaires (EPS). Cette matrice favorise l'adhésion des cellules sur des surfaces vivantes, inertes ou à l'interface de différents milieux. Elle est constituée de divers composants nutritifs tels que des glucides, des protéines, des lipides, des acides nucléiques et des minéraux, qui assurent la nutrition et la survie des cellules présentes. L'environnement protecteur qu'offre cette encapsulation contribue à l'augmentation de la virulence des micro-organismes, tout en renforçant leur résistance aux agents antimicrobiens (**Ray et al., 2021**).

La plaque dentaire (Biofilm) (**Figure 4**) se fixe non seulement aux surfaces des dents et aux tissus parodontaux, mais aussi à toute surface artificielle solide présente dans la cavité buccale (**Antezack et Monnet-Corti, 2018**).



Figure 4. Plaque dentaire présente chez des patients portant l'appareil dentaire fixe (**Antezack et Monnet-Corti, 2018**).

I.5. Maladies buccales due aux microorganismes buccaux

I.5.1. Maladies parodontales

La bouche peut être touchée par plusieurs pathologies très répandues au sein des populations humaines, telles que la parodontite, la gingivite et les caries dentaires, qui sont toutes étroitement liées à des altérations du microbiome buccal (Willis et Gabaldón, 2020).

- **Gingivite**

On appelle gingivite l'inflammation des gencives, sans perte d'attache des tissus conjonctifs qui soutiennent les dents. Dans le terme « gingival », le mot gingival désigne les gencives, le suffixe « -ite » indiquant une inflammation (Nagel, 2015). La gingivite est une phase réversible qui débute à la base de la gencive apicale et affecte les sillons supra- et sous-gingivaux (Figure 5) (Bostanghadiri et al., 2024).

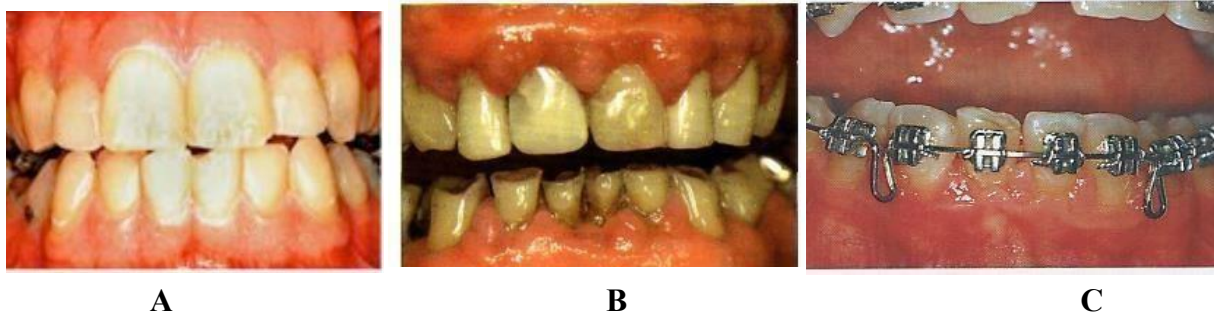


Figure 5. A) Gencive cliniquement saine chez un jeune adulte (Newman & Carranza, 2006). B) Hyperplasie gingivale liée à la prise d'Adalat® (Bercy et Tenenbaum, 1996). C) Gingivite bactérienne aggravée par la présence d'un appareillage orthodontique (Mattout et al., 2003).

- **Parodontite**

Le terme parodontite est composé de trois éléments tirés du grec : « Péri » qui signifie autour, « Odont » qui signifie dent et « -ite » qui désigne une inflammation (Nagel, 2015). La parodontite est une maladie inflammatoire chronique d'origine bactérienne qui entraîne une perte d'attache du parodonte. Elle se manifeste par un décollement des gencives autour des dents et, dans ses stades avancés, par la destruction des tissus de soutien, pouvant aller jusqu'à la perte osseuse et dentaire (Figure 6 et 7) (Del Pilar Angarita-Díaz et al., 2024)

La parodontite débute par l'accumulation de plaque bactérienne sous la gencive, entre la dent et le tissu gingival. Cette plaque s'étend progressivement en profondeur, favorisant le développement d'une infection (**Prescott et al., 2003**).

Une des bactéries majeures impliquées est *Porphyromonas gingivalis*, capable d'adhérer aux surfaces dentaires et aux tissus grâce à une protéine appelée fimbrilline, présente dans ses fimbriae. Pour se nourrir, elle utilise des enzymes telles que des protéases et des hémagglutinines qui dégradent les tissus environnants. Cette dégradation déclenche une réponse inflammatoire de l'organisme, marquant le début de la parodontite (**Prescott et al., 2003**).



Figure 6. Parodontite moyenne de l'adulte (à gauche) et Parodontite sévère de l'adulte (à droite) (**Bercy et Tenenbaum, 1996**).

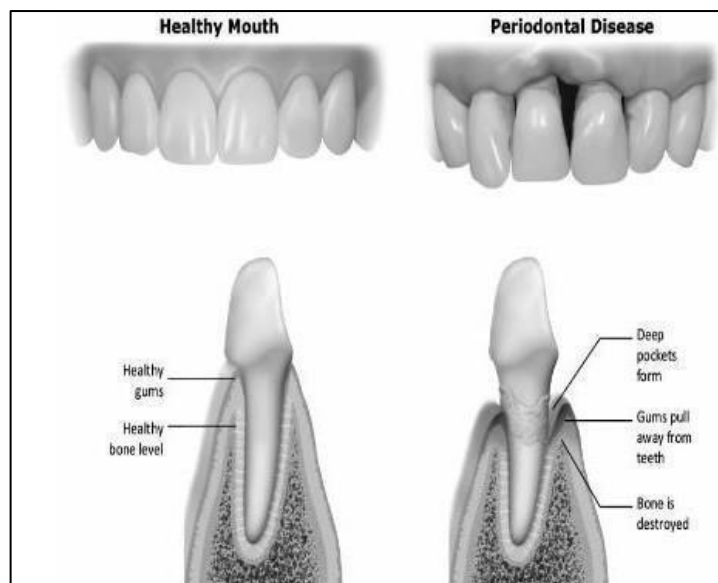


Figure 7. Schéma montrant la différence entre une gencive saine (à gauche) et une parodontite (à droite) (**Nagel, 2015**).

I.5.3 Prévention des maladies parodontales

La parodontite peut être maîtrisée grâce à une bonne hygiène dentaire, avec un brossage régulier, l'utilisation de fil dentaire et du bain de bouche antiseptique. Il peut parfois être nécessaire de chirurgicalement traiter les gencives et de prendre des antibiotiques pour freiner l'infection (**Prescott et al., 2003**).

I.5.2. Maladies linguales

La candidose est la pathologie la plus fréquente des maladies linguales. Le genre *Candida*, en particulier *Candida albicans*, est la levure la plus fréquemment rencontrée dans la cavité buccale, responsable de plus de 80 % des infections. *Candida* est une levure commensale présente dans la flore buccale des individus en bonne santé (**Xing et al., 2024**). D'autres espèces moins courantes comme *C. krusei*, *C. parakrusei*, *C. guilliermondii* et *C. pseudotropicalis* peuvent également être impliquées, (**Taihi et al., 2012**) (**Figure 8**).

Certains facteurs favorisent le passage du *Candida Albicans* du saprophytisme au parasitisme, en perturbant la flore commensale (**Taihi et al., 2012**). Voici quelques facteurs :

- ✚ Diabète : une consommation accrue de glucides favorise l'adhésion des *Candida* à l'épithélium. Par ailleurs, un diabète mal contrôlé entraîne une hyposialie et une diminution du pH salivaire (**Taihi et al., 2012**).
- ✚ Immunodéficience et VIH : Dans les situations d'immunodéficience, notamment chez les patients atteints de VIH, l'infection à *Candida* est qualifiée d'opportuniste car elle profite de ce terrain fragilisé (**Taihi et al., 2012**).
- ✚ Antibiothérapie à spectre large : L'antibiothérapie à large spectre diminue la flore bactérienne commensale, créant ainsi des conditions favorables à la prolifération de *Candida* (**Taihi et al., 2012**).
- ✚ Port de prothèses : Le port prolongé de prothèses associé à une mauvaise hygiène bucco-dentaire diminue l'action protectrice de la salive et favorise l'adhésion du *Candida* aux surfaces résineuses (**Taihi et al., 2012**).
- ✚ Port des appareils orthodontiques : Les levures du genre *Candida* ont la capacité de former un biofilm sur des surfaces inertes, comme les brackets des appareils

Orthodontiques fixes ou les surfaces en acrylique des appareils amovibles. Cette colonisation favorise une augmentation de la présence orale de *Candida*, pouvant conduire à des mycoses buccales pathogènes, en particulier chez les patients immunodéficients (**Campobasso et al., 2022**).



Figure 8. Candidose aiguë palatine (à gauche) et une langue villeuse noire avec surinfection candidosique (à droite) (**Taihi et al.,2012**).



CHAPITRE II :
Matériel et méthodes

Cette étude a été menée au niveau de laboratoire de bactériologie de l'hôpital Ibrahim Tirichine à Blida durant une période allant de 8 mars jusqu'à 5 juin 2025 pour le but d'isoler et d'identifier la microflore buccale chez les patients orthodontiques. Les prélèvements ont été collectés à partir d'un cabinet dentaire privé d'orthodontie et orthopédie dentofaciale (ODF).

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel biologique

Représenté par les 60 prélèvements salivaires et les souches ATCC (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*)

II.1.2 Matériel non biologique

Représenté principalement par les milieux de culture, la verrerie, l'appareillage et les réactifs (Voir annexes).

II.2 Méthodes

II.2.1. Critères d'inclusion

Les participants à l'étude devaient répondre aux critères suivants :

- Être immunocompétent ;
- Être adolescent ou jeune adulte (élèves de CEM, lycée ou étudiants) ;
- Porter un appareil orthodontique fixe depuis au moins un mois ;
- Ne pas avoir reçu de traitement antibiotique dans les trois semaines précédant le prélèvement.

II.2.2 Techniques d'échantillonnage et de collecte

Les échantillons ont été collectés dans un cabinet dentaire privé, dans le but d'isoler et d'identifier les bactéries de la cavité buccale chez des patients immunocompétents portant des appareils dentaires. Cette étude a porté sur des échantillons bucco-dentaires prélevés à partir de deux sites, à savoir la gencive et la langue.

Des écouvillons stériles ont été frottés sur la surface de la gencive et de la langue. Ensuite Ils ont été placés dans des tubes contenant Brain Heart Infusion Broth (BHIB) et transportés au laboratoire dans les 15 minutes qui ont suivi. Enfin, ils ont été incubés à 37°C pendant 24 heures (Figure 9).

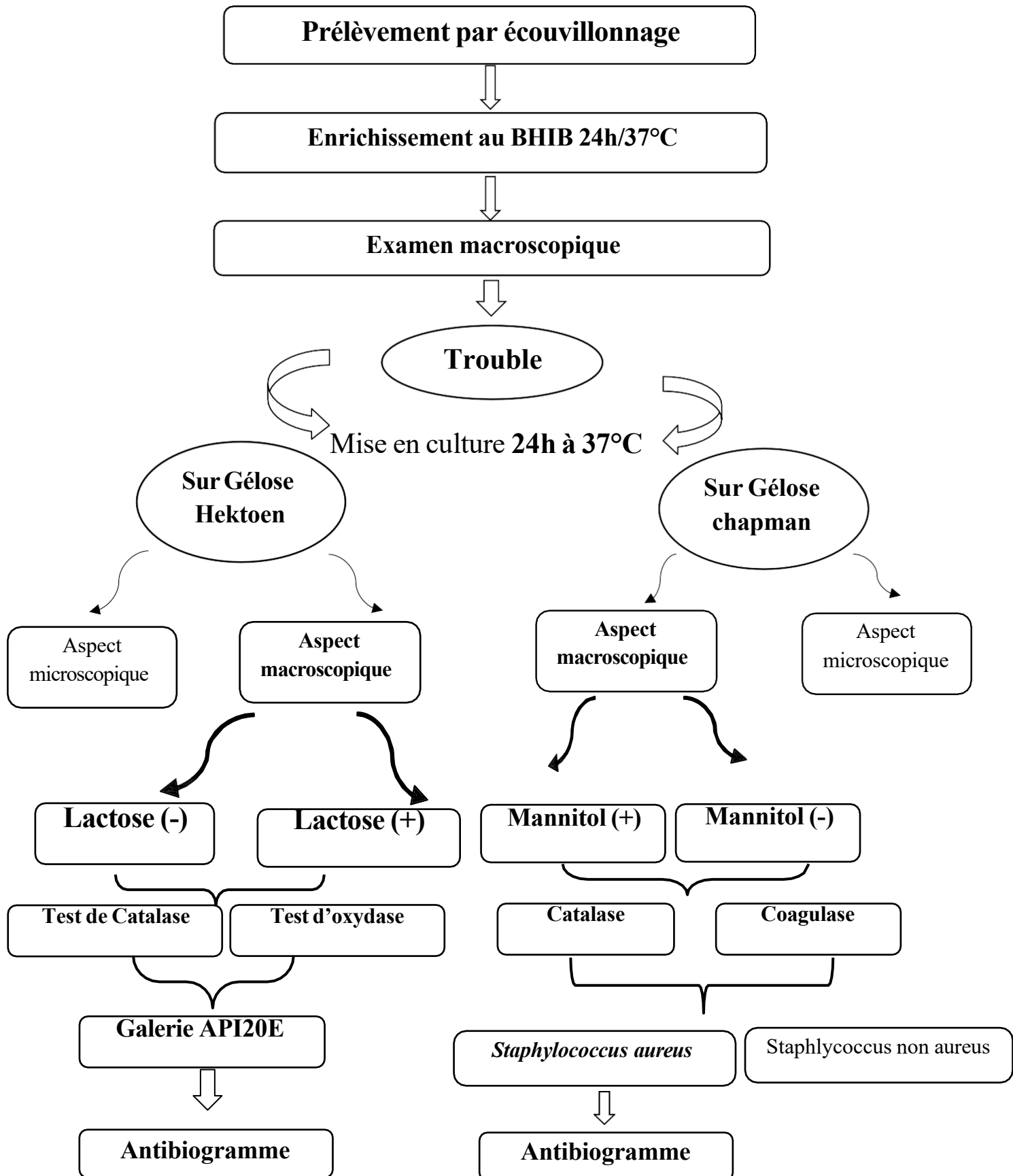


Figure 9. Organigramme des différentes étapes d'identification des *Enterobacteriaceae* et de *Staphylococcus aureus*.

II.2.3. Examen macroscopique et enrichissement des prélèvements

Les tubes contenant les écouvillons ont été incubés dans le bouillon Brain Heart Infusion (BHIB) à 37 °C pendant 24 heures pour l'enrichissement. Les échantillons présentant un trouble après incubation ont été sélectionnés pour les analyses ultérieures, indiquant une croissance microbienne.

II.2.3.1 Examen microscopique avant la mise en culture

- **Etat frais**

Les prélèvements qui présentent un trouble vont être observés entre lame et lamelle sous microscope photonique à l'objectif (GX40). Pour mettre en évidence :

- ✓ La morphologie ;
- ✓ La mobilité ;
- ✓ Leur mode de regroupement.

- **Mise en culture**

Les tubes présentant un trouble ont été ensemencés sur des milieux de cultures sélectifs (Hektoen pour les Gram négatifs et Chapman pour les Gram positives). Les boîtes de Petri ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24 heures.

II.2.3.2 Examen macroscopique après la mise en culture

L'observation macroscopique (**Figure 10**) des colonies permet de donner des informations concernant :

- ✓ La taille ;
- ✓ La couleur ;
- ✓ La forme ;
- ✓ Le bord ;
- ✓ L'opacité ;
- ✓ L'élévation et La surface.

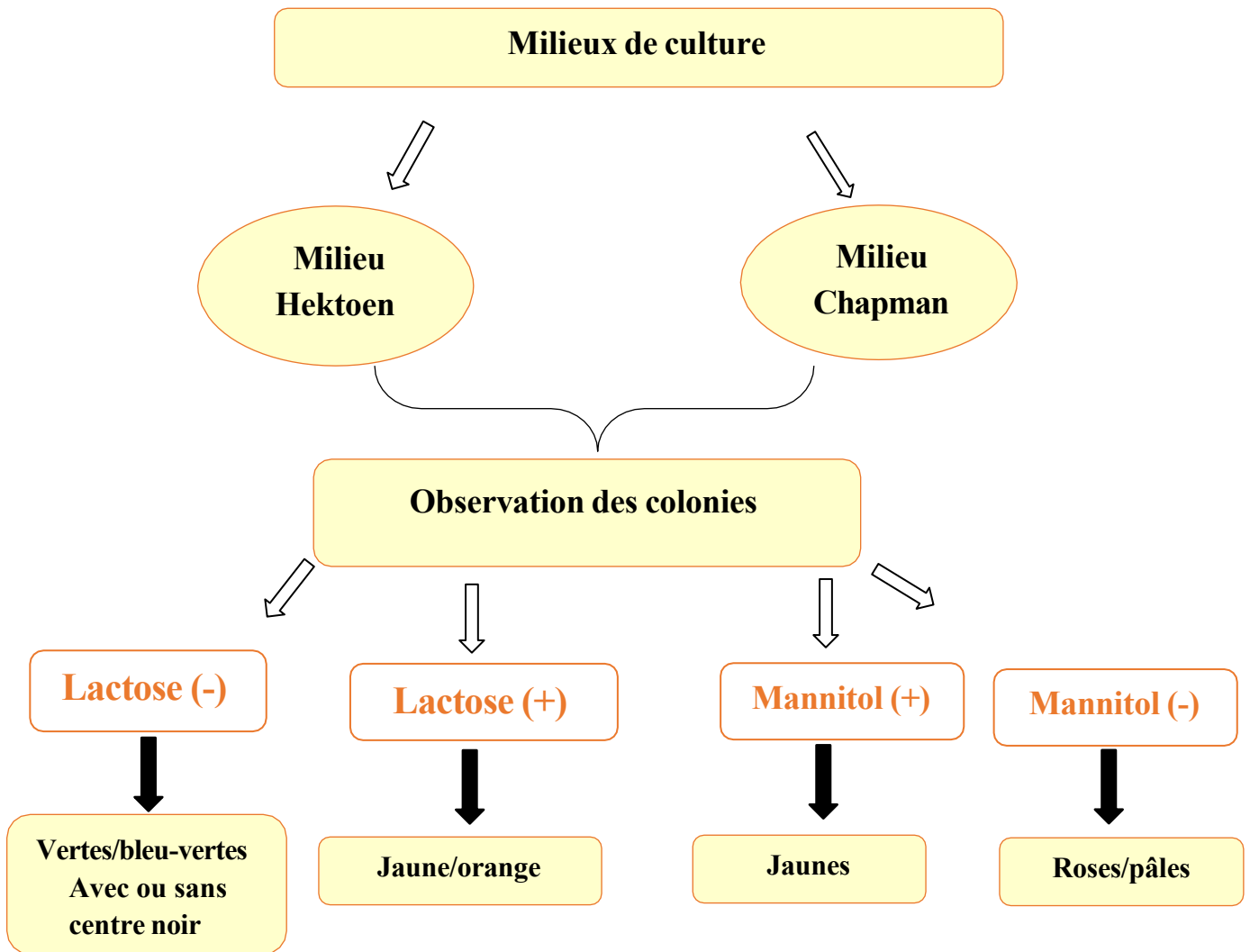


Figure 10. Organigramme de l'examen macroscopique après culture.

II.2.4. Examen microscopique après mise en culture

- **Etat frais**

Après incubation sur gélose (Chapman ou Hektoen), un prélèvement de colonies isolées a été effectué à l'aide d'une anse stérile. Une suspension a ensuite été préparée dans une goutte d'eau physiologique stérile, puis déposée entre lame et lamelle, sans coloration. L'observation a été réalisée au microscope optique avec un objectif $\times 40$. Pour mettre en évidence : La morphologie ; La mobilité et leur mode de regroupement.

- **Coloration de Gram**

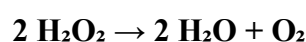
C'est une méthode essentielle en bactériologie pour différencier les types de bactéries. Elle se réalise sur un frottis préalablement fixé par la chaleur. La procédure se déroule comme suit :

1. Application du violet de gentiane : Recouvrir entièrement la lame avec du violet de gentiane pendant 1 minute.
2. Élimination du violet de gentiane : Verser le colorant pour le retirer de la lame.
3. Fixation avec le Lugol : Recouvrir la lame avec du Lugol pendant 1 minute.
4. Élimination du Lugol : Rejeter le Lugol de la lame.
5. Décoloration à l'alcool : Tenir la lame inclinée et verser de l'alcool dessus jusqu'à ce que le liquide qui s'écoule devienne clair. La durée varie selon l'épaisseur du frottis.
6. Arrêt de la décoloration : Rincer immédiatement à l'eau pour stopper la décoloration.
7. Contre-coloration avec la fuchsine diluée : Recouvrir la lame avec de la fuchsine diluée pendant 30 secondes à 1 minute.
8. Rinçage final : Laver la lame à l'eau pour éliminer l'excédent de colorant.
9. Séchage : Sécher la lame entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur.
10. Observation : Examiner la lame au microscope, à l'objectif à immersion. (GX100) (**Denis et al., 2016**).
10. Observation microscopique :
 - ✓ Gram négative : Ils vont apparaitre **Rose** sous le microscope.
 - ✓ Gram positive : Ils vont apparaitre **Violet** sous le microscope.

II.5 Tests d'orientation rapide

II.5.1 Test de Catalase

Le test de la catalase permet de mettre en évidence la présence de l'enzyme catalase chez les bactéries. Il constitue un outil essentiel pour distinguer les bactéries catalase positives de celles qui sont catalase négatives. Produisant la réaction suivante :



✓ **Procédure**

On dépose sur une lame, deux gouttes de l'eau oxygénée, puis avec une pipette on prend une colonie et on va la déposer sur la lame.

✓ **Lecture**

Catalase positive : Dégagement immédiat de bulles (effervescence).

Catalase négative : absence effervescence.

II.5.2. Identification biochimique

Le système API 20E® est une méthode miniaturisée et standardisée qui repose sur les techniques biochimiques classiques utilisées en microbiologie pour l'identification bactérienne. Il est spécialement conçu pour identifier plus d'une centaine de bacilles à Gram négatif, notamment ceux appartenant à la famille des Entérobactéries.

Son fonctionnement est basé sur une série de 20 tests biochimiques disposés dans une galerie en plastique. Chaque test permet de détecter une activité enzymatique ou une fonction métabolique spécifique de la souche bactérienne analysée. **(Bio Mérieux France)**

✓ **Préparation de la galerie**

- Assembler le fond et le couvercle de la boîte d'incubation.
- Ajouter un peu d'eau stérile dans les alvéoles pour maintenir une atmosphère humide.
- Placer la galerie API® (bande de microtubules) dans la boîte, en respectant les conditions de stérilité.

✓ **Préparation de l'inoculum**

- Ouvrir une ampoule de Suspension Medium ou utiliser de l'eau distillée stérile.
- Prélever une seule colonie bien isolée à partir d'un milieu gélosé.
- Préparer une suspension bactérienne peu concentrée, ajustée à une opacité de 0,5 sur l'échelle de McFarland.

✓ **Inoculation de la galerie**

- Tests CIT, VP, GEL : remplir à la fois le tube et la cupule.
- Autres tests : remplir uniquement le tube, sans toucher à la cupule.

- Tests ADH, LDC, ODC, H₂S, URE : créer un milieu anaérobie en recouvrant la cupule avec de l'huile de paraffine.

✓ **Incubation**

- Refermer soigneusement la boîte d'incubation.
- Incuber à 36 ± 2 °C pendant 18 à 24 heures.

✓ **Lecture des résultats**

Lecture primaire (sans réactif) : Observer les réactions visibles (changement de couleur, précipité, etc.).

Lecture secondaire (avec réactifs)

Ajouter les réactifs spécifiques aux tests concernés :

- Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA dans la cupule correspondante.
- Test IND : ajouter 1 goutte de réactif de JAMES (Kovacs).
- Test VP : ajouter 1 goutte de chaque réactif VP1 et VP2, attendre au moins 10 minutes avant d'interpréter la réaction.

✓ **Identification de la souche**

Reporter tous les résultats dans le logiciel APIweb pour l'identification bactérienne finale.

II.6. Étude de la résistance par antibiogramme

C'est un test de laboratoire, utilisé pour déterminer la sensibilité bactérienne vis-à-vis d'un panel d'antibiotiques. L'antibiogramme est un test qui utilise pour déterminer la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis aux antibiotiques, pour choisir les antibiotiques les plus efficaces pour traiter une infection bactérienne.

- **Choix de milieu**

Le milieu utilisé est Mueller Hinton car :

- ✓ Il a une composition standardisée ;
- ✓ Permet une bonne diffusion de l'antibiotique ;
- ✓ Il ne contient pas de facteurs d'inhibition.

- **Technique de diffusion des disques**

La réalisation pratique de l'antibiogramme par diffusion se fait ainsi :

- Utilisation d'un milieu Mueller-Hinton gélosé d'environ 4 mm d'épaisseur.
- Préparation d'un inoculum bactérien ajusté à une turbidité équivalente à 0,5 McFarland, pour obtenir après 18 heures d'incubation une culture semi-confluente.
- Ensemencement de la gélose par écouvillonnage (technique recommandée) ou par inondation, en répartissant l'inoculum uniformément sur toute la surface.
- Séchage du milieu ensemencé pendant 15 minutes à 37 °C.
- Application des disques d'antibiotiques à l'aide d'une pince stérile ou d'un distributeur.
- Pré diffusion des antibiotiques pendant 30 minutes à température ambiante.
- Incubation à 37 °C pendant 18 heures, boîte retournée (couvercle en dessous).
- Lecture des résultats : mesurer les diamètres d'inhibition des zones claires autour des disques, vérifier la pureté de la souche.
- Interprétation des diamètres selon des abaques de concordance et des seuils critiques pour classer la souche en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R).
- Contrôle qualité régulier avec des souches de référence pour valider la procédure et les lots de milieu et disques (**Fauchère et Avril, 2002**).

On compare les diamètres obtenus avec les diamètres de l'EUCAST ou les CLSI (**Voir annexes**).

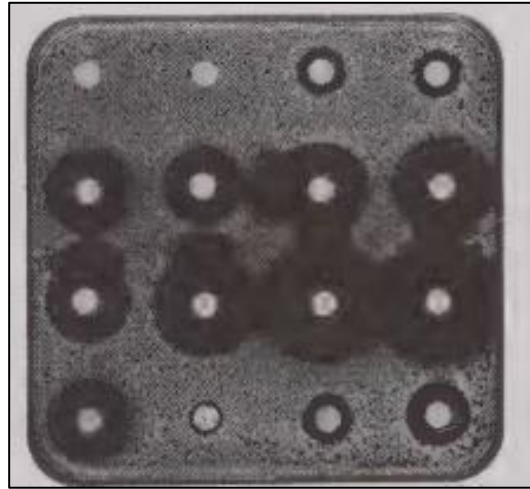
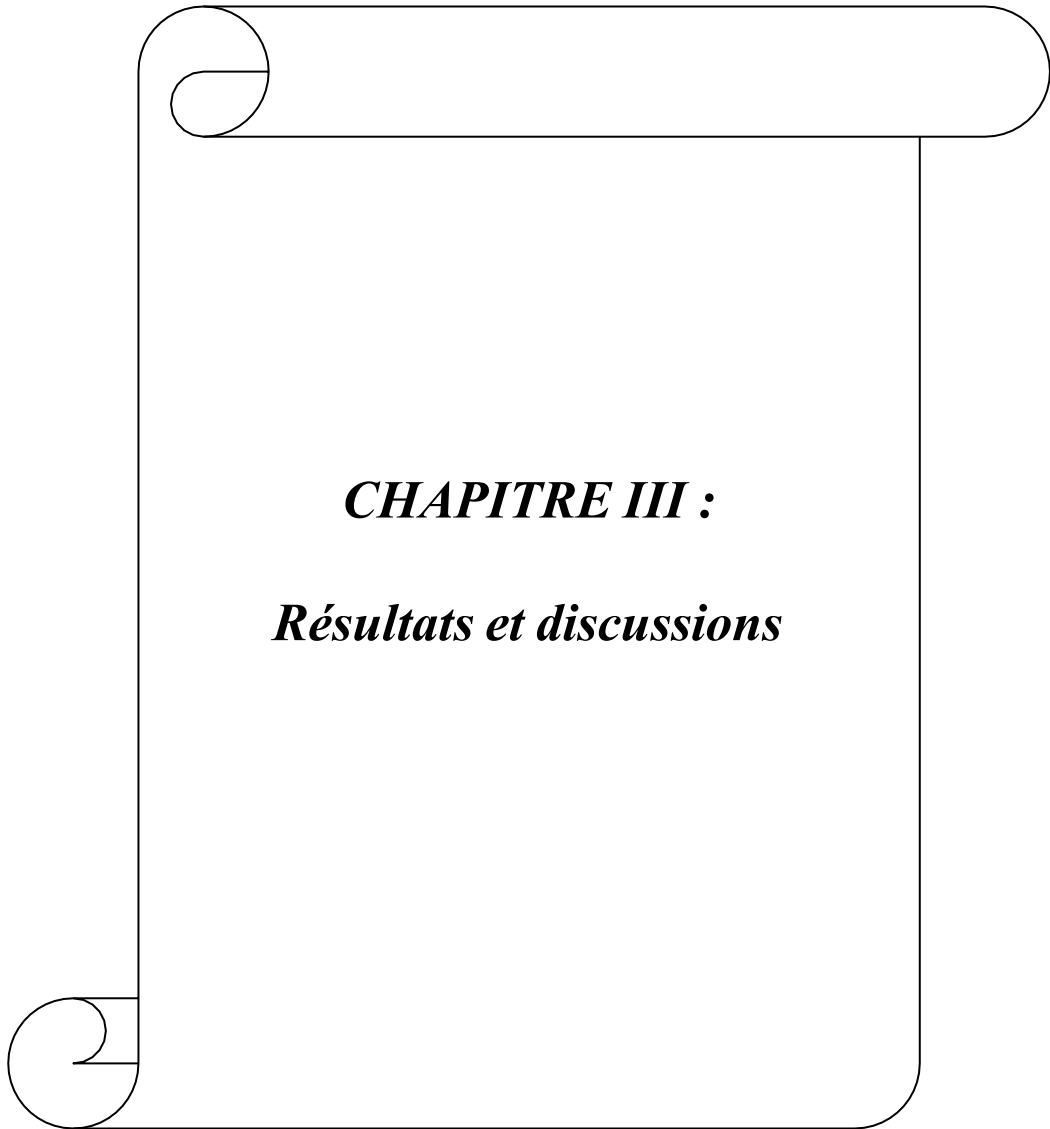


Figure 11. Antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Fauchère et Avril, 2002).

II.7. Détection de Biofilm par la méthode de Rouge Congo agar (RCA)

Pour évaluer la capacité de formation de biofilm des bactéries isolées de la cavité buccale, la méthode de culture sur gélose au Rouge Congo (RCA) a été utilisée. Le milieu CRA a été préparé à partir de bouillon cœur-cerveau (37 g/L), de saccharose (50 g/L), d'agar (10 g/L) et de rouge Congo (0.8 g/L). Le colorant Rouge Congo a été préparé séparément sous forme de solution aqueuse concentrée, puis stérilisé par autoclavage indépendamment des autres composants du milieu. Après autoclavage du mélange bouillon cœur-cerveau, agar et saccharose, la solution de Rouge Congo a été ajoutée. Les boîtes de CRA ont ensuite étéensemencées avec les souches testées et incubées à 37 °C pendant 24 heures en condition aérobie. L'apparition de colonies noires indique la production de biofilm (Freeman et al., 1989) (Rewatkar et Wadher, 2013).



CHAPITRE III :
Résultats et discussions

III. RESULTATS ET DISCCUSION

Durant la période de stage, nous avons collecté 60 Prélèvements. Nos prélèvements ont été effectué sur des filles et des garçons portant les appareils dentaire (fixe) appartenant à différentes tranches d'âge.

III.1 Données épidémiologiques selon le genre

Durant la période de stage, prélèvements ont été collectés, les prélèvements ont été issus des 30 patients ($13,5 \pm 0.9$ ans) portant l'appareil dentaire fixe à partir de 2 sites : la gencive (Gencive marginal, gencive interdentaire, gencive attaché) et de la langue. Les données épidémiologiques selon le genre sont représentées dans **la figure 12** suivante :

La population dominante était féminine de 20 filles (66.6 %) et 10 garçons (33.3%)

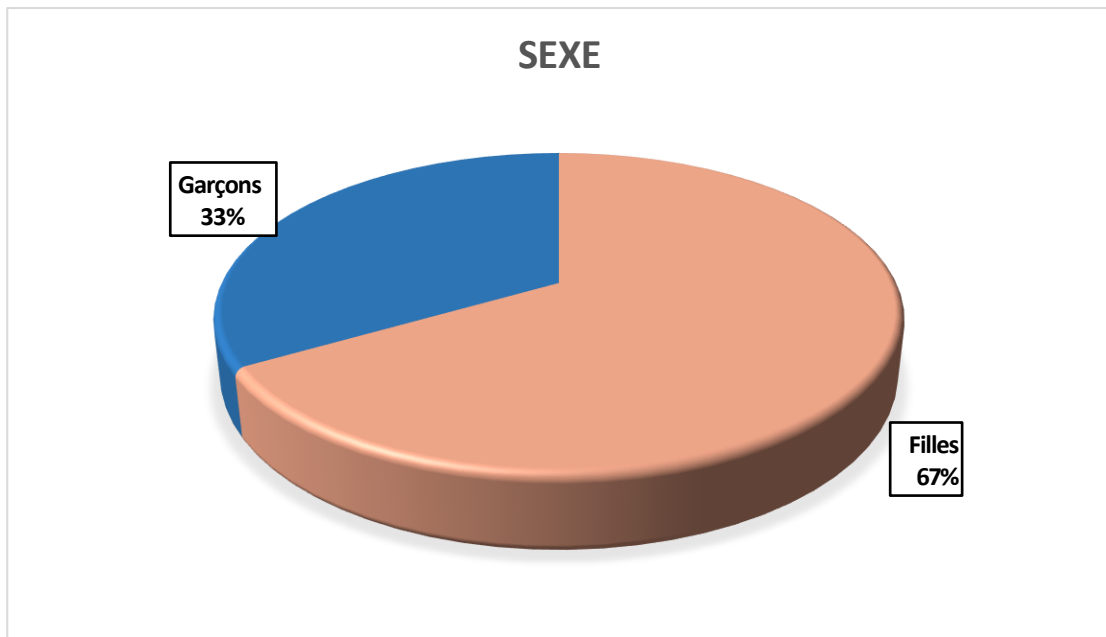


Figure 12. Répartition des prélèvements salivaires selon le sexe.

Selon **Goje (2024)**, Il est fréquemment constaté que les femmes sont majoritairement représentées parmi les personnes sollicitant un traitement orthodontique. Selon **Sacomanno et al., 2024** cette prédominance féminine atteint 87,94 %, principalement en raison de motivations esthétiques importantes, C'est également le cas dans la présente étude, où le taux des femmes est de (66.6%).

III.2 Résultats selon la positivité

Parmi les prélèvements, seulement 48 prélèvements ont été positifs représentant 80% (**Figure 13**).

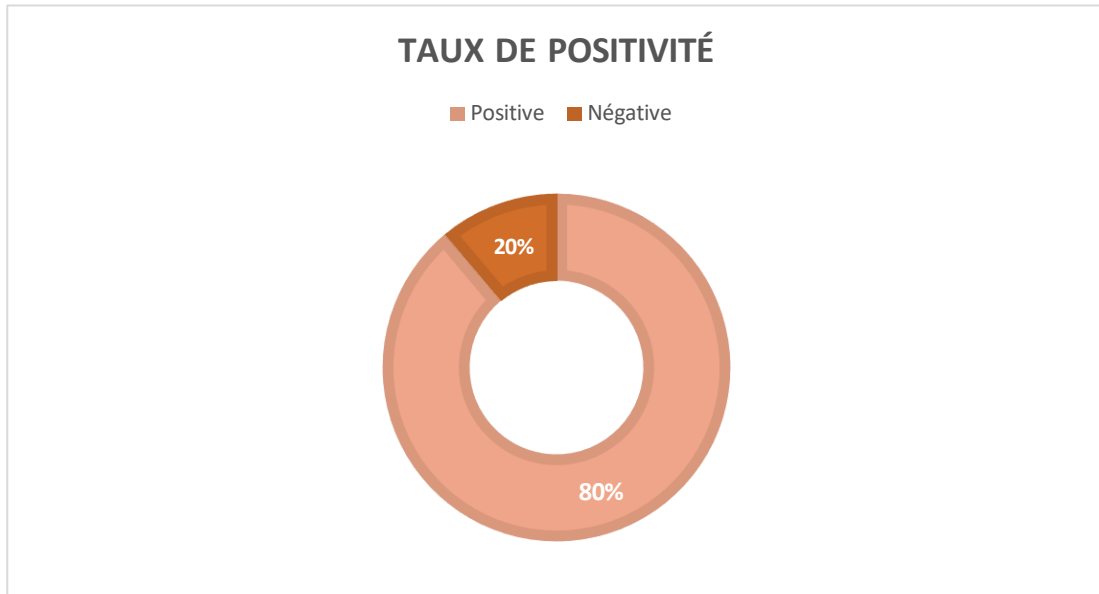


Figure 13. Taux de prélèvements salivaires positive.

III.3 Résultats de l'observation macroscopique pour l'identification morphologique des souches isolées

L'observation macroscopique constitue une première étape essentielle dans l'identification morphologique des souches microbiennes isolées.

Elle permet d'obtenir des informations préliminaires sur les caractéristiques des colonies, telles que leur forme, leur taille, leur couleur, leur texture, ainsi que la présence éventuelle de pigments diffusibles ou de reliefs particuliers, permettant de différencier les genres microbiens les plus courants.

Dans le cadre de cette étude, les souches isolées à partir des appareils dentaires fixe ont été soumises à une évaluation macroscopique afin de caractériser leur diversité phénotypique initiale, L'aspect des bactéries obtenues sur milieu Hektoen et Chapman (**Tableau 5**) (**Figure 14**).

Tableau III. Observation macroscopique des colonies isolées.

Chez Les Patients		Orthodontiques	
Bactérie	Aspect macroscopique	Sur gélose Chapman	Sur gélose Hektoen
<i>Staphylococcus aureus</i>	Jaune doré, circulaire, lisse, brillante	Colonies jaunes (mannitol +)	Pas de croissance
<i>Klebsiella terrigena</i>	Crème, mucoïde, très humide	Pas de croissance	Colonies jaune-orangées (lactose +)
<i>Klebsiella spp</i>	Crème, lisse, mucoïde	Pas de croissance	Colonies orangées à saumon (lactose +)
<i>Escherichia coli</i>	Beige, circulaire, lisse, humide	Pas de croissance	Colonies jaune-orangées (lactose +)
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	Jaune, circulaire, surface sèche à humide	Croissance très faible ou absente	Colonies jaunâtres ou incolores
<i>Citrobacter freundii</i>	Gris pâle à blanc, humide, brillante	Pas de croissance	Colonies Gris pâle à blanc.
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Jaune-orangées, lisse, humide	Pas de croissance	Colonies jaune-orangées (lactose +)
<i>Serratia odorifera</i>	Rouge à rose, lisse, brillante	Pas de croissance	Colonies rosées à incolores (lactose -/+)

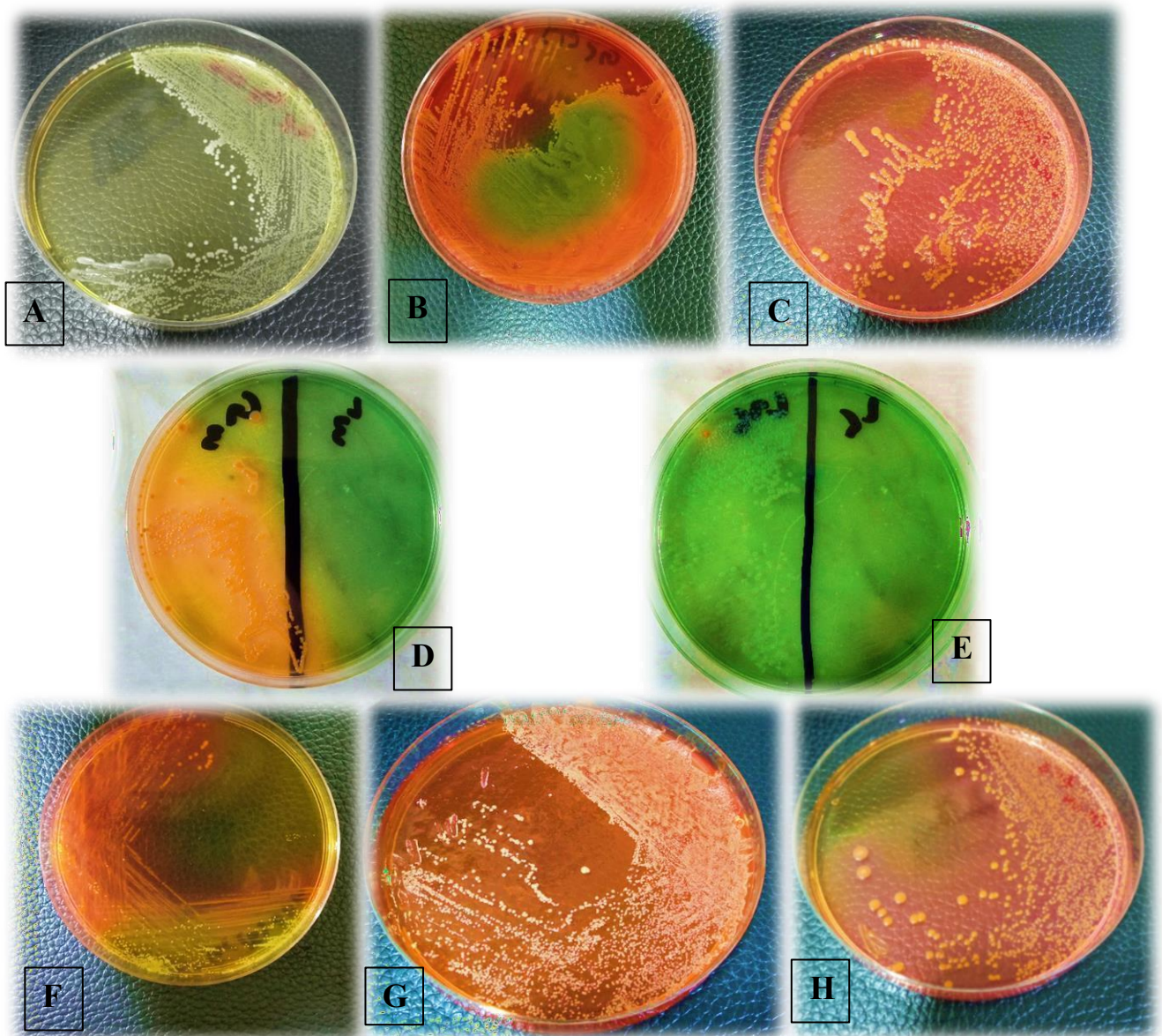


Figure 14. Aspect macroscopique des colonies sur les milieux Chapman et Hektoen

A) *Citrobacter freundii* **B)** *Enterobacter aerogenes* **C)** *Escherichia coli* **D)** *Klebsiella terrigena*
E) *Flavimonas horzyhabitans* **F)** *Serratia odorifera* **G)** *Staphylococcus aureus* **H)** *Klebsiella*
spp (Photo originale, 2025).

III.4 Résultats de l'observation microscopique

Les 48 cas positifs, 30 ont été des Gram négative (62.5%) et 18 ont été des Gram positive représentant 37.5%, Le graphe met en évidence une forte prévalence des bactéries à Gram négatif avec 30 isolats (62.5 %), tandis que les bactéries à Gram positif, ne comptent que 18 isolats (37.5 %) (**Figure 15 et 16**).

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure ci-dessous (**Figure 15**) :

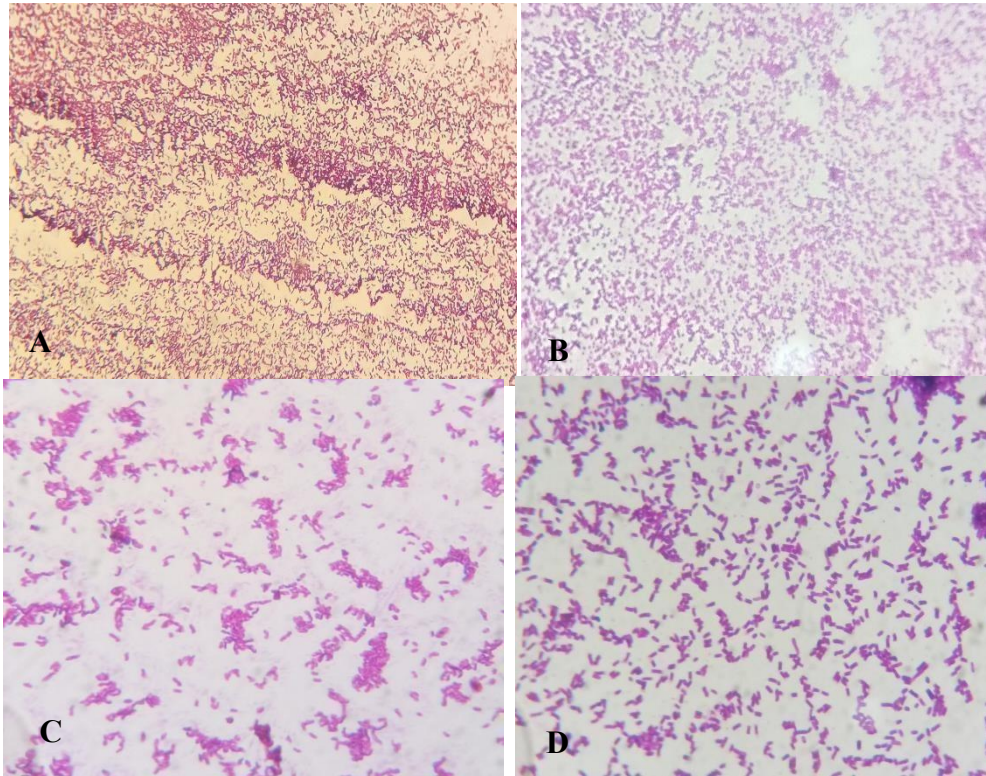


Figure 15. Observation microscopique après coloration de Gram (Gx 100) **A** : Bacille Gram (-) **B** : Bacille Gram (-) **C** : Bacille Gram (-) **D** : Cocci Gram (+) en chainettes.

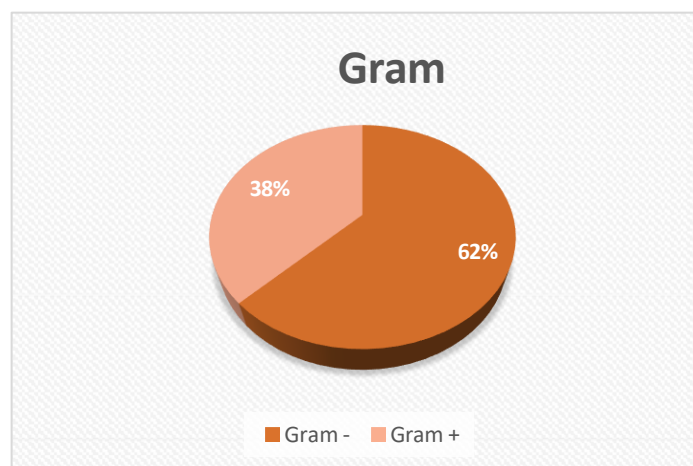


Figure 16. Répartition des prélèvements selon le Gram.

III.5 Résultats de l'identification des bactéries

Les bactéries isolées dans notre étude appartiennent à deux grandes familles : les *Enterobacteriaceae* et les *Staphylococcaceae*. La famille des *Enterobacteriaceae* s'est avérée la plus dominante, représentant (62.5 %) des isolats, tandis que les *Staphylococcaceae* ont été retrouvées dans (37.5 %) des cas (Figure 17).

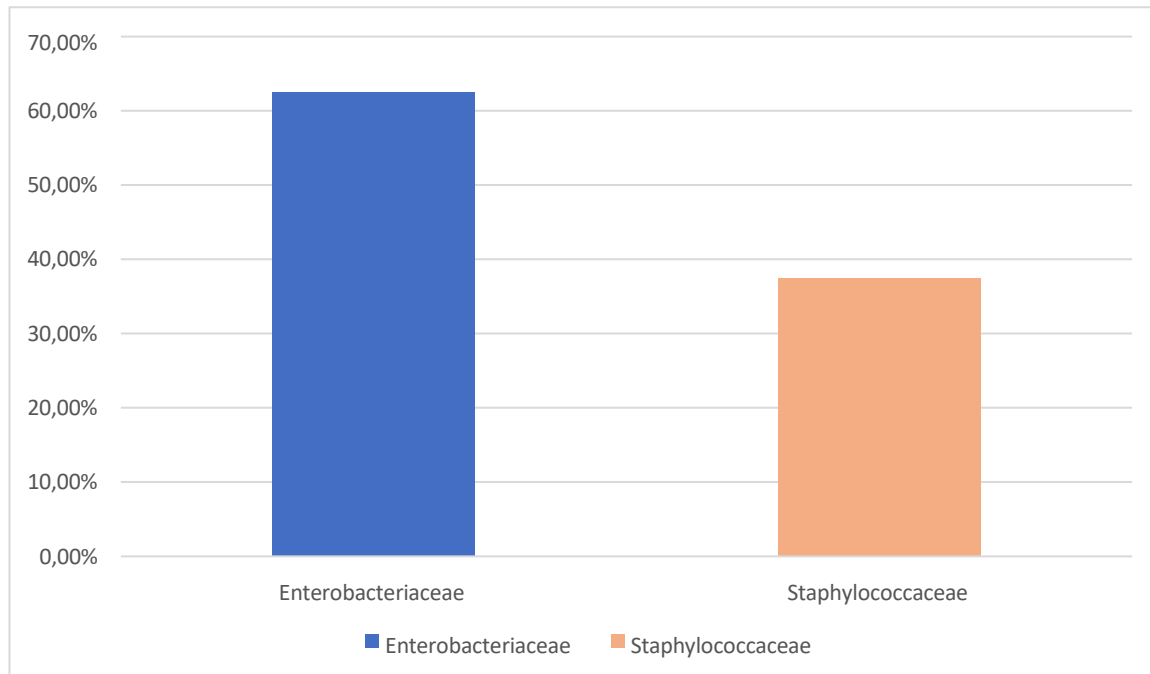


Figure 17. Répartition des bactéries isolées de la cavité buccale.

Selon **Hodges et al., (2024)**, des données suggèrent que le traitement orthodontique peut entraîner d'autres altérations, telles que la gingivite, la parodontite juvénile, ainsi qu'une augmentation de plusieurs agents pathogènes parodontaux connus. Parmi les bactéries les plus étudiées associées aux maladies parodontales, on retrouve *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* et *Tannerella forsythia*.

Dans le même sens, **Pellissari et al. (2021)**, la prévalence des microorganismes à Gram négatif est plus élevée dans le microbiote buccal des patients portant des appareils orthodontiques, rendant ces agents pathogènes potentiellement plus délétères que ceux présents chez les patients ne portant pas d'appareils orthodontiques.

Sept isolats appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* ont été identifiés, répartis en six genres différents, avec une prédominance de *Klebsiella spp* (3 isolats de la gencive) représentant 42.85%.

La prévalence d'*Escherichia coli* est de 28.57 % (2 isolats de la gencive et la langue) et *Serratia odorifera* (1 isolats de la langue), *Citrobacter freundii* (1 isolats de la langue), *Flavimonas oryzae* (1 isolats de la gencive) de 14.28 %. Puisque les *Enterobacteriaceae* ne font pas partie de la flore buccale indigène, leur isolement à partir de la salive peut être associé au vieillissement ou à de mauvaises habitudes d'hygiène (Aragão et al.,2016).

L'identification des bactéries a été établie à la base des tests d'orientation (catalase, le résultat positif du test de catalase sont présentés dans la figure (Figure 18) ainsi que les tests biochimiques par galerie Api (Tableau VI).



Figure 18. Test de catalase (catalase +) (Photo originale, 2025).








Les résultats de la galerie API 20 E sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau VI) .

À côté de groupe des patients, un groupe témoin a été étudié et qui présente les mêmes caractéristiques d'inclusion adoptés pour le groupe patient ($11,8 \pm 0.6$ ans). Sauf qu'ils ne portent pas un appareil dentaire. Malheureusement et faute de moyen et d'accès au service , l'identification des bactéries n'a pas été complètement réalisée.

Chez les patients non orthodontiques, 22 prélèvements ont été réalisés ; parmi eux, 16 (72,7 %) se sont révélés positifs, dont 4 (25 %) contenant des bactéries à Gram négatif et 12 (75 %) des bactéries à Gram positif. (Figure 19).

Nos résultats sont en accord avec les résultats obtenus par Azmi et al. (2020), leur étude a révélé une prévalence élevée de *Staphylococcus aureus* dans la cavité buccale chez les adultes en bonne santé. Environ 40 % des participants présentaient la bactérie à un niveau quantifiable, et plus des trois quarts (76,4 %) à un seuil de détection, ce qui indique que la cavité buccale pourrait constituer un réservoir important de *S. aureus* chez l'humain.

Tableau IV. Résultats des galerie API 20 E.

Bactéries	Galerie API 20 E
<i>Klebsiella terrigena</i>	
<i>Flavimonas oryzae</i>	
<i>Klebsiella spp</i>	
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Citrobacter freundii</i>	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	
<i>Serratia odorifera</i>	

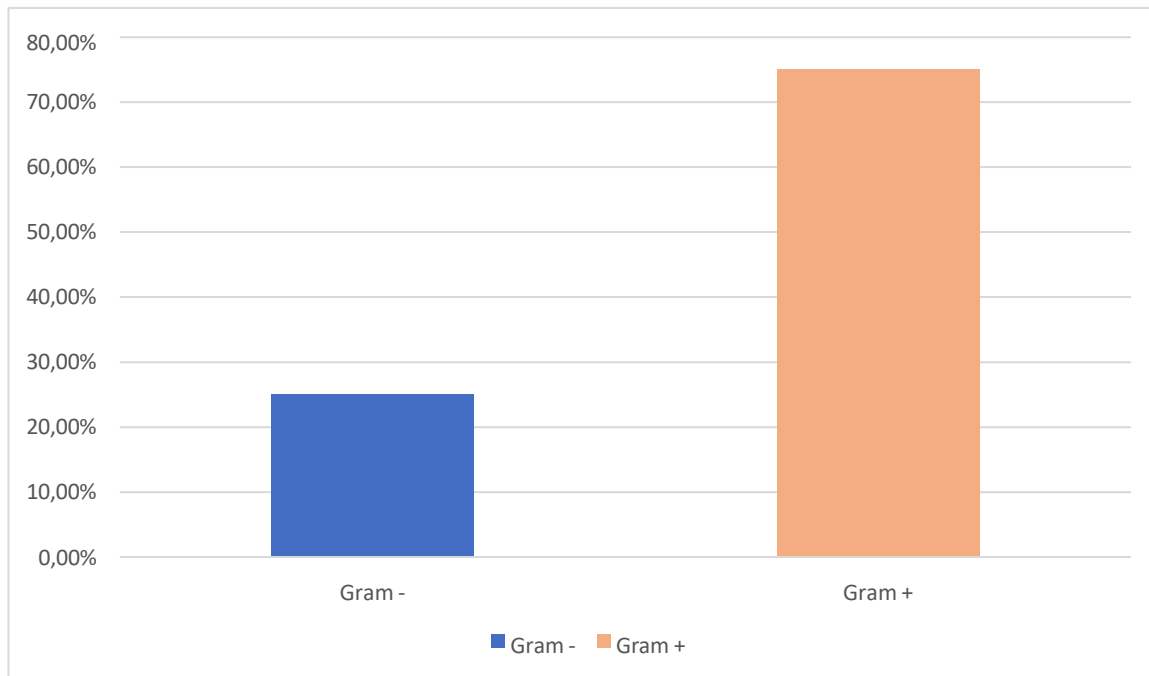


Figure 19. Répartition des prélèvements selon le Gram chez les patients non orthodontiques.

Les bactéries isolées chez les patients non orthodontiques comprennent des bactéries à Gram positif, représentées par les *Staphylococcaceae* (notamment *Staphylococcus aureus*), ainsi que des bactéries à Gram négatif, principalement des *Enterobacteriaceae*. Les bactéries à Gram positif étaient les plus dominantes, représentant 75 % des isolats, tandis que les bactéries à Gram négatif étaient retrouvées dans 25 % des cas.

III.6. Profil de résistance aux antibiotiques

Nous avons testé 13 antibiotiques : Amoxicilline-acide clavulanique, Vancomycine, Érythromycine, Teicoplanine, Acide Fusidique, Clindamycine, Kanamycine, Céfotaxime, Chloramphénicol, Rifampicine, Cefoxitine, Céfazoline, Gentamicine.

Les résultats obtenus montrent une sensibilité aux antibiotiques suivant : Vancomycine, Érythromycine, Teicoplanine, Clindamycine, Céfotaxime, Chloramphénicol, Rifampicine. Les résultats montrent également une résistance aux antibiotiques tels que : Amoxicilline-acide clavulanique, Gentamicine, Kanamycine et Acide fusidique.

Dans cette étude il été constaté que les souches de *Staphylococcus aureus* ont été résistantes à Kanamycine et Acide fusidique, particulièrement chez les souches résistantes à la méthicilline (SARM) (**Figure 20**).

Selon **Boswihi et al. (2020)**, En 2016 et 2017, les isolats de SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline) ont montré des niveaux élevés de résistance à plusieurs antibiotiques. En plus de leur résistance connue aux bêtalactamines, Ils étaient le plus souvent résistants à l'acide fusidique (52,9 %), suivis d'autres antibiotiques tels que la kanamycine, la tétracycline, l'érythromycine, le triméthoprim, la ciprofloxacine et la gentamicine, avec des taux de résistance allant d'environ 32 % à 42 %.

La souche de *Serratia odorifera* été résistantes à Cefotaxime, ces résultats ont été en accord avec les résultats de **Bakari et al. (2022)** qui ont révélé que certaines souches de *S. odorifera* produisent des bêta-lactamases de type AmpC et des carbapénémases de classe D (OXA-type). Ces enzymes peuvent hydrolyser les céphalosporines, dont le cefotaxime, conférant ainsi une résistance à ce médicament.

Escherichia coli était résistante à l'amoxicilline+ acide clavulanique et la Gentamicine, ces résultats ont été en accord avec les résultats de **Hemeg (2018)** qui a constaté que 100 % des souches d'E. coli étaient résistantes à l'amoxicilline et à l'amoxicilline-acide clavulanique, notamment la résistance à la gentamicine a été observée chez 83 % des souches.

Enterobacter aerogenes était résistante à l'amoxicilline+acide calvulanique et à la céfazoline, donc selon **Pitout et al. (1998)**, La résistance aux céphalosporines à large spectre, aux pénicillines à large spectre et à l'aztréonam émerge généralement chez les espèces d'Enterobacter à la suite d'une mutation du gène chromosomique ampD, qui empêche normalement la surexpression de la β -lactamase chromosomique de cet organisme.

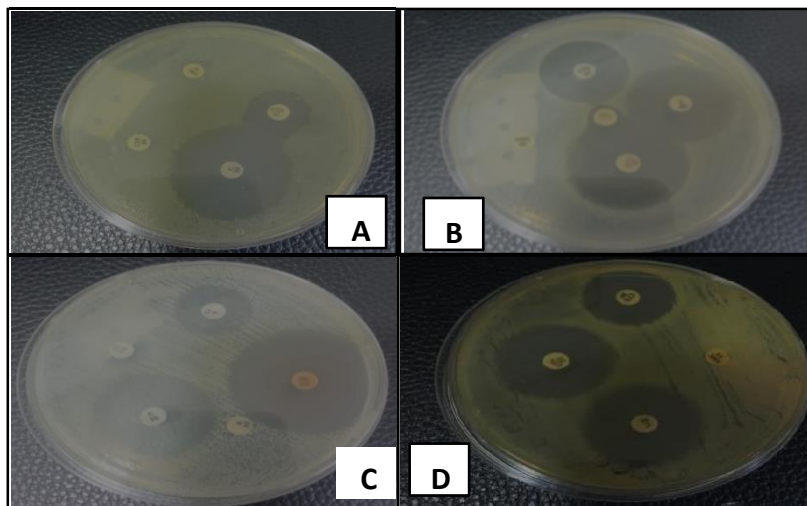


Figure 20. Résultats de l'antibiogramme. A) *Serratia odorifera* B) *Escherichia coli*
C) *Staphylococcus aureus* D) *Klebsiella spp.*

III.6.1 Détection et évaluation de la formation de biofilm

L'utilisation du milieu Rouge Congo a permis d'évaluer la production de biofilm par les souches bactériennes. Sur les 7 souches testées, 4 se sont révélées productrices de biofilm tandis que 2 n'en produisaient pas. Les résultats sont présentés dans la figure ci-dessous (**Figure 21, Tableau VII**).

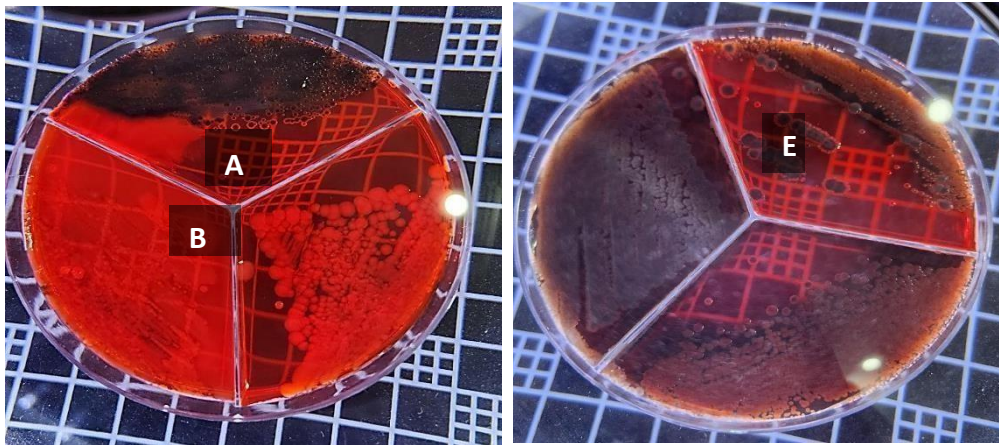


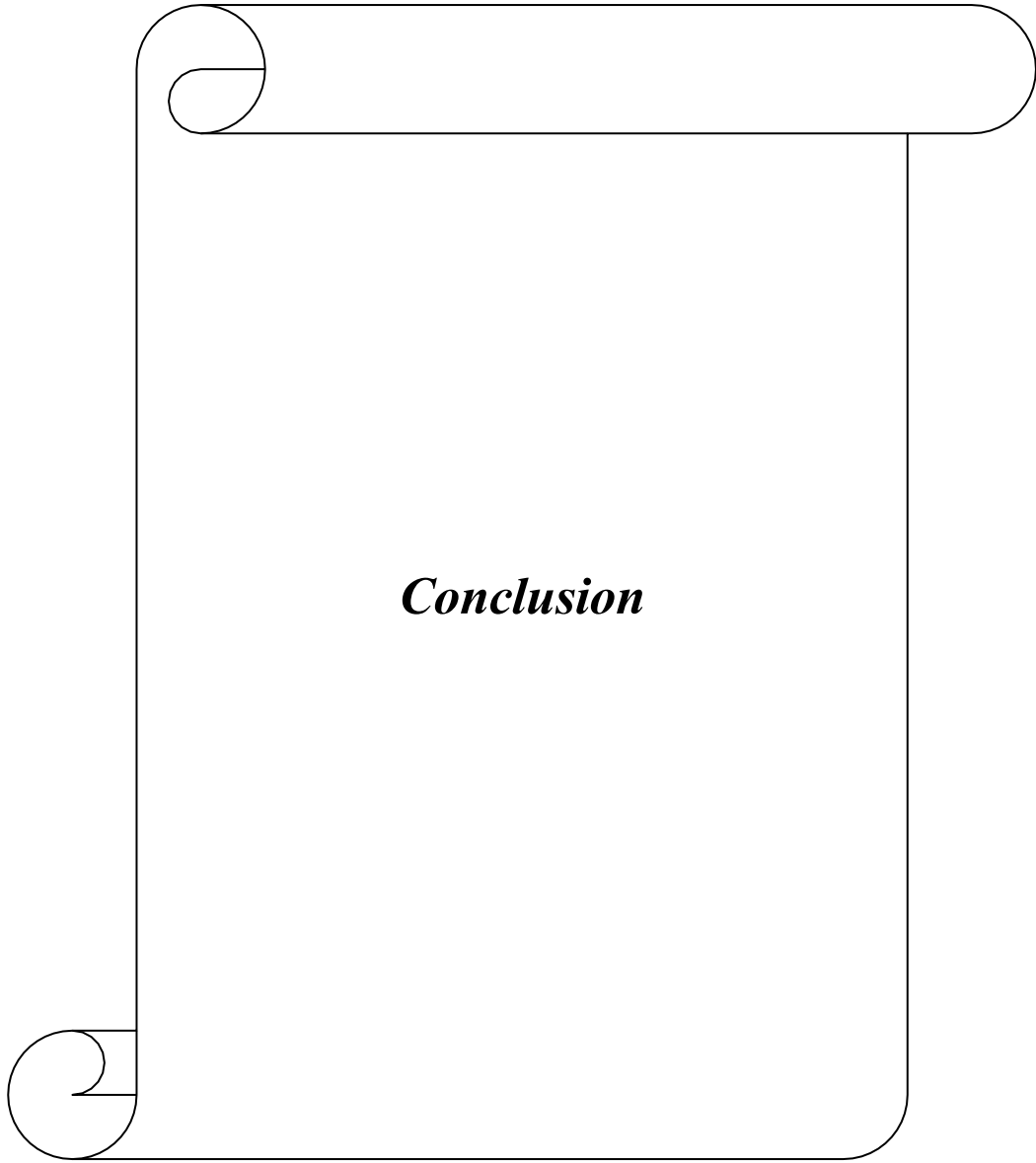
Figure 21. Résultats de RCA

A) *Staphylococcus aureus* B) *Klebsiella spp* C) *Escherichia coli* D) *Enterobacter aerogenes* E) *Citrobacter freundii* F) *Serratia odorifera*.

Tableau V. Résultats de la production de biofilm par la méthode RCA.

Souches	Couleur de colonies	Biofilm
<i>Staphylococcus aureus</i>	Noire	Positive (+)
<i>Klebsiella spp</i>	Rouge	Négative (-)
<i>Escherichia coli</i>	Rouge	Négative (-)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Noire	Positive (+)
<i>Citrobacter freundii</i>	Noire	Positive (+)
<i>Serratia odorifera</i>	Noire	Positive (+)

Après 24 heures d'incubation sur le milieu Rouge Congo, la production de biofilm était positive chez *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Serratia odorifera*, contrairement aux autres tels que *Klebsiella spp*, *Escherichia coli* qui ont été négative. Les souches productrices se caractérisaient par des colonies de couleur noire indiquant une production de biofilm. En revanche, les souches non productrices forment des colonies de couleur rouge.



Conclusion

Conclusion

Ce travail nous a permis d'explorer la composition microbienne de la cavité buccale chez les patients sous traitement orthodontique. Grâce aux méthodes d'isolement et d'identification microbiologique utilisées, nous avons pu mettre en évidence une flore buccale variée, dominée principalement par des bactéries commensales, mais également par des micro-organismes opportunistes potentiellement pathogènes.

L'analyse biochimique des bactéries isolées à partir de la gencive et de la langue à montrer une prédominance de la famille des *Enterobacteriaceae*, représentant 62,5 % des isolats, suivie par les *Staphylococcaceae*, identifiées dans 37,5 % des cas. Ces résultats soulignent la diversité microbienne de la cavité buccale et la présence notable de bactéries d'origine entérique et cutanée, ce qui pourrait avoir des implications cliniques importantes.

Les résultats confirment que le port d'appareils orthodontiques peut favoriser l'accumulation de plaque et la modification de l'équilibre du microbiote buccal, créant ainsi un environnement propice au développement de pathogènes responsables de gingivites, voire de parodontites, si des mesures d'hygiène adaptées ne sont pas respectées.

Cette étude souligne donc l'importance d'une surveillance microbiologique et d'une éducation renforcée à l'hygiène bucco-dentaire chez les patients en traitement orthodontique. Elle ouvre également la voie à des recherches futures sur la résistance aux antibiotiques des souches identifiées et sur l'impact à long terme des traitements orthodontiques sur la santé buccale.

Finalement, Malgré l'intérêt scientifique et clinique de cette étude, sa réalisation a été fortement limitée par le manque de matériel, de réactifs et de ressources techniques nécessaires à une identification plus poussée et précise des souches isolées, donc ce projet souligne l'importance de disposer de moyens adaptés pour mener des recherches microbiologiques rigoureuses et ouvre la voie à de futurs travaux, plus complets, qui pourraient contribuer à une meilleure compréhension des pathologies bucco-dentaires et à l'amélioration des stratégies de prévention et de traitement.



Références bibliographiques

A

Antezack, A., & Monnet-Corti, V. (2018). Hygiène orale et parodontale chez les patients porteurs de dispositifs orthodontiques. *L Orthodontie Française*, 89(2), 181–190.
<https://doi.org/10.1051/orthodfr/2018015>

Arweiler, N. B., & Netuschil, L. (2016). The oral microbiota. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 45–60. https://doi.org/10.1007/978-3-319-31248-4_4

Azmi, A. H., Adnan, S. N. A., & Malik, N. A. (2020). The Prevalence of Staphylococcus aureus in the Oral Cavity of Healthy Adults in Malaysia. *Sains Malaysiana*, 49(3), 583–591.
<https://doi.org/10.17576/jsm-2020-4903-13>.

B

Bakari, D., Ekamba, J. M., Hamadou, M., Garga, Y., Baane, M., & Obono, F. (2022). Phenotypic Characterisation of Carbapenemases Produced by Enterobacteria Isolated from Patients of the Medico-Social Centre of the National Social Insurance Fund of Maroua: Cameroon. In *IntechOpen eBooks*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.102969>

Bercy, P., & Tenenbaum, H. (1996). *Parodontologie : Du diagnostic à la pratique*. De Boeck Supérieur.
<https://www.biomerieux.com/fr/fr.html>.

Bostanghadiri, N., Kouhzad, M., Taki, E., Elahi, Z., Khoshbayan, A., Navidifar, T., & Darban-Sarokhalil, D. (2024). Oral microbiota and metabolites: key players in oral health and disorder, and microbiota-based therapies. *Frontiers in Microbiology*, 15.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1431785>

Boswihi, S. S., Udo, E. E., & AlFouzan, W. (2020). Antibiotic resistance and typing of the methicillin-resistant Staphylococcus aureus clones in Kuwait hospitals, 2016–2017. *BMC Microbiology*, 20(1) <https://doi.org/10.1186/s12866-020-02009-w>

C

Campobasso, A., Lo Muzio, E., Battista, G., Caponio, V. C. A., Ciavarella, D., & Lo Muzio, L. (2022). The effect of orthodontic appliances on the Oral Candida colonisation: a

systematic review. *Australasian Orthodontic Journal*, 38(1), 51–62.

<https://doi.org/10.2478/aoj-2022-0006>

Chardin, H., Barsotti, O., & Bonnaure-Mallet, M. (2006). *Microbiologie en odontostomatologie.*

Chardin, H. (2002). Immunité de la cavité buccale.

D

De Freitas, A. O. A., Marquezan, M., Da Cunha Gonçalves Nojima, M., Alviano, D. S., & Maia, L. C. (2014). The influence of orthodontic fixed appliances on the oral microbiota: A systematic review. *Dental Press Journal of Orthodontics*, 19(2), 46–55.

<https://doi.org/10.1590/2176-9451.19.2.046-055.oar>.

Del Pilar Angarita-Díaz, M., Fong, C., & Medina, D. (2024). Bacteria of healthy periodontal tissues as candidates of probiotics: a systematic review. *European Journal of Medical Research*, 29(1). <https://doi.org/10.1186/s40001-024-01908-2>.

Denis, F., Ploy, M., Martin, C., & Cattoir, V. (2016). *Bactériologie médicale : Techniques usuelles.*

Deo, P., & Deshmukh, R. (2019). Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 23(1), 122. https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_304_18.

F

Fauchère, J., & Avril, J. (2002). *Bactériologie générale et médicale.* Ellipses Marketing.

Freeman, D. J., Falkiner, F. R., & Keane, C. T. (1989). New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*, 42(8), 872–874. <https://doi.org/10.1136/jcp.42.8.872>

G

Goje, A. (2024). Gender Differences in Adherence to orthodontic Practices: an evaluation of oral hygiene and appointment compliance: an observational study. *African Journal of Biomedical Research*, 1986–1993. <https://doi.org/10.53555/ajbr.v27i3s.2502>.

Guo, R., Lin, Y., Zheng, Y., & Li, W. (2017). The microbial changes in subgingival plaques of orthodontic patients: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *BMC Oral Health*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12903-017-0378-1>.

H

Heasman, P. (2003). *Restorative dentistry, paediatric dentistry and orthodontics.*

Hemeg, H. A. (2018). Molecular characterization of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolates recovered from food samples and outpatient Clinics, KSA. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(5), 928–931. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.01.016>.

Hodges, K., Famuliner, P., Kingsley, K., & Howard, K. M. (2024). Oral Prevalence of *Selenomonas noxia* Differs among Orthodontic Patients Compared to Non-Orthodontic Controls: A Retrospective Biorepository Analysis. *Pathogens*, 13(8), 670. <https://doi.org/10.3390/pathogens13080670>.

K

Khelaifia, S., Virginie, P., Belkacemi, S., Tassery, H., Terrer, E., & Aboudharam, G. (2023). Culturing the human oral microbiota, updating methodologies and cultivation techniques. *Microorganisms*, 11(4), 836. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040836>.

Kilian, M., Chapple, I. L. C., Hannig, M., Marsh, P. D., Meuric, V., Pedersen, A. M. L., Tonetti, M. S., Wade, W. G., & Zaura, E. (2016). The oral microbiome – an update for oral healthcare professionals. *BDJ*, 221(10), 657–666. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.865>.

L

Lamont, R. J., Hajishengallis, G., & Jenkinson, H. F. (2013). *Oral Microbiology and immunology*. Amer Society for Microbiology.

Larousse, <https://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/bouche/17744>.

Lautrou, A. (1997). *Anatomie dentaire*. Elsevier Masson.

M

Mager, D. L., Ximenez-Fyvie, L. A., Haffajee, A. D., & Socransky, S. S. (2003). Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(7), 644–654. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2003.00376.x>.

Marsh, P. D. (2003). Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology*, 149(2), 279–294. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26082-0>.

Mattout, P., Mattout, C., & Nowzari, H. (2003). *Parodontologie : le contrôle du facteur bactérien par le praticien et par le patient*.

Mouton, C., & Robert, J. C. (1994). *Bactériologie bucco-dentaire*. Elsevier Masson.

N

Nagel, R. (2015). *Cure gum disease naturally: Heal Gingivitis and Periodontal Disease with Whole Foods.*

Nair, V., Karibasappa, G., Dodamani, A., & Prashanth, V. (2016). Microbial contamination of removable dental prosthesis at different interval of usage: An in vitro study. *The Journal of Indian Prosthodontic Society, 16*(4), 346. <https://doi.org/10.4103/0972-4052.176536>.

Newman, M. G., & Carranza, F. A. (2006). *Clinical periodontology.* Saunders.

P

Pellissari, B. A., Sabino, G. S. P., De Souza Lima, R. N., Motta, R. H. L., Suzuki, S. S., Garcez, A. S., Basting, R. T., Barbosa, J. A., & Montalli, V. a. M. (2021). Antimicrobial resistance of bacterial strains in patients undergoing orthodontic treatment with and without fixed appliances. *The Angle Orthodontist, 91*(5), 672–679. <https://doi.org/10.2319/120720-990.1>.

Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2003). *Microbiologie.* De Boeck Supérieur.

R

Rewatkar, A.R. and Wadher, B.J. (2013). *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm formation Methods. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences 8*(5): 36-40.

Ray, R. R., Nag, M., & Lahiri, D. (2021). *Biofilm-Mediated Diseases: Causes and Controls.* Springer.

S

Sanketh, D., & Amrutha, N. (2013). Microbial flora in oral diseases. *The Journal of Contemporary Dental Practice, 14*(6), 1202–1208. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1477>.

Sulaiman, Y., Pacauskienė, I. M., Šadzevičienė, R., & Anuzyte, R. (2024). Oral and gut microbiota dysbiosis due to periodontitis: Systemic Implications and Links to Gastrointestinal Cancer: A Narrative review. *Medicina, 60*(9), 1416. <https://doi.org/10.3390/medicina60091416>.

V

Vigarios, E., De Bataille, C., Boulanger, M., Fricain, J., & Sibaud, V. (2015). Variations physiologiques de la langue. *Annales De Dermatologie Et De Vénérologie*, 142(10), 583–592. <https://doi.org/10.1016/j.annder.2015.05.004>.

W

Weyrich, L. S. (2020). The evolutionary history of the human oral microbiota and its implications for modern health. *Periodontology 2000*, 85(1), 90–100. <https://doi.org/10.1111/prd.12353>.

Willis, J. R., & Gabaldón, T. (2020). The human oral microbiome in Health and Disease: From sequences to ecosystems. *Microorganisms*, 8(2), 308. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020308>.

Wu, J., Peters, B. A., Dominianni, C., Zhang, Y., Pei, Z., Yang, L., Ma, Y., Purdue, M. P., Jacobs, E. J., Gapstur, S. M., Li, H., Alekseyenko, A. V., Hayes, R. B., & Ahn, J. (2016). Cigarette smoking and the oral microbiome in a large study of American adults. *The ISME Journal*, 10(10), 2435–2446. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.37>.

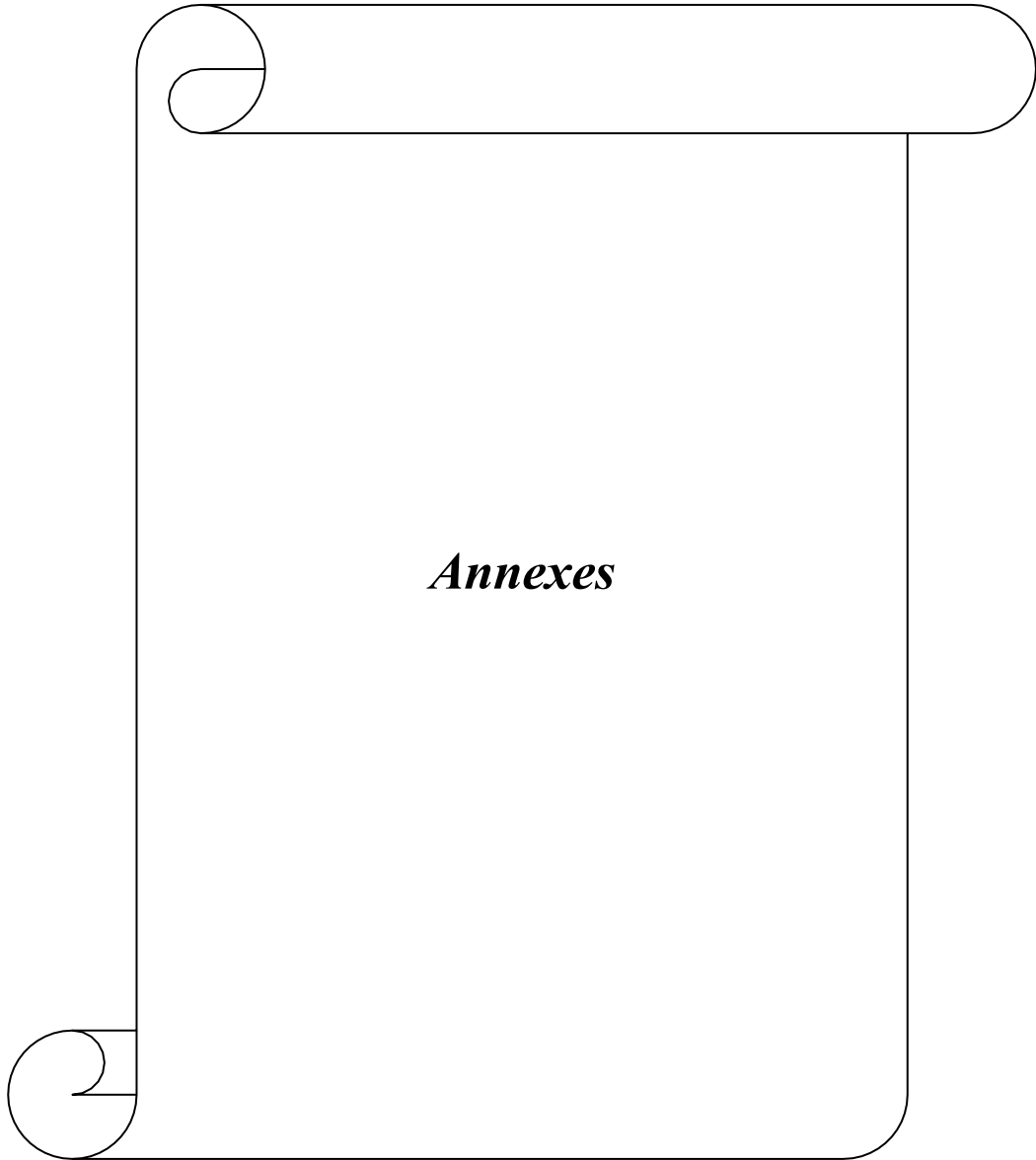
X

Xing, Y., Shi, H., Wang, C., & Yang, Y. (2024). Clinical features and risk factors for Sjogren’s syndrome patients suffering from oral candidiasis in Shanxi, China. *BMC Oral Health*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12903-024-04595-x>.

Xu, X., He, J., Xue, J., Wang, Y., Li, K., Zhang, K., Guo, Q., Liu, X., Zhou, Y., Cheng, L., Li, M., Li, Y., Li, Y., Shi, W., & Zhou, X. (2014). Oral cavity contains distinct niches with dynamic microbial communities. *Environmental Microbiology*, 17(3), 699–710. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12502>.

Z

Zhao, M., Yu, C., Su, C., Wang, H., Wang, X., Weir, M. D., Xu, H. H. K., Liu, M., Bai, Y., & Zhang, N. (2024). Dynamic effects of fixed orthodontic treatment on oral health and oral microbiota: a prospective study. *BMC Oral Health*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12903-024-05356-6>.


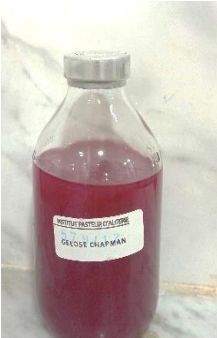


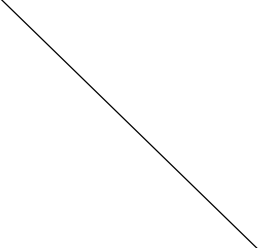


Annexes



























1. Matériel non biologique

Catégories	Matériels
Appareils / Équipements	Autoclave, Étuve à 37°C, Réfrigérateur, Microscope optique, Bec Bunsen, Portoir
Milieux de culture (géluses)	Gélose Hektoen, Gélose Chapman, Gélose Mueller-Hinton, Milieu de Rouge Congo.
Milieux d'enrichissement	Bouillons BHIB
Réactifs de coloration	Fuchsine, Lugol, Violet gentiane, Huile à immersion.
Réactifs biochimiques	Réactif de Kovacs, Réactifs de TDA, Réactifs de VP1 et VP2, Eau oxygénée
Solutions	Eau distillée, Eau physiologique stérile.
Antibiotiques / Disques	Disques d'antibiotiques : AMC (Amoxicilline -Acide clavulanique), VA (Vancomycine), E (Érythromycine), CN (Gentamicine), CZ (Cefazoline), FOX (Cefoxitine), CTX (Cefotaxime), FA (Fusidic Acid), TEC (Teicoplanine), K (Kanamycine), DA (Clindamycine), RA(Rifampicine).
Autres matériels	Lames, Lamelles, Tubes à essai stériles, Boîtes de Pétri stériles, Pipettes Pasteur, Micropipette, Écouvillons, Anse de platine, Pince, Marqueur, Galerie API 20 E.




2. Composition des milieux de culture

Milieu	Utilisation principale	Composition principale (pour 1 L)	Photo originale
Hektoen	Isolement des <i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i>	Peptone : 12 g Sels biliaires : 9 g Lactose, saccharose, salicine : 12 g, 12 g, 2 g- Thiosulfate de sodium : 5 g- Citrate ferrique : 1,5 g- Colorants : fuchsine acide, bleu de bromothymol- Agar : 13,5 g	
Chapman (mannitol salé)	Isolement des <i>Staphylococcus</i> , surtout <i>S. aureus</i>	-Peptone : 10 g Extrait de viande : 1 g Mannitol : 10 g NaCl : 75 g Rouge de phénol : 0,025 g Agar : 15 g	
Mueller-Hinton (MH)	Test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)	Caséine hydrolysée : 17,5 g- Extrait de bœuf : 2 g- Amidon : 1,5 g- Agar : 17 g- pH : 7,2 à 7,4	
BHIB (Bouillon Cerveau-Cœur)	Culture de bactéries exigeantes (<i>Streptococcus</i> , anaérobies)	Peptone de gélatine (16g) Peptone de caséine (10g) Cétrimide (0.2g) Sulfate de potassium (10g) Chlorure de magnésium (1,4g) Agar (10g) pH = 7,1	
Rouge Congo Agar	Pour les bactéries formatrices de biofilm	Bouillon cœur-cerveau (BHI) 37 g/L Saccharose 50 g/L Agar 10 g/L Colorant Rouge Congo 0.8 g/L pH = 7.1	

3. Tableau de lecture de galerie API 20 E (Biomérieux).

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
GNPO	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	Lecture directe		
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Lecture directe		
LDC	Lysine	Lysine decarboxylase	Lecture directe		
ODH	Ornithine	Ornithine decarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane déaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétolactone	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU & ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₃ ⁻ / H ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte du réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Annexe 5

<p>Préparation de milieu Rouge Congo</p>	
<p>Milieu Rouge Congo</p>	
<p>Mesure de pH du milieu</p>	

Annexe 6 : Tableau des Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition des Entérobactéries (CLSI, 2014)

Antibiotique testé	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critique (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ampicilline	10 µg	≤13	14-16	≥17	≥32	16	≤8
Amoxicilline+Ac clavulanique	20/10 µg	≤13	14-17	≥18	≥32/16	16/8	≤8/4
Céfazoline	30 µg	≤19	20-22	≥23	≥8	4	≤2
Céfoxitine	30 µg	≤14	15-17	≥18	≥32	16	≤8
Cefotaxime	30 µg	≤22	23-25	≥26	≥4	2	≤1
Céftazidime	30 µg	≤17	18-20	≥21	≥16	8	≤4
Azteronam	30 µg	≤17	18-20	≥21	≥16	8	≤4
Amikacine	30 µg	≤14	14-16	≥17	≥64	32	≤16
Gentamicine	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Acide nalidixique	30 µg	≤13	14-18	≥19	≥32	---	≤16
Ciprofloxacine	5 µg	<15	16-20	≥21	≥4	2	≤1
Chloramphénicol	30 µg	<12	13-17	≥18	≥32	16	≤8
Fosfomycine	200 µg	≤12	13-15	≥16	≥256	126	≤64

Annexe 7 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus*.

Antibiotique	Charge du disque	Résistant (R)	Sensible (S)
Pénicilline G	6 µg (10 UI)	< 28 mm	≥ 29 mm
Oxacilline	—	< 20 mm	≥ 20 mm
Céfoxitine	30 µg	< 25 mm	≥ 27 mm
Kanamycine	30 UI	< 15 mm	≥ 17 mm
Gentamicine	15 µg (10 UI)	< 20 mm	≥ 24 mm
Tobramycine	10 µg	< 20 mm	≥ 16 mm
Érythromycine	15 UI	< 19 mm	≥ 22 mm
Clindamycine	2 UI	< 14 mm	≥ 14 mm

Pristinamycine	15 µg	< 19 mm	≥ 20 mm
Ofloxacin	5 µg	< 22 mm	≥ 22 mm
Tétracycline	30 UI	< 21 mm	≥ 20 mm
Rifampicine	30 µg	< 24 mm	≥ 29 mm
Fosfomycine	50 µg	< 14 mm	≥ 20 mm
Acide fusidique	10 µg	< 24 mm	≥ 21 mm
Teicoplanine	30 µg	—	≥ 23 mm
Vancomycine	30 µg	—	≥ 22 mm
Cotrimoxazole	—	< 13 mm	≥ 22 mm
Nitrofuranes	300 µg	< 15 mm	≥ 29 mm

Résumé

Le traitement orthodontique, en particulier avec des appareils fixes, peut perturber l'équilibre de la microflore buccale en favorisant l'accumulation de biofilms et en créant des conditions favorables à la prolifération de micro-organismes pathogènes. Cette étude a pour but d'isoler et d'identifier les principales espèces bactériennes chez les patients soumis à un traitement orthodontique. Au total, 60 échantillons ont été prélevés sur 30 individus dans deux sites intra-oraux : les gencives et la langue. L'analyse microbiologique, réalisée à l'aide de milieux de culture sélectifs, de la coloration de Gram et de tests biochimiques, a révélé une prédominance de bactéries à Gram négatif telles que *Klebsiella spp*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes* et *Flavimonas oryzihabitans*. Des bactéries à Gram positif telles que *Staphylococcus aureus* ont également été fréquemment isolées. Ces micro-organismes opportunistes sont fortement associés aux maladies bucco-dentaires observées chez les patients étudiés, notamment les caries dentaires, la gingivite et les premiers signes de parodontite. Plusieurs souches isolées ont montré une résistance significative à certains antibiotiques, soulignant l'importance d'un suivi ciblé et d'une utilisation rationnelle des traitements antimicrobiens. Ces résultats soulignent la nécessité de renforcer les mesures préventives, y compris une hygiène bucco-dentaire rigoureuse, des visites dentaires régulières et un suivi microbiologique tout au long du traitement orthodontique.

Mots-clés : Orthodontie, cavité buccale, microflore buccale, gingivite, parodontite, antibiotiques.

Abstract

Orthodontic treatment, particularly with fixed appliances, can disrupt the balance of the oral microflora by promoting biofilm accumulation and creating conditions favorable to the proliferation of pathogenic microorganisms. This study aims to isolate and identify the main bacterial species in patients undergoing orthodontic treatment. A total of 60 samples were collected from 30 individuals at two intraoral sites: the gums and the tongue. Microbiological analysis, performed using selective culture media, Gram staining, and biochemical tests, revealed a predominance of Gram-negative bacteria such as *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, and *Flavimonas oryzihabitans*. Gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus* were also frequently isolated. These opportunistic microorganisms are strongly associated with oral diseases observed in the studied patients, including dental caries, gingivitis, and early signs of periodontitis. Several isolated strains showed significant resistance to certain antibiotics, highlighting the importance of targeted follow-up and rational use of antimicrobial treatments. These findings emphasize the need for reinforced preventive measures, including rigorous oral hygiene, regular dental visits, and microbiological monitoring throughout the orthodontic treatment.

Keywords: Orthodontics, Oral cavity, Oral microflora, Gingivitis, Periodontitis, Antibiotics.

ملخص

يهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير العلاج التجميلي الثابت على توازن الميكروبيوتا الفموية. تم جمع 60 عينة من 30 فرداً من مواقع داخل الفم (اللثة واللسان). التحليل الميكروبيولوجي أظهرت هيمنة البكتيريا سالبة الجرام مثل *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes* و *Flavimonas oryzihabitans*. كما تم عزل بكتيريا سالبة الجرام مثل *Staphylococcus aureus* بشكل متكرر. هذه الكائنات الحية الانتهازية ترتبط ارتباطاً وثيقاً بأمراض الفم التي لوحظت لدى المرضى المدروسين، مثل تسوس الأسنان، التهاب اللثة، وعلامات مبكرة من أمراض اللثة. أظهرت بعض السلالات المعزولة مقاومة ملحوظة لبعض المضادات الحيوية، مما يؤكد على أهمية المتابعة المستهدفة والاستخدام العقلاني للعلاجات المضادة للميكروبات. تؤكد هذه النتائج على الحاجة إلى تعزيز التدابير الوقائية، بما في ذلك العناية الفموية الجيدة، زيارات الأسنان المنتظمة، والمراقبة الميكروبيولوجية المستمرة طوال فترة العلاج التجميلي.

كلمات مفتاحية: *spp.*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, and *Flavimonas oryzihabitans*.

الميكروبيوتا موجبة الجرام مثل *Staphylococcus aureus*.

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير العلاج التجميلي الثابت على توازن الميكروبيوتا الفموية. تم جمع 60 عينة من 30 فرداً من مواقع داخل الفم (اللثة واللسان). التحليل الميكروبيولوجي أظهرت هيمنة البكتيريا سالبة الجرام مثل *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes* و *Flavimonas oryzihabitans*. كما تم عزل بكتيريا سالبة الجرام مثل *Staphylococcus aureus* بشكل متكرر. هذه الكائنات الحية الانتهازية ترتبط ارتباطاً وثيقاً بأمراض الفم التي لوحظت لدى المرضى المدروسين، مثل تسوس الأسنان، التهاب اللثة، وعلامات مبكرة من أمراض اللثة. أظهرت بعض السلالات المعزولة مقاومة ملحوظة لبعض المضادات الحيوية، مما يؤكد على أهمية المتابعة المستهدفة والاستخدام العقلاني للعلاجات المضادة للميكروبات. تؤكد هذه النتائج على الحاجة إلى تعزيز التدابير الوقائية، بما في ذلك العناية الفموية الجيدة، زيارات الأسنان المنتظمة، والمراقبة الميكروبيولوجية المستمرة طوال فترة العلاج التجميلي.

الميكروبيوتا موجبة الجرام مثل *Staphylococcus aureus*.

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA -1-



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département de biologie

Projet de Fin d'Études

Pour l'obtention du diplôme de Master en : Science Biologique.

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Thème

**Isolement et identification de la flore buccale chez les patients porteurs
d'appareils orthodontiques fixes**

Réalisé par :

M^{lle}. MAHREZ Nesrine

Devant le jury :

Mme EDDAIKRA A.	MCA	Université de Blida-1-	Présidente
Mme AIT SAADI N.	MCA	Université de Blida-1-	Examinatrice
Mme ZEROUTI K.	MCB	Université de Blida-1-	Promotrice
Mme Henni FZ.	Doctorant	Université de Blida-1-	Co-Promotrice

Année universitaire 2024-2025