



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie appliqué

قسم :

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

Filière : Biotechnologie.

Spécialité : Biotechnologie et Biothérapie.

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Exploration des bactéries d'origine buccale pour des applications dans la santé et l'agroalimentaire.

Présenté par : CHERBAL Amani Malak.
BOUKERZAZA Amina.

Le : 11/06/2024

Jury d'évaluation :

Président : Dr Milet E (Prof - U Constantine 1 Frère Mentouri).

Encadrant : Pr. Kacem Chaouche N (Prof- U Constantine 1 Frère Mentouri).

Examineur : Dr Benchiheb M (Prof - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire :
2023 – 2024

Remerciement

Nous tenons à remercier **DIEU** qui nous a donné la volonté et la patience d'étudier et nous a aidé à réaliser ce travail.

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance et nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont, de près ou de loin, contribué à la réalisation de ce mémoire, principalement :

Ce travail n'aurait pas été aussi riche sans l'aide et l'encadrement de Monsieur le Professeur **KACEM-CHAOUCHE Nouredine**. Nous le remercions profondément pour sa guidance experte, son dévouement et ses précieux conseils. Son expertise et sa disponibilité ont été essentielles pour approfondir nos connaissances et mener à bien cette recherche. Sa passion pour le sujet nous a inspirés et motivés à donner le meilleur de nous-mêmes.

Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude à Monsieur **BENLABED K.**, chef du service de laboratoire de microbiologie du CHU de Constantine, pour son accueil chaleureux et ses précieux conseils tout au long de notre travail de recherche.

Nous tenons à exprimer notre sincère reconnaissance et nos remerciements à Madame **BENCHIHEUB M.** pour ses efforts, ses conseils, ses encouragements et ses orientations.

Nous remercions très sincèrement Madame **Milet E** professeur à l'Université Mentouri Constantine, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ce mémoire.

Nous souhaitons remercier tous ceux qui ont participé à cette recherche Mme **Khadidja**, Mme **Lamiya**, Mr **Ahmed**, en tant que participants, pour leur temps et leur collaboration. Leur contribution a été précieuse pour la réalisation de cette étude et la qualité des résultats obtenus.

Nous sommes conscients que la réalisation de ce travail de recherche n'aurait pas été possible sans l'appui et les conseils de toutes les personnes mentionnées ci-dessus. Nous sommes extrêmement reconnaissants pour leur aide et leur soutien tout au long de notre parcours académique.

Dédicace

À ma source d'inspiration quotidienne, à ma famille et à mes amis qui sont les fondations solides de ma vie, je dédie ces mots empreints de tendresse et de reconnaissance infinie.

À celle qui est bien plus qu'une mère, qui a rempli ma vie de tendresse et d'espoir, qui est ma raison d'être et ma raison de vivre, aucun hommage ne peut véritablement exprimer l'amour éternel et la gratitude que je ressens pour les sacrifices incommensurables que vous avez consentis pour mon éducation et mon bien-être.

Ma très chère mère : **Farida**

À l'homme qui incarne toute ma gratitude et mon admiration, celui que Dieu a envoyé comme une précieuse bénédiction dans ma vie, mon modèle éternel qui s'est constamment sacrifié pour mon bonheur. Les mots ne seront jamais suffisants pour exprimer ma reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour moi, Que Dieu vous comble de santé et de bonheur tout au long de votre vie.

Mon très cher père : **Rachid**

À ma sœur **Nour El Houda**, complice de mes souvenirs les plus chers, et confidente de mes rêves les plus fous, je dédie ces quelques mots remplis de tendresse et de gratitude. Ta présence dans ma vie est un cadeau précieux que je chéris chaque jour. Que notre lien continue à s'épanouir dans la complicité et la bienveillance, et que nos moments partagés restent gravés dans nos cœurs pour toujours.

A mon très cher frère **Ouassim**, votre soutien et votre présence ont été essentiels pour moi, Merci d'avoir été à mes côtés à chaque étape de ma vie. Je t'aime plus que tout au monde. Puisse dieu te donne santé, bonheur, courage et surtout de réussite.

A tous mes chère oncles et tantes surtout mon petit oncle **Djamel** et ma tante **Karima** merci pour votre amour et encouragements.

À toutes mes chères amies, et tout particulièrement à **Djihene, Riheme, Nesrine** et **Rayene**, qui n'ont jamais cessé de me soutenir, je vous souhaite une vie remplie de bonheur et de succès.

A Mon très cher binôme **Amina**, Travailler avec toi est un véritable privilège. Ensemble, nous avons surmonté des défis, partagé des rires et célébré des réussites. Ta passion, ton dévouement et ton esprit d'équipe sont une source d'inspiration quotidienne. Merci pour ton soutien inébranlable et ta camaraderie. Que notre collaboration continue de prospérer et de nous mener vers de nouveaux sommets.

Amani Malak

Dédicace

À mes chers parents, **Hacene** et **Samia**, Je souhaite vous adresser toute ma reconnaissance pour l'amour, le soutien et les encouragements que vous m'avez prodigués sans relâche tout au long de ma vie. Vous êtes mes piliers, ma source de force et d'inspiration. Les mots ne suffisent pas à exprimer toute ma gratitude pour tout ce que vous avez fait pour moi. Je vous suis infiniment reconnaissante et je vous serai éternellement reconnaissante pour votre présence inébranlable dans ma vie. Merci du fond du cœur pour tout.

À mes frères et sœurs, **Zineb**, **Raouf** et **Anis**, je veux souligner votre caractère exceptionnel, votre courage et votre gentillesse. Je suis convaincue que vous accomplirez de grandes choses dans la vie.

À ma grand-mère, à mes oncles et tantes, en particulier **Boubaker**, **Sana** et **Khadîdja**, je suis reconnaissante pour votre soutien indéfectible. Vos conseils, vos encouragements et votre amour m'ont aidée à traverser les moments difficiles et à réussir.

À ma belle-sœur Khadîdja et mon beau-frère **Houcine**, merci pour votre soutien et vos encouragements qui m'ont donné force et courage.

Aux enfants de ma sœur et de mon frère, **Oussama**, **Djawed**, **Firass** et **Qamar**, je souhaite une vie longue et heureuse, pleine de réussite et de bonheur.

À **Rayane**, **Djihene**, **Nesrine**, **Maroua** et **Mizou** ; Je tiens à vous exprimer toute ma gratitude pour votre soutien infaillible et votre amitié sincère qui ont marqué chaque étape de mon parcours académique. Votre présence bienveillante, vos encouragements constants et votre soutien inconditionnel ont été des piliers essentiels pour moi. Chaque moment partagé, chaque mot d'encouragement ont été une source d'inspiration et de motivation précieuse. Je suis profondément reconnaissante d'avoir pu compter sur vous tout au long de cette aventure. Merci pour votre générosité, votre amitié et votre soutien sans faille. Je vous porte dans mon cœur avec une immense affection.

Enfin, à ma chère **Malak** et à sa famille, mon incroyable binôme de travail, je suis reconnaissante d'avoir eu la chance de travailler à tes côtés. Merci pour les moments de rires, de joie, de stress et de réussite que nous avons partagés. Cette réussite est le fruit de notre collaboration, et je suis fière de dire que tu es mon binôme. Je suis convaincue que nous aurons encore de nombreuses victoires à célébrer ensemble dans le futur.

Amina

SOMMAIRE

Liste des tableaux	8
Liste des figures	9
Liste d'abréviation :	11
Introduction	1
1. Revue bibliographique.....	4
1.1 Ecosystème buccale.....	4
1.2 Microflore de la cavité buccale	5
1.3 Importance de barrière microbienne.....	6
1.4 Les infections de la cavité buccale	7
1.4.1 Principale cause d'infection buccales.....	7
1.5 Généralité sur <i>Streptococcus salivarius</i>	7
1.5.1 Définition	7
1.5.2 Classification.....	9
1.5.3 Habitat	9
1.5.4 Caractères cultureux	9
1.5.5 Métabolisme.....	10
1.5.6 Potentiel au tant que probiotique	11
1.5.7 Pouvoir pathogène.....	11
1.6 Généralité sur <i>Lactobacillus</i>	12
1.6.1 Définition	12
1.6.2 Taxonomie	14
1.6.3 Classification d'Orla-Jensen.....	14
1.6.4 Caractères cultureux	15
1.6.5 Effet probiotique des <i>Lactobacillus</i>	15
1.7 Phénomènes des interactions entre les bactéries	15
1.8 Les probiotiques	17
1.8.1 Définitions	17
1.8.2 Souches à fort potentiel probiotique.....	17
1.8.3 Critères de sélection des probiotiques	18
1.8.4 Allégations santé	19
1.8.5 Allégations agro alimentation	19
2. Matériel et méthodes	22
2.1 Objectif de l'étude.....	22
2.2 Prélèvement.....	22

2.2.1	Prélèvement de la salive	22
2.2.2	Prélèvement de la gorge	23
2.2.3	Prélèvement du crachat.....	23
2.2.4	Transport des prélèvements	24
2.3	Identification de <i>Streptococcus salivarius</i>	24
2.3.1	Examen macroscopique.....	25
2.3.2	Examen microscopique	25
2.3.3	Identification biochimique.....	25
2.3.4	Identification automatisé	26
2.3.5	Antibiogramme par diffusion sur gélose	27
2.4	Isolement de <i>Lactobacillus sp.</i>	28
2.4.1	Etude macroscopique	28
2.4.2	Etude microscopique	28
2.5	Interaction bactériens entre <i>Lactobacillus sp.</i> et <i>Streptococcus salivarius</i> (antagonisme)	29
3.	Résultats et discussion.....	31
3.1	Isolement et identification de <i>Streptococcus salivarius</i>	31
3.1.1	Examen macroscopique.....	31
3.1.2	Examen microscopique	32
3.1.3	Identification biochimique.....	33
3.1.4	Identification automatisée.....	34
3.1.5	Antibiogramme par diffusion sur gélose	35
3.2	Isolement de <i>Lactobacillus sp.</i>	36
3.2.1	Etude Macroscopique	36
3.2.2	Etude Microscopique.....	37
3.3	Interaction bactériens entre <i>Lactobacillus sp.</i> et <i>Streptococcus salivarius</i> (antagonisme)	39
	Conclusion	40
	Résumé	41
	Références.....	45
	Les Annexes.....	54

Liste des tableaux

Tableau 1: Principaux genres bactériens de la cavité buccale (Chardin *et al.*, 2006).....5

Tableau 2 : Principaux agents infectieux responsables d’infections buccales. Adapté de (Sixou *et al.*, 2007).7

Tableau 3 : Le plan taxonomique de *S. salivarius*9

Tableau 4: Liste des principales souches microbiennes considérées comme probiotiques. Adapté de (Holzapfel *et al.*, 2001).17

Tableau 5 : Principaux critères de sélection des probiotiques. Adapté de (Gueimonde et Salminen, 2006 ; Ouwehand *et al.*, 2002 ; Saarela *et al.*, 2000 ; Klaenhammer et Kullen, 1999).18

Tableau 6 : Moyenne de zone d’inhibition (mm) de *S. salivarius* contre différents antibiotiques.35

Tableau 7 : Aspect macroscopique des colonies obtenues sur milieu MRS.....37

Liste des figures

Figure 1 : composition de lait maternel (Łubiech et Twarużek, 2020) ..**Error! Bookmark not defined.**

Figure 2: Structure de *Streptococcus salivarius* : cocci Gram+ en chaînette (crédit photo A. JABOL).....8

Figure 4: Photos des colonies hémolytiques (Pilgrim, 2020).10

Figure 5:Structure de *Lactobacillus* (Tailliez, 2004)13

Figure 6 : Ecouvillons utilisés pour les prélèvement d'échantillons.....23

Figure 7 : Exemple de renseignements enregistrés.24

Figure 8 : Boîtes de Pétri prêtes à être incubées (antibiogramme).28

Figure 9 : Automate Vitek 2..27

Figure 10 : Aspect macroscopique des colonies obtenues sur gélose au sang cuit.....31

Figure 11 : Aspect macroscopique des colonies obtenues sur milieu gélose au sang frais31

Figure 12: Aspect microscopiques des colonies isolés (x40)32

Figure 13 : Aspect microscopique des colonies isolés (x100).....32

Figure 14 : Aspect microscopiques des isolats après coloration de Gram (x100).33

Figure 15 : Résultat de test oxydase (-).....33

Figure 16 : Résultat de test catalase (-).....34

Figure 17 : Présentation de résultat d'identification par VITEK 2.34

Figure 18 : Résultat d'antibiogramme de *S. salivarius* contre différent antibiotiques ; 8- Chloramphénicol, 9- Erythromycine, 10- Clindamycine, 11- Pristinamycine, 12- Vancomycine, 13- Lévoﬂoxacine35

Figure 19 : Résultat d'antibiogramme de *S. salivarius* contre différent antibiotiques 1- Pénicilline, 2-Amoxicilline, 3-Cefazoline, 4-Cefatoxime, 5-Minocycline, 6- Gentamycine ...35

Figure 20 : Aspect microscopiques des cellules isolés. (x100)38

Liste des figures

Figure 21 : Aspect microscopiques des cellules isolés (x40).....	38
Figure 22 : Aspect microscopiques des isolats après coloration de Gram (x100).	38
Figure 23 : Pouvoir antagoniste de <i>Lactobacillus sp.</i> sur <i>Streptococcus salivarius</i>	39

Liste d'abréviation :

ADN Acide désoxyribonucléique

ANT Antibiotique

ARN Acide ribonucléique ribosomale.

B *Bifidobactérium*

BCC Bouillon Cœur ceveral

C° Degré Celsius

CHUC Centre hospitalo-universitaire situé à Constantine

E. coli *Escherichia coli*

GSF Gélose au sang frais

GP Gram positive

H₂O Eau

H₂O₂ Peroxyde d'hydrogène

LB *Lactobacillus*

MH Muller Hinton

MRS De Man, Rogosa et Sharpe

nm Nanomètre

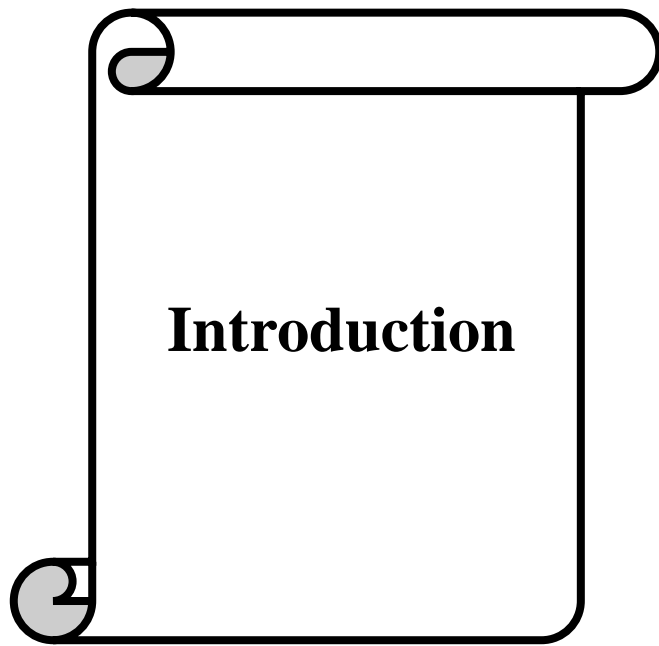
ORL Oto-rhino-laryngologiste

S *Streptococcus*

SIDA Syndrome d'Immunodéficience Acquise

VIH Virus de l'immunodéficience humaine

VOL Volume



Introduction

Introduction

Les micro-organismes sont présents sur les tissus de surface de tous les êtres humains tels que ; la peau, la cavité buccale, les voies respiratoires, le tractus gastro-intestinal et le tractus urogénital. Le nombre et le type de ces micro-organismes varient en fonction de l'âge, du régime alimentaire et du niveau d'hygiène personnelle de la personne. Ils sont collectivement appelés microflore normale du corps humain (Sharma *et al.*, 2018).

La cavité buccale représente un écosystème complexe et diversifié étant, l'un des sites les plus riches en micro-organismes de tout le corps humain. Il est considéré comme le deuxième microbiote le plus abondant et le plus varié après celui de l'intestin. Il renferme en effet, plus de 700 espèces de bactéries. La cavité buccale offre, par conséquent, un environnement propice (humidité, nutriments) à une multitude de micro-organismes incluant des bactéries, des champignons, des virus. La population microbienne présente dans la bouche se répartit sur différents sites oraux et s'implante à des niveaux de concentration variables (Prosper *et al.*, 2024).

La grande variété de microorganismes présents dans la cavité buccale a été largement étudiée, et la plupart jouent un rôle crucial dans le maintien d'un équilibre sain, cependant, certains peuvent agir comme des agents pathogènes opportunistes, contribuant à des affections telles que ; la carie dentaire et la parodontite (Yamashita et Takeshita, 2017). Cet équilibre délicat entre les différentes espèces microbiennes est essentiel pour assurer la santé et le bon fonctionnement de l'organisme.

Dans cavité buccale humaine, les micro-organismes entretiennent une relation symbiotique basée sur des avantages mutuels. Les populations commensales, qui cohabitent sans causer de dommages, jouent un rôle crucial en maintenant un contrôle sur les espèces pathogènes. Elles empêchent, de ce fait, ces dernières d'adhérer à la muqueuse (Avila *et al.*, 2009).

L'exploration de cette microflore buccale représente un intérêt croissant pour le développement de nouvelles applications dans les domaines de la santé et de l'agroalimentaire (Babina *et al.*, 2022). L'étude de ces bactéries dans la santé et l'agroalimentaire revêt une importance capitale dans un contexte où la résistance aux antibiotiques est en constante augmentation. En exploitant les propriétés bénéfiques des bactéries buccales, il est possible de développer des alternatives thérapeutiques novatrices tels que ; des probiotiques ciblés ou des thérapies personnalisées basées sur la composition du microbiome oral.

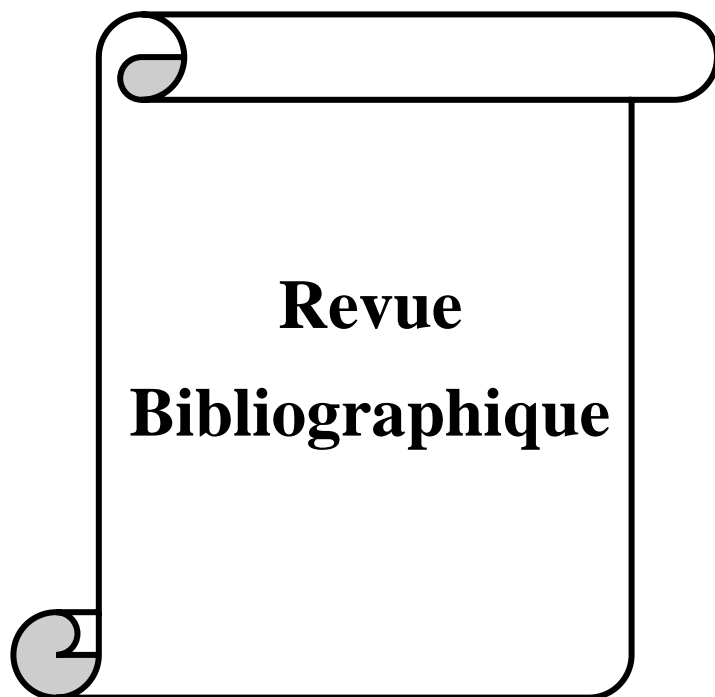
Dans le domaine de la santé, les bactéries buccales pourraient être utilisées pour lutter contre les pathogènes responsables des infections orales, comme *Streptococcus mutans*, principal agent de la carie dentaire (Xiao *et al.*, 2020). Certaines espèces bactériennes produisent des substances antimicrobiennes naturelles qui pourraient servir de socle au développement de nouveaux traitements. De plus, l'étude du microbiome buccal pourrait permettre d'identifier des biomarqueurs pour le diagnostic précoce de maladies systémiques comme le cancer ou le diabète (Negash et Tsehai, 2020).

Dans le domaine de l'agroalimentaire, les bactéries buccales peuvent également jouer un rôle important. Leur utilisation dans des processus de fermentation alimentaire, à titre d'exemple, peut contribuer à améliorer la sécurité alimentaire, à prolonger la durée de conservation des aliments. De plus, la détection précoce de contaminants microbiens dans les aliments, pour répondre aux enjeux actuels de l'industrie agroalimentaire. Grâce à ces bactéries pourrait permettre d'éviter des problèmes sanitaires majeurs (Wade, 2021).

A cet effet, l'objectif de ce mémoire est d'étudier l'impact de certaines des bactéries buccales sur certains agents microbiens affectant la santé humaine en cherchant les mécanismes de cet impact d'une part, et de contribuer à élucider la méthode de leur incorporation dans le domaine agro-alimentaire d'autre part.

Pour ce faire, le plan de cette étude se situe en 3 parties principales :

- Isolement, purification de *Streptococcus salivarius*, comme agent opportuniste à partir des prélèvements buccaux suivi de son identification partielle en déterminant les caractéristiques morphologiques, biochimiques et technologiques.
- Recherche et isolement de bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* du même écosystème (prélèvement salivaire) susceptibles de développer un effet antagoniste sur la bactérie *Streptococcus salivarius*.
- Evaluation de l'interaction bactérienne entre les isolats du genre *Lactobacillus* et la bactérie *Streptococcus salivarius*.



**Revue
Bibliographique**

1. Revue bibliographique

1.1 Ecosystème buccale

La population microbienne présente dans la bouche se répartit sur différents sites oraux et s'implante à des niveaux de concentration variables (Prosper *et al.*, 2024). Chez les adultes, on estime qu'il y a environ 1.10^8 bactéries par milligramme de plaque dentaire et 100 bactéries par cellule épithéliale sur le dos de la langue (Gibbons et Houte, 1975). Ainsi la concentration bactérienne dans la salive varie selon les différentes études, se situant entre $4.3.10^6$ et $5.5.10^9$ bactéries par millilitre (Goldberg *et al.*, 1999). Dans lequel le nombre total de bactéries dans la bouche peut être estimé à environ 10 milliards de micro-organismes (Doctissimo, 2019).

Le microbiote buccal est acquis à la naissance à partir des microbiotes maternels et environnementaux ; Le *Streptococcus salivarius* est un des espèces pionnières, considéré comme un des colonisateurs initiaux de la cavité buccale. Lors de la première année de vie, des bactéries aérobies commencent à envahir la cavité buccale dont les *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Neisseria* et *Veillonella* (Deo et Deshmukh, 2019), considérés comme des colonisateurs du deuxième temps.

La cavité orale lors de l'allaitement maternel, le bébé entre en contact direct avec le microbiote de sa mère par le contact direct de la peau et des mamelons (Lyons *et al.*, 2020). Ce contact favorise le transfert de bactéries bénéfiques de la mère au bébé, ce qui aide à établir le microbiote buccal du nourgibrisson. Les bactéries transmises par le lait maternel peuvent inclure des espèces telles que ; *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Parabacteroides* et *Clostridium*, connues pour leur rôle bénéfique dans la santé intestinale et la protection contre les infections (Zimmermann et Curtis, 2020).

Le lait maternel contient également des oligosaccharides spécifiques agissant comme des prébiotiques favorisant la croissance des bonnes bactéries dans le système digestif du bébé. Ces bactéries peuvent également migrer vers la cavité buccale (Lara-Villoslada *et al.*, 2007).

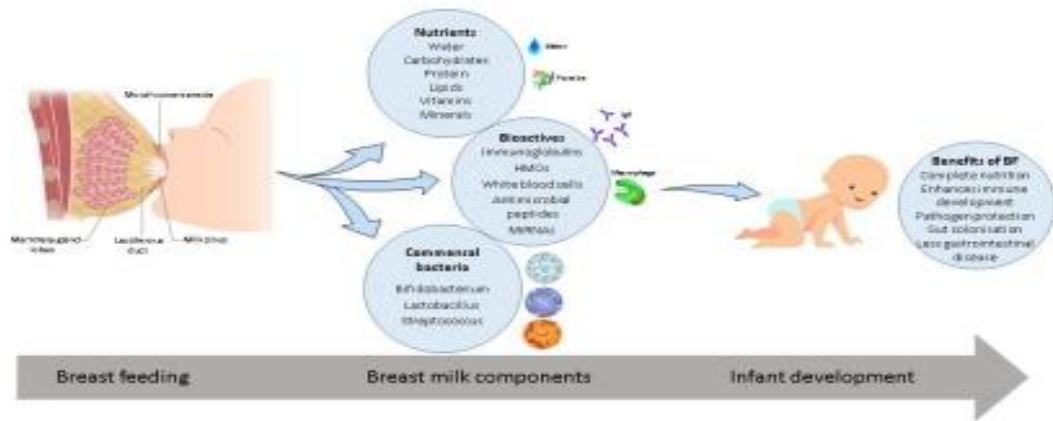


Figure 01 : Composition de lait maternel (Łubiech et Twarużek, 2020).

L'alimentation impacte la composition du microbiote buccal tout au long de la vie. Les régimes riches en sucre favorisent les bactéries cariogènes comme *Streptococcus mutans* (Bowen, 1970). Les régimes déséquilibrés, pauvres en fibres et riches en sucres raffinés, sont liés à une diminution de la diversité du microbiote buccal. Cette réduction de la diversité bactérienne peut favoriser la croissance des bactéries pathogènes associées aux maladies bucco-dentaires (Gurbanov et Yıldız, 2017) ; tandis que ; les régimes équilibrés, avec des fibres et peu de sucres raffinés, maintiennent une diversité bactérienne saine. Une alimentation variée en fruits, légumes et fibres favorise les bactéries bénéfiques et limite la prolifération des bactéries nocives, contribuant ainsi à une meilleure santé bucco-dentaire (Zoumpoulou *et al.*, 2013).

1.2 Microflore de la cavité buccale

Chez les personnes en bonne santé, les bactéries à Gram positif dominant dans la flore buccale, tandis que chez celles souffrant de maladies parodontales, les bactéries à Gram négatif sont plus prévalences (Sixou *et al.*, 2007).

Tableau 1: Principaux genres bactériens de la cavité buccale (Chardin *et al.*, 2006).

Cocci		Bacille	
Aérobies et anaérobies facultatifs		Anaérobies facultatifs	
Gram +	Gram -	Gram +	Gram -
<i>Abiotrophia</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Acinetobacter</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Neisseria</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Aggregatibacter</i>
<i>Gemella</i>		<i>Lactobacillus Rothia</i>	<i>Campylobacter</i>

<i>Granulicatella</i>			<i>Capnocytophaga</i>
<i>Staphylococcus</i>			<i>Eikenella, Haemophilus</i>
<i>Streptococcus</i>			<i>Klebsiella</i>
			<i>,Pseudomonas</i>
Anaérobies stricts		Anaérobies stricts	
Gram +	Gram -	Gram +	Gram -
<i>Anaerococcus</i>	<i>Anaeroglobus</i>	<i>Actinomyces, Atopobium</i>	<i>Bacteroides, Centipeda</i>
<i>Finegoldia,</i>	<i>Eikonella</i>	<i>Bifidobacterium,</i>	<i>Desulfomicrobium</i>
<i>Micromonas,</i>		<i>Bulleidia Clostridium</i>	<i>Dialister, Filifactor</i>
<i>Peptococcus</i>		<i>Cryptobacterium</i>	<i>Fusobacterium</i>
<i>Peptoniphilus</i>		<i>Eggerthella,</i>	<i>Leptotrichia</i>
		<i>Eubacterium</i>	
		<i>Mogibacterium</i>	

1.3 Importance de barrière microbienne

La cavité buccale humaine, jouent un rôle crucial dans la défense de l'organisme contre les agressions microbiennes (Servin, 2004) ; C'est ce qu'on appelle communément "l'effet barrière".

En situation d'équilibre de microbiote buccal contribue à maintenir un environnement sain dans la bouche, empêchant la prolifération de bactéries pathogènes. Cependant, en cas de déséquilibre, des bactéries nocives peuvent prendre le dessus, se propageant dans tout l'organisme et augmenter le risque de diverses maladies, comme *Streptococcus mutans* ou *Porphyromonas gingivalis*, ont été associées à des pathologies dentaires des problèmes cardiovasculaires, à la maladie d'Alzheimer, au diabète et même à certains cancers (Doctissimo, 2019).

Tel que souligné par Servin en 2004, il apparaît de plus en plus évident que les bactéries appartenant aux genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* possèdent des activités antimicrobiennes qui participent au système de défense de l'hôte. Il est donc, intéressant d'améliorer la composition du microbiote buccale.

1.4 Les infections de la cavité buccale

La microflore indigène « normale » protège également l'hôte contre les agents pathogènes exogènes en stimulant une réponse immunitaire vigoureuse et en fournissant une résistance à la colonisation. La même microflore est à l'origine de la majorité des maladies infectieuses localisées de la cavité buccale ; à titre d'exemple ; caries dentaires, abcès alvéolaires, maladies parodontales et candidoses (Ruby et Barbeau, 2014).

1.4.1 Principale cause d'infection buccales

Les infections buccales résultent de l'ingestion de micro-organismes ou de leurs métabolites (Saarela *et al.*, 2000). Il existe une grande variété de bactéries, virus, parasites, champignons et prions à l'origine des infections buccale (tableau 02).

Tableau 2 : Principaux agents infectieux responsables d'infections buccales. Adapté de (Sixou *et al.*, 2007).

Bactérie	Virus	champignons
<i>Streptococcus mutans</i>	Le virus de l'herpès simplex (HSV)	<i>Candida albicans</i>
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	VIH	

Cependant, les micro-organismes d'origine bactérienne sont la cause la plus fréquente d'infections buccales. Elles vivent naturellement dans la bouche, mais leur nombre peut augmenter lorsqu'elles ne sont pas contrôlées par une bonne hygiène bucco-dentaire. Cela peut entraîner la formation de plaque bactérienne, un film collant et gluant qui se forme sur les dents. La plaque bactérienne contient des bactéries qui produisent des acides, qui peuvent attaquer l'émail des dents et provoquer des caries (Sixou *et al.*, 2007).

1.5 Généralité sur *Streptococcus salivarius*

1.5.1 Définition

Streptococcus salivarius est une bactérie buccale appartenant au groupe viridans. Il s'agit d'une cocci, s'est révélé sous forme de sphères minuscules, d'environ 0,5 à 1 micromètre de diamètre.

Son nature gram positif s'est manifesté par la rétention du colorant violet de Gram lors de la coloration. Ces cocci se sont regroupés en chaînes ou en amas, des structures variées allant de courtes chaînes à des amas de formes irrégulières. La surface des colonies s'est avérée lisse et sans capsule visible (Zangrilli *et al.*, 2022).

L'immobilité caractérise le *S. salivarius*, le distinguant des bactéries flagellées capables de se déplacer de manière autonome. Cependant, il peut être transporté par des fluides corporels tels que la salive. L'absence de pigments a conféré aux colonies une teinte blanche ou translucide. Cependant, certaines souches ont présenté des colonies de couleurs variées, comme le jaune ou le marron. La paroi de ces bactéries est relativement épaisse, mesurant entre 30 et 300 nm, et est principalement constituée de peptidoglycanes, qui représentent 40 à 80% de la paroi cellulaire. Les autres composants sont les acides teichoïques et les acides lipoteichoïques (LTA), qui jouent un rôle dans l'adhésion aux cellules et aux bactéries (Chardin *et al.*, 2006).

Les streptocoques buccaux font partie de la flore commensale de la cavité buccale et du tractus respiratoire chez l'homme et chez l'animal, représentant plus de 20% de la flore buccale (Chardin *et al.*, 2006). *S. salivarius* est l'une des premières bactéries à coloniser la cavité buccale et l'intestin du nouveau-né. Dans la cavité buccale, ses principaux sites d'installation sont la face dorsale de la langue et les épithéliums buccaux (Lévesque *et al.*, 2003).

Le rôle de *S. salivarius* dans l'homéostasie, c'est-à-dire dans le maintien de l'équilibre de la flore microbienne, est fondamental. Sa présence est généralement associée à un bon état de santé général et buccodentaire. Chez un individu en bonne santé, elle n'initie pas de processus infectieux.

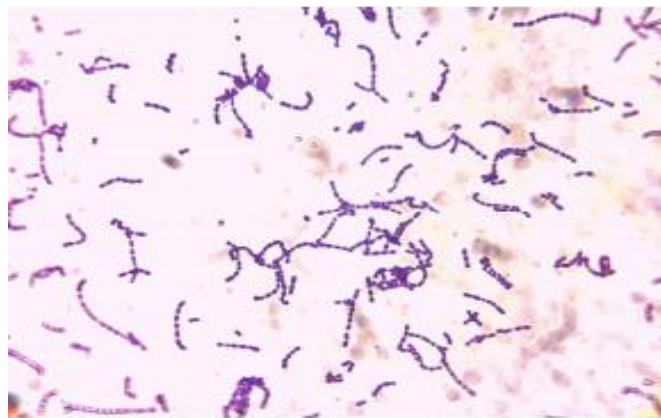


Figure 1: Morphologie de *Streptococcus salivarius* : cocci Gram+ en chaînette (crédit photo A. JABOL).

1.5.2 Classification

La classification des Streptocoque oraux est longtemps restée un domaine difficile de la taxonomie des streptocoques (Whiley et Beighton, 1998). *S. salivarius* est placée dans la classification de Prévot 104, comme dans celle de Bergey 5 dans le groupe Viridians, qui échappe à l'intégration dans le système de classification sérologique de Lancefield 78 (*Bulletin de L'association des diplômés de microbiologie de la Faculté de pharmacie de Nancy*, 1973) (Tableau 03).

Tableau 3 : Le plan taxonomique de *S. salivarius*.

Domaine	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Firmicutes</i>
La classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Lactobacillales</i>
Famille	<i>Streptococcaceae</i>
Genre	<i>Streptococcus</i>

1.5.3 Habitat

S. salivarius est une bactérie que l'on trouve dans le cadre de la microflore buccale humaine normale, colonisant principalement la cavité buccale (dents, langue) (Sa, 2015). Son entrée dans la circulation sanguine le rend pathogène ; Cependant ; certaines souches de *S. salivarius* ont été trouvées pour interférer avec des pathogènes respiratoires, ainsi les métabolites présents dans *S. salivarius* peuvent déclencher une inhibition de l'activation de NF-κB dans les cellules épithéliales humaines.

Des souches spécifiques de , telles que *S. salivarius TOVE-R* et *K12* ont été rapportées comme étant des antagonistes réussis de streptocoques virulents, ce qui a été attribué à sa production de bactériocines (Stamm *et al.*, 1976).

1.5.4 Caractères cultureux

1.5.4.1 Condition de cultures

Il s'agit de l'ensemencement direct du prélèvement sur gélose de Columbia additionné de (5%, vol/vol) sang humain, puis incubée pendant 18-24 heures à température 37 °C comme décrit par (Stamm *et al.*, 1976).

1.5.4.2 Hémolyse

L'hémolyse est la destruction des globules rouges (*"Hemolysis,"* 2001) ; Qu'il s'agit des érythrocytes présents dans les milieux gélosés enrichis de sang. On distingue 3 types d'hémolyse sur gélose Columbia à 5% de sang humain.

L'hémolyse α est une hémolyse partielle, avec une dégradation incomplète de l'hémoglobine. Le milieu autour de la colonie n'est pas transparent et présente une couleur verdâtre. Cette zone d'hémolyse est généralement étroite et à bords flous.

L'hémolyse β est une hémolyse totale, avec une digestion complète de l'hémoglobine. Le milieu autour de la colonie est transparent et présente la couleur de la base nutritive (jaune clair). Cette zone d'hémolyse est assez souvent large et à bords nets.

L'hémolyse γ : c'est l'absence total d'hémolyse (*"Gélose au sang et gélose au sang + ANC,"* 2010).

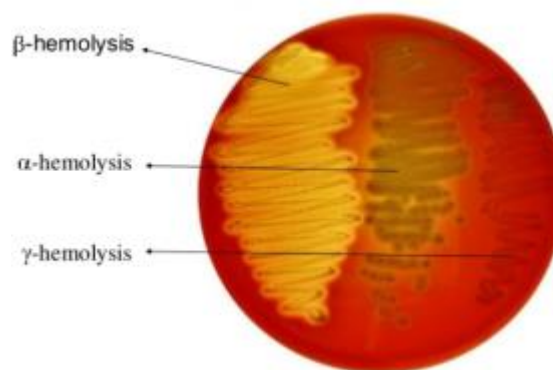


Figure 2: Colonies hémolytiques (Pilgrim, 2020).

1.5.5 Métabolisme

S. salivarius est une Bactérie micro-aéroophile, tire son énergie principalement de la fermentation des sucres présents dans la bouche, produisant notamment de l'acide lactique. Cette fermentation contribue à l'acidité de la plaque dentaire (Canada, 2022). Certaines souches de cette bactérie produisent des substances antimicrobiennes, les bactériocines, qui inhibent la croissance d'autres bactéries buccales, jouant ainsi un rôle potentiel dans la santé bucco-dentaire.

1.5.6 Potentiel au tant que probiotique

Les variétés de *S. salivarius*, des bactéries Gram positif, sont un ensemble diversifié d'espèces habitant de nombreux sites corporels et allant d'espèces bénignes et non pathogènes à celles causant des infections potentiellement mortelles. Les streptocoques sont également des producteurs prolifiques de bactériocines, qui sont des antibiotiques protéiques synthétisés par ribosomium qui tuent ou inhibent les espèces étroitement liées à la bactérie productrice (Wescombe *et al.*, 2009).

Des recherches récentes ont été menées sur *S. salivarius* pour étudier l'efficacité de l'utilisation de certaines souches de la bactérie en tant que probiotiques (Cosseau *et al.*, 2008)

Plus particulièrement la souche *K12*, est considéré comme un probiotique. Elle sert à :

Maintien d'une flore buccale saine ; *S. salivarius K12* aide à limiter la croissance des bactéries nocives dans la bouche, contribuant ainsi à une bonne santé bucco-dentaire. Cela peut réduire le risque de caries et de parodontite (Cosseau *et al.*, 2008).

Lutte contre la mauvaise haleine ; Certaines bactéries buccales produisent des composés sulfurés volatils responsables de la mauvaise haleine. *S. salivarius K12* peut inhiber ces bactéries, aidant ainsi à combattre la mauvaise haleine (He *et al.*, 2020).

Renforcement des défenses immunitaires ; La présence de *S. salivarius* dans la bouche et le tube digestif pourrait jouer un rôle dans le soutien du système immunitaire (Cosseau *et al.*, 2008).

1.5.7 Pouvoir pathogène

Le groupe viridans des Streptocoques, qui comprend *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus vestibularis* et *Streptococcus thermophilus*, est généralement considéré comme inoffensif. Cependant, chez les individus affaiblis, *S. salivarius* et *S. vestibularis* peuvent occasionnellement provoquer des infections opportunistes. En revanche, *S. thermophilus* est largement utilisé dans l'industrie laitière, comme indiqué par (Delorme *et al.*, 2015).

Facteurs favorisant les infections à *S. salivarius* selon (Corredoira *et al.*, 2005).

Immunodépression ; Les personnes atteintes de maladies chroniques (VIH/SIDA, cancer) ou sous traitement immunosuppresseur présentent un risque accru d'infections opportunistes, y compris par *S. salivarius*.

Lésions des muqueuses ; Toute brèche dans les barrières protectrices (muqueuses buccale, digestive, etc.) peut faciliter la migration de *S. salivarius* vers des zones stériles du corps et déclencher une infection.

Procédures médicales invasives ; Certaines interventions chirurgicales, endoscopies ou pose de cathéters peuvent introduire accidentellement *S. salivarius* dans la circulation sanguine, menant potentiellement à une bactériémie.

Les infections à *S. salivarius* sont peu communes mais peuvent être sévères. Les principaux types d'infections comprennent la bactériémie, la méningite, l'endocardite et les abcès ; Cependant ; Selon (Lamontagne, 2020), les individus souffrant de graves problèmes de santé ou subissant des interventions médicales invasives sont plus susceptibles de développer des infections à *S. salivarius*.

1.6 Généralité sur *Lactobacillus*

1.6.1 Définition

Les Lactobacilles sont des bactéries à Gram positif, en forme bacille long et fin au coccobacille en passant par la forme bâtonnet court (Kullar *et al.*, 2023), souvent groupés en chaînette non sporulés (Figure 06) et généralement immobiles, bien que certains puissent posséder une pseudo catalase. Ils sont dépourvus de cytochromes (elles tirent leurs énergies de la phosphorylation des substrats au cours de la fermentation des sucres). Enfin, ces bactéries sont adaptées à des conditions de microaérophilie ou d'anaérobiose, préférant des environnements pauvres en oxygène (Kullar *et al.*, 2023).

Les lactobacilles participent à la fabrication de nombreux produits alimentaires fermentés particulièrement dans les produits laitiers tels que le yaourt, le fromage et le lait fermenté, la fabrication du pain au levain, les boissons alcoolisées, les légumes fermentés, ou commercialisés sous forme de probiotique pour leurs conséquences bénéfiques sur la santé humaine (Giraffa *et al.*, 2010) ; Leur contribution principale réside dans l'acidification, ce qui favorise la conservation des aliments, tout en préservant leurs caractéristiques distinctes de goût et de texture.

Les lactobacilles ont un métabolisme fermentaire qui leur permet de produire principalement de l'acide lactique à partir de sucres fermentescibles. En plus de l'acide lactique, ils peuvent également produire d'autres acides organiques tels que l'acide acétique et l'acide formique (Perry *et al.*, 2004).



Figure 3: Structure de *Lactobacillus* (Tailliez, 2004).

1.6.2- Habitat

Les lactobacilles sont des bactéries lactiques ubiquitaires qui colonisent beaucoup d'habitats (tableau 04) ; sont présents dans les milieux riches contenant des substrats glucidiques ; tels que ; les muqueuses intestinales, orales et vaginales des humains et des animaux, sur les plantes, produit laitier (fromage, yaourt, lait).

Tableau 04 : Habitat de *Lactobacillus*, adapté par (Tailliez, 2004).

Habitat	Espèces rencontrées	Activité ou produit
Matériel végétal en décomposition	<i>Lb. plantarum, Lb. casei, Lb. acidophilus</i>	Cornichons, ensilage et choucroute
Laiterie	<i>Lb. delbrukii, Lb. lactis</i>	Fromage, yoghourts, etc
Tractus gastro-intestinal des animaux	<i>Lb. salivarius Lb. gasseri, L. rhamnosus</i>	-
-(Oral)	<i>Lb casei, Lb plantarum,</i>	Formation de Carie dentaire
-(Intestinal)	<i>Lb. Gasseri</i>	Flore normale
Vagin des mammifères	<i>Lb. vaginalis</i> <i>Lactobacillus sp.</i>	Flore normale

1.6.2 Taxonomie

Le lactobacille est un genre très hétérogène (Tailliez, 2004) quantitativement le plus important des genres du groupe des bactéries lactiques.; Avec 162 espèces validées et augmentant considérablement par rapport à 145 en 2008 à la suite de la reclassification de plusieurs espèces (Bull *et al.*, 2013).

Selon la dernière édition de Bergey's manual of systematic bacteriology (2009), les bactéries lactiques sont classées dans le phylum des *Firmicutes*, la Classe des *Bacilli* et l'ordre des *Lactobacillales* renfermant trente-cinq genres répartis sur six familles suivantes ; *Lactobacillaceae*, *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Enterococcaceae*, *Leuconostococcae* et *Streptococcaceae* classées en se basant sur les analyses phylogénétiques des séquences de l'ARNr 16S ("*Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria | Major Reference Works*, 2009).

1.6.3 Classification d'Orla-Jensen

Selon la classification d'Orla-Jensen (1919), le genre *Lactobacillus* est divisé en trois groupes en fonction de leur type de fermentation des sucres, basé sur des caractéristiques observables telles que les propriétés morphologiques, biochimiques et physiologiques, ainsi que les marqueurs chimio taxonomiques (Hammes *et al.*, 2009).

Groupe I « *Thermobacterium* » ; Comprend les espèces homofermentaires obligatoires thermophiles. Ces espèces fermentent exclusivement les sucres pour les transformer en acide lactique via la voie glycolytique d'Embden-Meyerhof (glycolyse), par exemple *Lb. acidophilus* et *Lb. delbrueckii*

Groupe II « *Streptobacterium* » ; comprend les espèces hétérofermentaires facultatives. Elles fermentent les sucres pour produire principalement de l'acide lactique, avec d'autres produits tels que l'éthanol et le CO₂. Par exemple, *Lb. casei*, par la voie de la glycolyse ou la voie des pentoses.

Groupe III « *Betabacterium* » ; Comprend les espèces hétérofermentaires obligatoires. Ces espèces utilisent deux voies métaboliques, la glycolyse et la voie du pentose phosphate, comme *Lb. brevis* et *Lb. bunchneri*. Elles produisent de l'acide lactique, de l'éthanol ou de l'acide acétique, ainsi que du CO₂. Ce groupe comporte des espèces aux

caractères biotechnologiques variés telles que *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. Delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus*, et *Lb. salivarius* (Georges et François-Marie, 2008).

1.6.4 Caractères culturels

La plupart des lactobacilles se multiplient dans une gamme de température comprise entre 15°C et 42°C, Certaines souches de lactobacilles dites thermophiles restent viables à 55 °C (Salveti *et al.*, 2012 ; Tailliez, 2004).

En outre, les lactobacilles prospèrent dans des conditions acides, préférant un pH situé entre 4,5 et 6,4 ; Cependant ; leur croissance est inhibée lorsque le pH descend autour de 3,5. Le milieu de culture le plus favorable est celui de De Man, Rogosa et Sharpe (MRS) (Yaekob *et al.*, 2024), où les colonies se développent en 24 à 48 heures. Ces colonies sont généralement petites, incolores, blanchâtres ou jaunâtres, et peuvent présenter une surface lisse ou rugueuse, ainsi qu'une forme arrondie ou lenticulaire.

Les lactobacilles sont caractérisés par des exigences nutritionnelles nombreuses; en plus de la source de carbone et d'azote, toutes les espèces ont un besoin absolu en vitamines telles que la vitamine (B5), la niacine (B3), en cobalamine (B12), et les ions Mg²⁺ et Mn²⁺ ou Fe²⁺ sont aussi nécessaires pour la croissance des lactobacilles (Bull *et al.*, 2013).

1.6.5 Effet probiotique des *Lactobacillus*

Les lactobacilles sont largement reconnus pour leur effet probiotique bénéfique sur la santé humaine. En tant que bactéries probiotiques, Par exemple, des études ont montré que la souche *Lactobacillus GG* est efficace pour prévenir la diarrhée (Madsen *et al.*, 2001); ainsi Les probiotiques participent au développement du système immunitaire chez le nourrissons et l'améliorent chez la personne âgée en augmentant le nombre de phagocytes et de lymphocytes ("Système immunitaire et microbiote des nourrissons," 2023).

Les lactobacilles probiotiques ont également été associés à l'inhibition de l'adhésion des pathogènes aux cellules intestinales (Kim et Ho, 2010). Certains lactobacilles peuvent même bloquer physiquement l'accès des pathogènes aux entérocytes (Lebeer *et al.*, 2010).

1.7 Phénomènes des interactions entre les bactéries

On a classé les interactions entre les bactéries selon leurs effets avantageux ou désavantageux et on distingue en générale, deux types d'interaction Interaction positive, ou stimulation et Interaction négative, ou inhibition (Fredrickson, 1977).

Le mode d'interaction entre bactéries peut être direct ou indirect. Les interactions directes nécessitent un contact physique entre les cellules bactériennes, tandis que les interactions indirectes se produisent à distance, sans contact physique direct.

En pratique, au sein d'un même milieu écologique constitué de plusieurs souches bactériennes, ou culture mixte, les interactions peuvent être bidirectionnelles. Chaque souche peut avoir une action stimulatrice ou inhibitrice sur les autres, ce qui pose des problèmes d'équilibre microbien. On distingue d'une façon générale les cas suivants :

- **Symbiose** ; Dans ce cas, deux espèces différentes, vivants ensemble, dans les mêmes milieux de culture, stimulent d'une façon réciproque leur croissance.
- **Synergie** ; Caractérisé par des changements qui ne peuvent se produire que lorsque deux éléments interagissent ensemble.
- **Commensalisme** ; Dans ce cas l'une des deux espèces bactériennes, vit des produits de l'autre, sans offrir quelques choses, à l'autre espèce.
- **Compétition** ; Il y a un effet négatif sur les deux populations.
- **Antagonismes** ; Inhibition d'une espèce par un facteur inhibiteur non spécifique, produit par une autre espèce.
- **Mutualisme** ; Dans ce cas, l'interaction est obligatoire pour la survie des deux populations bactérienne (Balandreau et Knowles, 1978).

L'étude des phénomènes d'antagonismes ou d'interactions microbiennes, notamment les inhibitions entre les bactéries à paroi Gram positif représentent un sujet d'intérêt particulier, en raison de leur impact potentiel sur la santé humaine, l'agriculture et l'industrie a permis à Pasteur et Jobert des observations systématiques sur ces phénomènes (Jack *et al.*, 1995), les travaux de Pasteur sur les phénomènes d'antagonismes microbiens élargissent ces champs d'application en montrant une interférence.

La prolifération de la souche *S. salivarius* chez les individus dont le système immunitaire est affaibli peut causer des complications sérieuses. Cependant, les souches de *Lactobacillus* peuvent efficacement lutter contre *Streptococcus salivarius* en produisant des substances inhibitrices telles que les bactériocines, en concurrençant pour les nutriments et en interférant

avec la formation de biofilm. Ces interactions complexes aident à maintenir l'équilibre de la flore buccale et à promouvoir une bonne santé bucco-dentaire (Demir et Demir, 2021).

1.8 Les probiotiques

1.8.1 Définitions

L'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture et l'Organisation Mondiale de la Santé, Elle indique que les probiotiques sont : « des microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités suffisantes confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte » (Morelli et Capurso, 2012).

Le terme "probiotique" dérive du grec ancien, signifiant "pour la vie". Sa définition officielle décrit un supplément alimentaire à base de micro-organismes vivants bénéfiques pour l'hôte en améliorant l'équilibre de sa microflore intestinale. Deux éléments clés influencent leur efficacité ; la viabilité des micro-organismes et la dose recommandée (Sanders, 2003).

1.8.2 Souches à fort potentiel probiotique

Le monde des probiotiques chez l'humain est peuplé de micro-organismes aux propriétés diverses. Parmi les acteurs majeurs, on trouve les bactéries des genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* et *Streptococcus*, ainsi que les levures du genre *Saccharomyces*.

Tableau 4: Liste des principales souches microbiennes considérées comme probiotiques.

Adapté de (Holzapfel *et al.*, 2001).

Lactobacilles	Bifidobactéries	Autres bactéries lactiques	Autres microorganismes non lactiques
<ul style="list-style-type: none"> - <i>L. acidophilus</i> - <i>L. casei</i> - <i>L. helveticus</i> - <i>L. gasseri</i> - <i>L. johnsonii</i> - <i>L. paracasei</i> - <i>L. plantarum</i> - <i>L. rhamnosus</i> - <i>L. lactis</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>B. adolescentis</i> - <i>B. animalis</i> - <i>B. bifidum</i> - <i>B. breve</i> - <i>B. infantis</i> - <i>B. lactis</i> - <i>B. longum</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Enterococcus faecium</i> - <i>Streptococcus thermophilus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>E. coli</i> - <i>Saccharomyces-boulardii</i> - <i>Saccharomyces-cerevisiae</i>

Parmi ces microorganismes, les bactéries appartenant aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* sont les plus fréquemment utilisées avec le plus d'applications connues à ce jour chez l'humain ; à titre d'exemples ; la nisine est une substance produite par le genre *Lactobacillus*, est largement utilisée comme agent de conservation et additif alimentaire en raison de son large spectre d'action et de son innocuité (Bharathiraja *et al.*, 2014). Il est important de souligner que toutes les souches au sein d'un même genre n'ont pas les mêmes effets. Le choix d'un probiotique doit donc être individualisé en fonction des besoins et des objectifs spécifiques de chaque personne.

1.8.3 Critères de sélection des probiotiques

Afin de satisfaire à la définition des probiotiques, les micro-organismes doivent posséder diverses propriétés de survie, d'activité et de persistance dans le tractus digestif qui leurs permettront d'exercer des effets bénéfiques sur l'hôte.

Ces propriétés sont propres à chaque souche et ne peuvent pas être extrapolées d'une souche à l'autre même au sein d'une seule espèce (Dunne *et al.*, 2001). Plusieurs critères majeurs de sélection *in vitro* et *in vivo* ont été établis et retenus par différents auteurs (Tableau 05).

Tableau 5 : Principaux critères de sélection des probiotiques. Adapté de (Gueimonde et Salminen, 2006 ; Ouwehand *et al.*, 2002 ; Saarela *et al.*, 2000 ; Klaenhammer et Kullen, 1999).

Critères de sécurité	<ul style="list-style-type: none"> – Identification taxonomique précise – Origine humaine pour utilisation chez l'humain – Souche caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques – Historique de non pathogénicité et non-invasion de l'épithélium intestinal – Pas de transmission possible de gènes de résistance aux antibiotiques
Critères fonctionnels	<ul style="list-style-type: none"> – Tolérance à l'acidité, à la bile et aux enzymes digestives – Adhésion aux cellules intestinales et persistance dans le tractus intestinal

	<ul style="list-style-type: none"> – Production de substances antimicrobiennes (bactériocines, acides organiques, peroxyde d’hydrogène ou autres composés inhibiteurs) et antagonisme envers les pathogènes – Immuno modulation – Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé
Critères technologiques	<ul style="list-style-type: none"> – Stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini – Conservation des propriétés probiotiques après production – Non modification des propriétés organoleptiques du produit fini

1.8.4 Allégations santé

De nombreuses études scientifiques (Domingo et José, 2017; Latif *et al.*, 2023), ont suggéré que la consommation de probiotiques pourrait avoir un impact positif sur notre santé. Parmi les principaux avantages potentiels, on retrouve :

- Amélioration de la digestion du lactose ;
- Lutte contre les infections intestinales ;
- Réduction des diarrhées liées aux antibiotiques ;
- Prévention des allergies alimentaires ;
- Modulation du système immunitaire.

Néanmoins, les probiotiques présentent des avantages considérables par rapport aux traitements actuels contre les infections (vaccination, antibiothérapie) ; ils sont facilement accessibles, peu coûteux et n'entraînent généralement pas d'effets secondaires notables.

1.8.5 Allégations agro alimentation

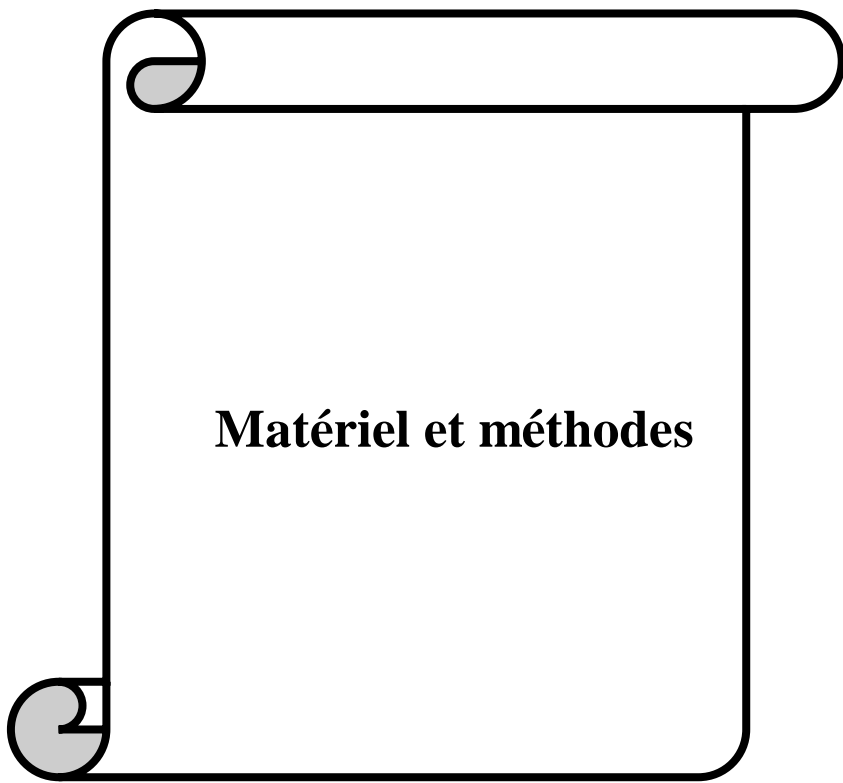
L'intégration croissante des probiotiques dans les produits alimentaires représente une voie prometteuse pour améliorer la santé et le bien-être des consommateurs. Ces micro-organismes sont de plus en plus exploités dans l'industrie agroalimentaire pour créer des produits

fonctionnels qui apportent des bienfaits pour la santé humaine et pour les animaux (Rigobelo, 2012).

Les avantages de cette utilisation incluent :

- L'amélioration de la santé digestive ;
- Amélioration de la qualité nutritionnelle des aliments ;
- Prolongation de la durée de conservation des aliments ;
- La réduction de l'usage d'additifs et de conservateurs ;
- La diminution de la dépendance aux antibiotiques.

Cette transition reflète une évolution vers des produits alimentaires plus axés sur la santé et le bien-être, tout en offrant des options plus durables et naturelles pour les consommateurs.



Matériel et méthodes

2. Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé dans plusieurs établissements de santé à Constantine, notamment ; au Laboratoire de Bactériologie, au Service ORL, et au Département de chirurgie dentaire du Centre Hospitalo-Universitaire Ben Badis, ainsi qu'à la Polyclinique Filali, Constantine.

2.1 Objectif de l'étude

L'objectif principal de ce travail est l'étude de l'effet antagoniste entre des bactéries d'origine buccale en particulier, entre des bactéries susceptibles d'être opportunistes et celles appartenant naturellement aux probiotiques. Pour ce faire, trois axes de recherche ont été abordés ; isolement et identification de la bactérie *Streptococcus salivarius* ; isolement et caractérisation partielle de la bactérie *Lactobacillus sp.* et enfin étude de l'effet antagoniste entre *S. salivarius* et *Lactobacillus sp.* En effet, cet antagonisme basé sur l'étude des interactions afin d'élucider le rôle de ces bactéries dans le maintien de la santé bucco-dentaire et la prévention de la croissance de pathogènes nocifs. Ces connaissances pourraient orienter le développement de stratégies visant à optimiser les effets bénéfiques de ces bactéries dans la promotion de la santé bucco-dentaire et dans le domaine agroalimentaire.

2.2 Prélèvement

Le prélèvement d'échantillons a été effectué sur plusieurs personnes susceptibles de porter ces bactéries. Les échantillons prélevés sont ; la salive, le crachat et frottis de gorge, provenant des personnes hospitalisées, notamment au Service ORL, au Département dentaire du Centre Hospitalier Universitaire Constantine (CHUC), ainsi que des personnes ambulatoires à la Polyclinique Filali.

2.2.1 Prélèvement de la salive

Les patients qui ont servi pour le prélèvement de la salive sont invités à se rincer vigoureusement la bouche à l'eau pendant 30 secondes et cracher afin d'éliminer tout résidu alimentaire ou cellules buccales non bactériennes, ensuite, ils sont sollicités à incliner légèrement la tête vers l'arrière et ouvrir grand la bouche pour faciliter l'accès à la cavité buccale. Pour le prélèvement de l'échantillon, un écouvillon buccal stérile (figure 06), est alors introduit délicatement dans la bouche suivie d'un frottement vigoureux sur la face interne de la joue, de la langue et du palais pendant 30 secondes afin de collecter des cellules salivaires provenant de différentes zones de la bouche. Enfin, l'écouvillon est retiré délicatement de la

bouche et immédiatement inséré dans son tube de transport pour éviter toute contamination (Elvire *et al.*, 2020).

2.2.2 Prélèvement de la gorge

Le prélèvement par écouvillonnage pharyngé est une procédure médicale courante qui permet de récupérer un échantillon de cellules de la gorge à des fins de diagnostic. Pour garantir son succès et le confort du patient, il est essentiel de suivre des étapes précises. Pour ce faire, un écouvillon stérile est délicatement introduit dans la gorge suivi d'un frottement vigoureusement contre les amygdales et le pharynx postérieur pendant environ dix secondes. Ensuite, l'écouvillon est soigneusement retiré et placé dans leur tube afin d'éviter toute contamination (Dugourd *et al.*, 2019).



Figure 4 : Ecouvillons utilisés pour les prélèvements d'échantillons.

2.2.3 Prélèvement du crachat

Le prélèvement de crachats nécessite que le patient effectue une expectoration profonde afin de recueillir les sécrétions des voies respiratoires inférieures, en évitant les efforts excessifs qui pourraient irriter la gorge et altérer l'échantillon. Une fois recueilli, le crachat doit être déposé dans un récipient stérile en visant une quantité de 1 à 2 ml, généralement suffisante pour l'étude (Jamai *et al.*, 2020). Dans tous les prélèvements effectués des renseignements précis sont enregistrés pour le besoin de codage (figure 07).

N° de l'analyse	1263	RESULTATS
Docteur	[REDACTED]	15 à 20 NALc
Nom	[REDACTED]	2 à 3 h ₂ O ₂ h
Salle	7A lit 37 ans...	Flora mixte faite à l'inspection
Nature de l'examen	Crachats	Cocci

Levures + S. salivarius

Figure 5 : Exemple de renseignements enregistrés.

2.2.4 Transport des prélèvements

Le transport des prélèvements a été effectué dans le respect des étapes recommandées pour garantir des analyses fiables. Les échantillons ont été conservés à température ambiante (entre 15°C et 25°C) et transportés au laboratoire dans les 24 heures suivant le prélèvement. Ils ont été placés dans un emballage scellé et protégé des chocs et des températures extrêmes.

L'étiquetage des prélèvements comportait le nom du patient, l'heure et la date du prélèvement. En cas de retard de transport, les échantillons auraient été conservés au réfrigérateur (entre 2°C et 8°C) pendant une durée maximale de 72 heures (Dugourd *et al.*, 2019).

2.3 Identification de *Streptococcus salivarius*

Les prélèvements sont mis en culture sur gélose au sang frais et gélose au sang cuit (voir l'annexe 01). Pour ce faire, le contenu des écouvillons est réparti sur la moitié de chaque gélose, assurant une couverture homogène grâce à la méthode des trois quadrants (voir l'annexe 02) (Pimentel-Filho *et al.*, 2014).

Les boîtesensemencées ont, ensuite, été placées dans un incubateur à 37°C pendant 24 heures, favorisant ainsi la croissance bactérienne. Après cette période d'incubation, les boîtes ont été observées attentivement à la recherche de colonies bactériennes (Kozmos *et al.*, 2021).

Pour les crachats, l'échantillon a été homogénéisé et dilué avec de l'eau physiologique selon la méthode de dilutions décimales. La suspension diluée a été inoculée sur les deux types de milieux de culture et étalée uniformément. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures (Bekrarchouche *et al.*, 2022).

2.3.1 Examen macroscopique

L'examen macroscopique des colonies bactériennes obtenues sur milieu solide est effectué par l'observation oculaire. Une description complète de leur morphologie et de leurs caractéristiques visuelles a été établie, incluant la taille, la pigmentation, le contour, l'aspect, et la viscosité des colonies (Lin et Dufresne, 2014).

2.3.2 Examen microscopique

2.3.2.1 Etat frais

Une petite goutte d'eau physiologique est déposée sur une lame préalablement frottée avec une culture de *S. salivarius*, puis mélangée délicatement. La lame est ensuite observée au microscope, aux différents grossissements qui permettent de localiser la préparation, ensuite, pour une observation détaillée des bactéries, l'objectif à immersion (x100) est utilisé (Camille, 2014).

2.3.2.2 Etat fixé

La technique de la coloration de Gram est appliquée ici pour l'observation de l'état coloré des bactéries. Cette coloration a permis, à la fois, de différencier les bactéries et de voir leur morphologie. Pour ce faire, une lame nettoyée avec de l'alcool, a servi pour déposer une goutte d'eau stérile et en y suspendant une colonie bactérienne. Bien mélangé et bien étalée, le frottis est séché par des passages sur la flamme de Bunsen. La préparation est fixée avec du cristal violet et du Lugol. Après décoloration à l'alcool, elle est contre-colorées avec de la safranine, puis rincée et séchée. Enfin, elle a été observée au microscope optique à immersion d'huile (x100) (Camille, 2014).

2.3.3 Identification biochimique

2.3.3.1 Test oxydase

Le test à l'oxydase a un rôle dans l'identification des bactéries productrices de l'enzyme cytochrome c oxydase, un élément clé de la chaîne respiratoire bactérienne. Ce test simple et rapide repose sur la capacité de l'enzyme à oxyder un réactif spécifique, produisant un composé coloré en violet en présence d'oxygène atmosphérique (Camille, 2014).

Un disque de test a été déposé sur une surface stérile et des colonies bactériennes ont y été étalées. L'observation d'une coloration bleue ou violette dans les 60 secondes suivantes

confirmait la présence de l'enzyme et donc une réaction positive au test. Un résultat négatif, caractérisé par l'absence de changement de couleur, indique que la bactérie ne produit pas l'enzyme cytochrome c oxydase (Cheesbrough,2011).

2.3.3.2 Test catalase

Des colonies bactériennes ont été déposées sur des lames de verre, puis une goutte d'eau oxygénée a été ajoutée. Si l'enzyme catalase était présente, cela déclenchait une réaction avec un dégagement de bulles, indiquant la décomposition de l'eau oxygénée en eau et en oxygène. Cette méthode simple permettait de différencier les bactéries aérobies strictes et les anaérobies facultatifs des anaérobies stricts, qui ne peuvent pas neutraliser le peroxyde d'hydrogène (Camille, 2014).

2.3.4 Identification automatisé

L'automate Vitek 2 est un système d'identification et de sensibilité des bactéries, utilisé en microbiologie clinique. Il utilise des cartes en plastique spéciales contenant des puits creusés et des fenêtres limitées par une feuille transparente. Ces cartes sont conçues pour permettre aux fluides de circuler et pour faciliter l'observation des réactions biochimiques.

Dans le cas des cartes colorimétriques GP (Gram+), qui sont destinées à l'identification des Streptocoques, elles contiennent généralement environ 40 tests biochimiques. Ces tests permettent de détecter les caractéristiques biochimiques spécifiques des bactéries, ce qui permet une identification précise de l'espèce.

Les résultats des tests sont comparés à une vaste base de données qui inclut toutes les espèces bactériennes déjà identifiées. Cette comparaison permet de déterminer l'espèce bactérienne présente dans l'échantillon testé.

Cet automate permet d'obtenir des résultats d'identification durant 3 à 7 heures environ (Camille, 2014), ce qui est beaucoup plus rapide que les méthodes traditionnelles qui peuvent prendre plusieurs jours. Cela permet une prise en charge plus rapide des patients en fournissant conjointement des informations précises sur l'agent pathogène responsable de l'infection et sur sa sensibilité aux antibiotiques (figure 09).



Figure 06 : Automate Vitek 2.

2.3.5 Antibiogramme par diffusion sur gélose

L'antibiogramme par la technique de diffusion sur gélose joue un rôle dans la détermination de la sensibilité des streptocoques. En évaluant la sensibilité d'une souche bactérienne à différents antibiotiques, cette technique d'orienter le choix de l'antibiotique efficace (Elavarasan *et al.*, 2013).

Pour réaliser le test, des colonies de *S. salivarius* ont été prélevées avec un écouvillon stérile, puis immergées dans 10 ml de bouillon BCC (voir annexe 01). La turbidité a été ajustée en la comparant au standard 0,5 de McFarland et en ajoutant de la culture bactérienne. Ensuite, la gélose MH chocolat (voir annexe 01) a étéensemencée, les disques d'antibiotiques ont été déposés à l'aide des distributeurs (voir annexe 03), et les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.

L'analyse des zones d'inhibition autour des disques permet de déterminer la sensibilité de bactérie à chaque antibiotique testé.

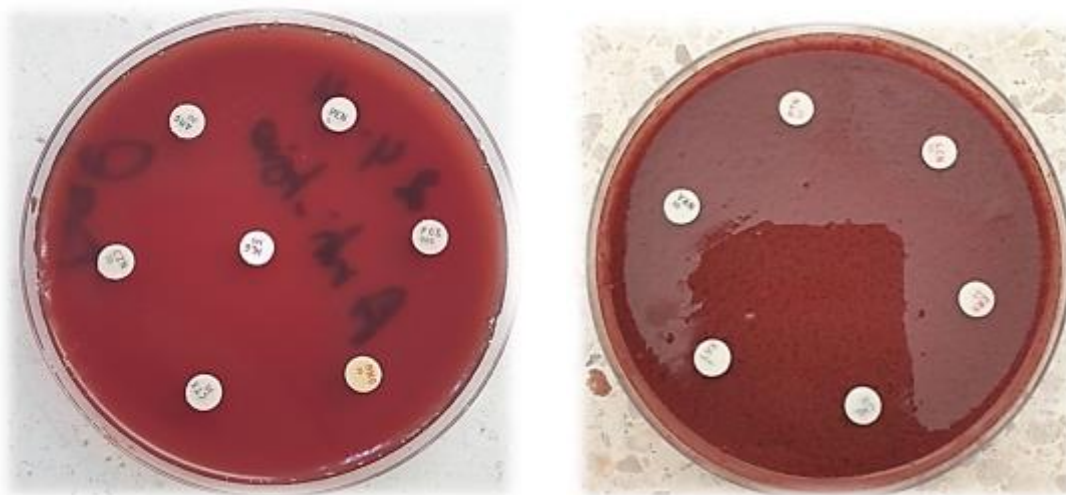


Figure 07 : Boîtes de Pétri prêtes à être incubées (antibiogramme).

2.4 Isolement de *Lactobacillus sp.*

Les prélèvements salivaires ont été inoculés sur milieu MRS (voir l'annexe 01), puis les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 48h, pour favoriser la croissance des bactéries lactiques.

2.4.1 Etude macroscopique

C'est une observation visuelle des colonies cultivées sur milieu MRS afin d'évaluer leur forme, leur taille, leur contour et leur couleur (Lin et Dufresne, 2014).

2.4.2 Etude microscopique

2.4.2.1 Observation à l'état frais

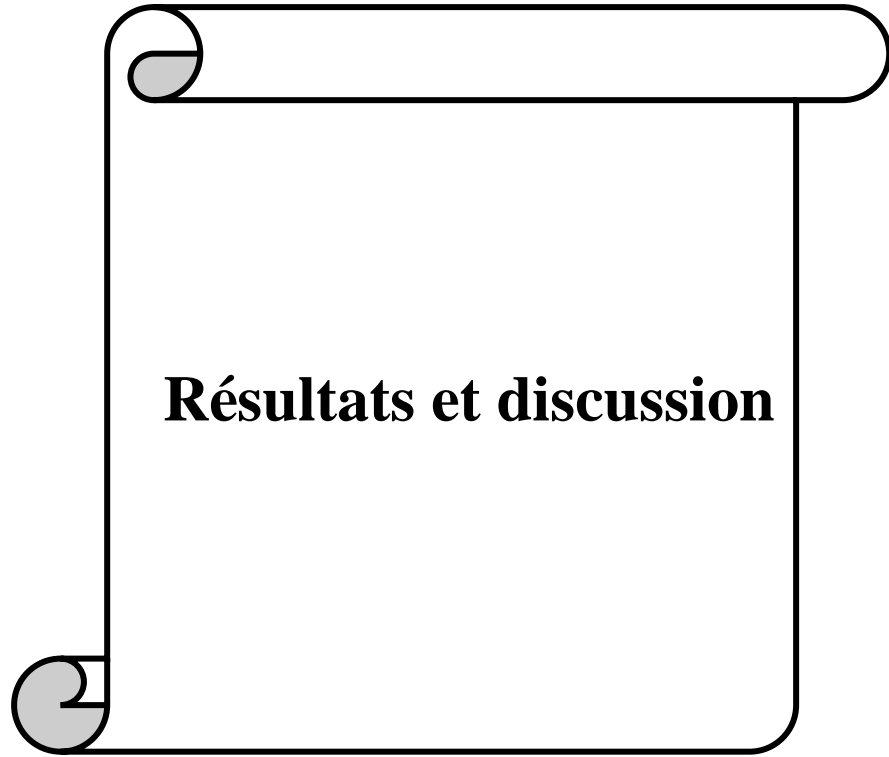
Une goutte d'eau physiologique avec une colonie de *Lactobacillus* a été déposées sur une lame, la préparation est recouverte avec une lamelle. L'observation de l'échantillon a été réalisée sous microscope à un grossissement de (x40) afin d'évaluer la mobilité et la forme des bactéries. Puis au Grossissement (x100) pour observer et confirmer la forme et leur mode de regroupement (Kozmos *et al.*, 2021).

2.4.2.2 Observation à l'état fixé

La méthode de coloration de Gram décrite précédemment a été appliquée ici.

2.5 Interaction bactériens entre *Lactobacillus sp.* et *Streptococcus salivarius* (antagonisme)

L'interaction entre *Lactobacillus sp.* et *S. salivarius* a été étudié en utilisant la méthode de confrontation simultanée, qui consiste à déposer les deux souches, antagoniste et pathogène en même temps. Pour appliquer ce type de confrontation, nous avons suivi le principe de la technique des stries de Schillinger et Lücke (1989). En effet, Sur un milieu de MH chocolat, un tapis bactérien de *S. salivarius* est ensemencé puis, un inoculum de *Lactobacillus sp.* est strié sur ce tapis à l'aide d'un écouvillon. Après 24 heures d'incubation à 37°C, l'observation à l'œil nu permet de détecter la présence d'un halo clair autour de l'inoculum. Ce halo, signe d'une inhibition de la croissance de *S. salivarius*, indique la production d'une substance inhibitrice par *Lactobacillus sp.*



Résultats et discussion

3. Résultats et discussion

L'objectif de cette étude se concentre sur l'interaction bactérienne entre *Lactobacillus sp.* et *S. salivarius*. Pour ce faire, des souches de *Lactobacillus sp.* et de *S. salivarius* ont été isolées à partir de prélèvements buccaux et identifiées selon des tests biochimiques, morphologiques et technologiques.

3.1 Isolement et identification de *Streptococcus salivarius*

Afin de détecter et d'identifier *S. salivarius*, des prélèvements salivaires ont été recueillis et mis en culture sur des milieux gélosés au sang frais et cuit ; et grâce à plusieurs étapes de repiquage, nous avons réussi à isoler et purifier des souches pures. En effet, plusieurs colonies ont été obtenues de différents prélèvements, cependant, l'utilisation d'un milieu spécifique a permis d'obtenir des bactéries appartenant au genre *Streptococcus*.

3.1.1 Examen macroscopique

L'examen macroscopique révèle que les colonies obtenues présentent une croissance rapide sur des milieux gélosés au sang frais et au sang cuit. Après 24 heures d'incubation, les résultats obtenus sont les suivants (Figures 10 et 11).

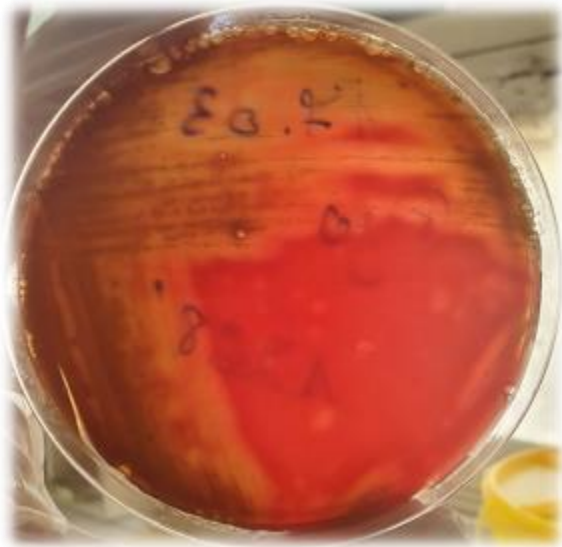


Figure 10 : Aspect macroscopique des colonies obtenues sur milieu gélose au sang frais.



Figure 11 : Aspect macroscopique des colonies obtenues sur milieu gélose au sang cuit.

L'examen macroscopique des isolats sur gélose sang frais et gélose sang cuit révèle des colonies rondes, transparentes et de petite taille. Sur gélose sang frais, un halo d'hémolyse clair est observé autour des colonies, tandis que sur gélose sang cuit l'hémolyse est moins fréquente que

sur gélose sang frais. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Canada (2012) qui a suggéré que ces colonies appartenant au genre *Streptococcus*.

3.1.2 Examen microscopique

L'examen microscopique des isolats ont été effectué en observant les cellules directement dans leur état naturel (à l'état frais), et après les avoir préparé sous forme de frottis sur lames (à l'état fixé).

3.1.2.1 Etat frais

À l'état frais, l'observation des bactéries isolées présentent sous forme sphérique, en cocci, avec un diamètre compris entre 0,5 et 1,0 micromètre. Elles demeurent immobiles et ne montrent aucun signe de mouvement. Les figures suivantes (12 et 13) illustrent l'aspect observé par microscope.

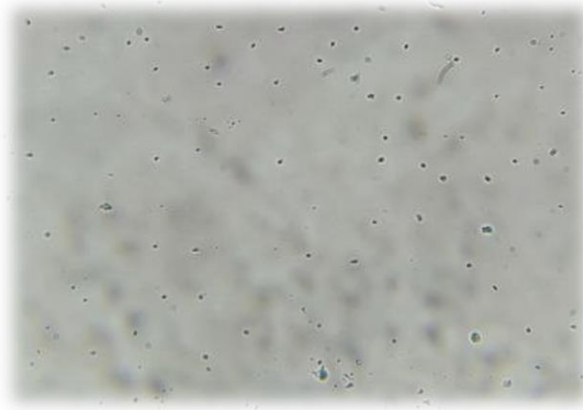


Figure 8 : Aspect microscopiques des colonies isolés (x40).

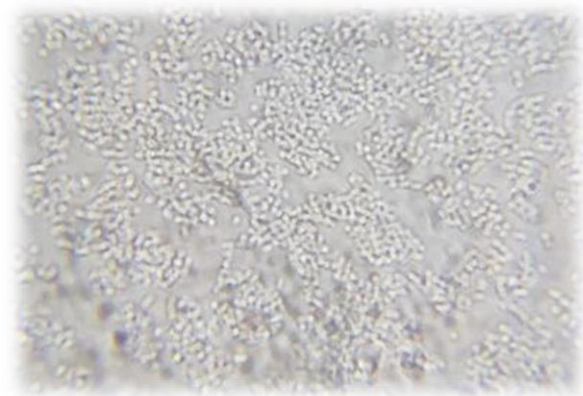


Figure 9 : Aspect microscopique des colonies isolés (x100).

3.1.2.2 Etat fixé

Après la coloration de Gram et une observation microscopique à un grossissement de (x100), les isolats apparaissent violets, ce qui indique qu'elles sont Gram-positives (Figure 14). Cette observation confirme que ces bactéries sont du genre *Streptococcus*.

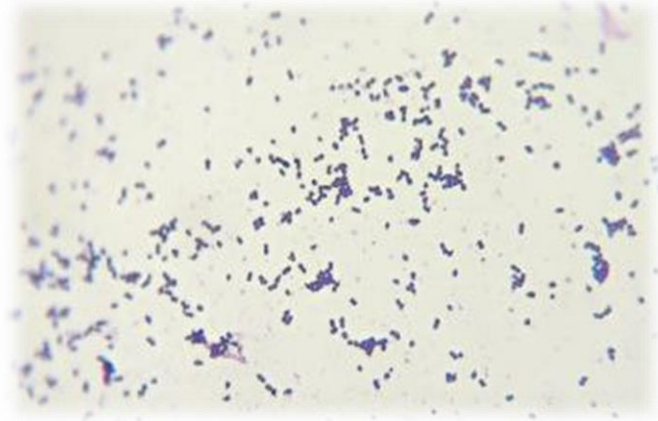


Figure 10 : Aspect microscopiques des isolats après coloration de Gram (x100).

L'observation microscopique des isolats révèle des cocci sphériques, regroupés en paires ou en chaînes. Ces bactéries, de taille comprise entre 0,5 et 1,5 micromètre, apparaissent violettes sous la coloration de Gram, indiquant leur nature Gram positif en raison de la présence de cette épaisse couche de peptidoglycane, non mobiles. Ces résultats concordent avec ceux Cunningham (2000) ; Kilian *et al.* (1989), qui ont proposé que ce type de morphologie caractérise les bactéries appartenant au genre *Streptococcus*.

3.1.3 Identification biochimique

3.1.3.1 Test oxydase

Le test d'oxydase est utilisé pour détecter la présence de l'enzyme cytochrome oxydase ; l'isolat étudié ici possède un résultat négatif.



Figure 11 : Résultat de test oxydase (-).

3.1.3.2 Test catalase

Le test de catalase est utilisé pour détecter la présence de l'enzyme catalase chez les bactéries ; l'isolat étudié possède un résultat négatif (-).



Figure 12 : Résultat de test catalase (-).

Les résultats biochimiques (oxydase (-) catalase (-)) viennent de confirmer que l'isolat appartenant au genre *Streptococcus*.

3.1.4 Identification automatisée

Le VITEk 2 est un système automatisé utilisé pour identifier les micro-organismes (bactéries et levures), le résultat obtenu pour l'identification de l'isolat est représenté par la figure (17) suivante.

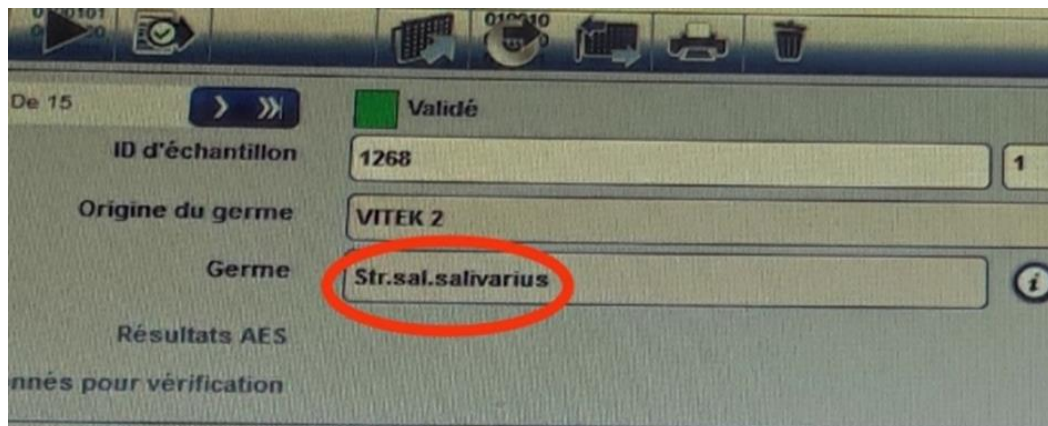


Figure 13 : Présentation de résultat d'identification par VITEK 2.

Les résultats de l'identification automatisée confirment que les caractéristiques observées lors des études macroscopiques, microscopiques et biochimiques correspondent à l'espèce ; *Streptococcus salivarius*, Les résultats obtenus sont en accord avec les conclusions des études menées, entre autres, par Canada (2012), Cunningham (2000), et Kilian *et al.* (1989).

3.1.5 Antibiogramme par diffusion sur gélose

L'implication croissante des *Streptococcus* dans les infections hospitalière est un fait marquant des deux dernières décennies, qui semble être associé à l'usage abusif des antibiotiques, à la multiplication des interventions chez les malades et à l'apparition des souches multi résistantes (Finland, 1971).

Pour cette raison l'approche de sensibilité a été évoquée dans la présente étude pour déterminer l'efficacité de certains antibiotiques disponibles vs de *S. salivarius*. Les résultats de l'antibiogramme sont représentés dans les figures et les tableaux suivants.



Figure 15 : Résultat d'antibiogramme de *S. salivarius* contre différent antibiotiques ; 1- Pénicilline, 2-Amoxicilline, 3-Cefazoline, 4- Cefatoxime, 5-Minocycline, 6- Gentamycine.

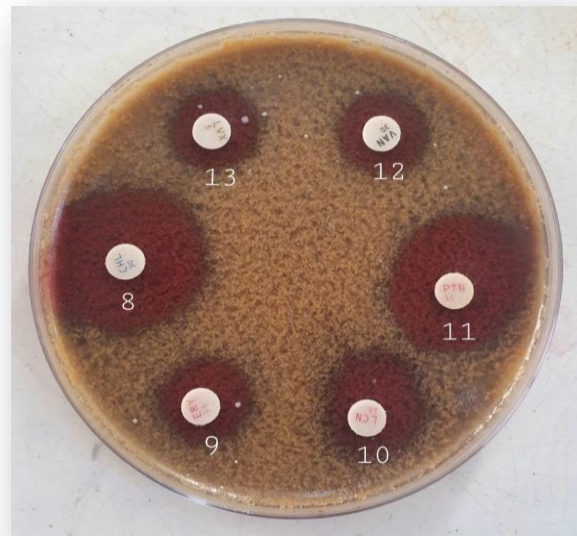


Figure 14 : Résultat d'antibiogramme de *S. salivarius* contre différent antibiotiques ; 8- Chloramphénicol, 9- Erythromycine, 10- Clindamycine, 11- Pristinamycine, 12- Vancomycine, 13- Lévofloxacine.

Tableau 6 : Moyenne de zone d'inhibition (mm) de *S. salivarius* contre différent antibiotiques.

Antibiotique	Diamètre	Sensibilité
1- Pénicilline	10	Résistant
2- Amoxicilline	25	Sensible
3- Cefazoline	28	Sensible
4- Cefatoxime	29	sensible

5- Minocycline	23	Sensible
6- Gentamycine	40	Sensible
7- Fosfomycine	24	Sensible
8- Chloramphénicol	23	Sensible
9- Erythromycine	13	Résistant
10- Clindamycine	20	Sensible
11- Pristinamycine	25	Sensible
12- Vancomycine	17	Sensible
13- Lévofloxacine	12	Résistant

La souche *S. salivarius* utilisée a montrées des sensibilités à l'amoxicilline, la cefazoline, la cefatoxime, la gentamycine et à la minocycline. Ces résultats sont conformes aux résultats précédemment rapportés pour la même espèce (Kim et Lee, 2020). *S. salivarius* est aussi sensible à clindamycine, Pristinamycine, Vancomycine et Chloramphénicol (Ngwu *et al.*, 2022).

La sensibilité des *S. salivarius* aux antibiotiques cités au-dessus est signalée par plusieurs auteurs (Goldsmith *et al.*, 2015 ; Gordon *et al.*, 2002).

Par contre *S. salivarius* présent une résistante à l'érythromycine, la lévofloxacine et la pénicilline. Ces résultats sont aussi obtenus par (Philips Ogbeide Orhue *et al.*, 2021).

3.2 Isolement de *Lactobacillus sp.*

Au cours de notre recherche, nous avons isolé des souches de lactobacilles à partir d'un échantillon prélevé de la salive. En les cultivant et en les purifiant à travers plusieurs étapes de repiquage sur un milieu MRS (Man Rogosa Sharp), nous avons réussi à obtenir quatre isolats de souche pure.

3.2.1 Etude Macroscopique

L'utilisation du milieu de culture MRS a formé, *a priori*, une prédiction des bactéries à obtenir, étant donné que ce milieu est spécifique pour les bactéries lactiques. D'après l'observation macroscopique des colonies des isolats et cultivées sur milieu solide MRS, les résultats suivants ont été obtenus.



Tableau 7 : Aspect macroscopique des colonies obtenues sur milieu MRS.

Les colonies des isolats observées sont ; blanches, petites, opaques et bien isolées. Ces caractéristiques correspondent aux descriptions fournies par Denis *et al.* (2007), qui décrivent les colonies des bactéries du genre *Lactobacillus* comme étant, généralement, petites lisses, brillantes, non pigmentées et souvent opaques.

3.2.2 Etude Microscopique

L'observation microscopique se réalise à deux reprises ; une fois sur un échantillon à l'état frais et une autre fois sur un échantillon ayant subi une fixation et une coloration.

3.2.2.1 Observation à l'état frais

L'observation de l'aspect à l'aide d'un microscope optique à l'état frais, a été effectuée avec un grossissement de (x40) pour capter le champ, puis avec un grossissement de (x100) pour mieux visualiser les cellules bactériennes. Les résultats de cette observation sont les suivants (figure 21 et 22).

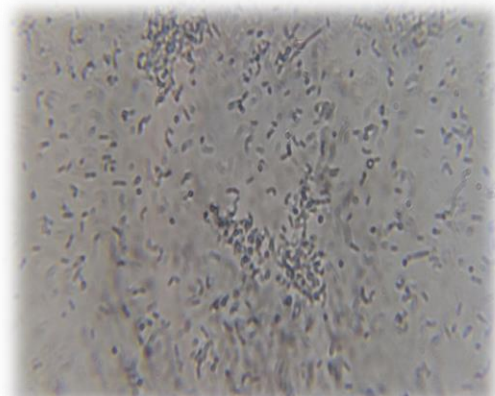
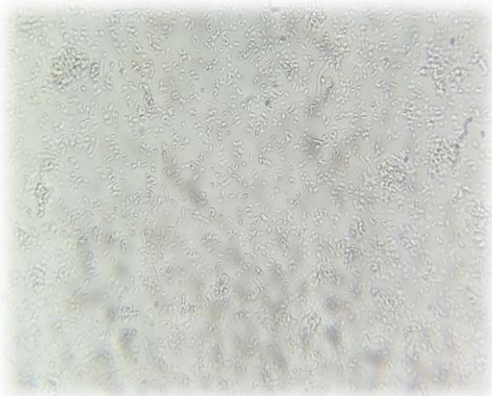


Figure 17 : Aspect microscopiques des cellules des isolats (x40).

Figure 16 : Aspect microscopiques des cellules des isolats (x100).

L'observation microscopique des isolats étudiés montre des cellules immobiles regroupée en chaînette, parfois en paire. Cet aspect microscopique correspond aux caractéristiques décrites par (Guiraud et Rosec, 2004).

3.2.2.2 Observation à l'état fixé

Lors de l'observation microscopique du frotti bactérien à un grossissement de (x100) après coloration de Gram et avec l'utilisation de l'huile à immersion, le résultat obtenu est représenté par la figure (22) suivante.

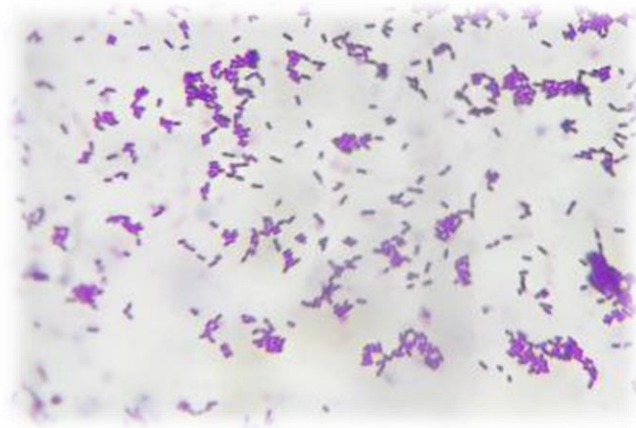


Figure 18 : Aspect microscopiques des cellules des isolats après coloration de Gram (x100).

Les isolats se présentaient sous forme de bacilles fins de couleur violette, avec des variations dans leur mode d'association. L'ensemble des résultats de l'observation microscopique en l'occurrence ; Gram positif, sous forme de bacilles longs et fins, légèrement arrondies et mode d'association des cellules en chaînettes. Ces résultats prédisent que ces bactéries appartenant au genre *Lactobacillus* sans, pour autant, définir l'espèce aussi d'après les travaux de Axelsson (1993) ; Kandler et Weise, (1986), qui ont obtenu les mêmes caractéristiques chez ce genre bactérien. De ce fait, la bactérie obtenue dans cette étude correspond à *Lactobacillus sp.*

3.3 Interaction bactériens entre *Lactobacillus sp.* et *Streptococcus salivarius* (antagonisme)

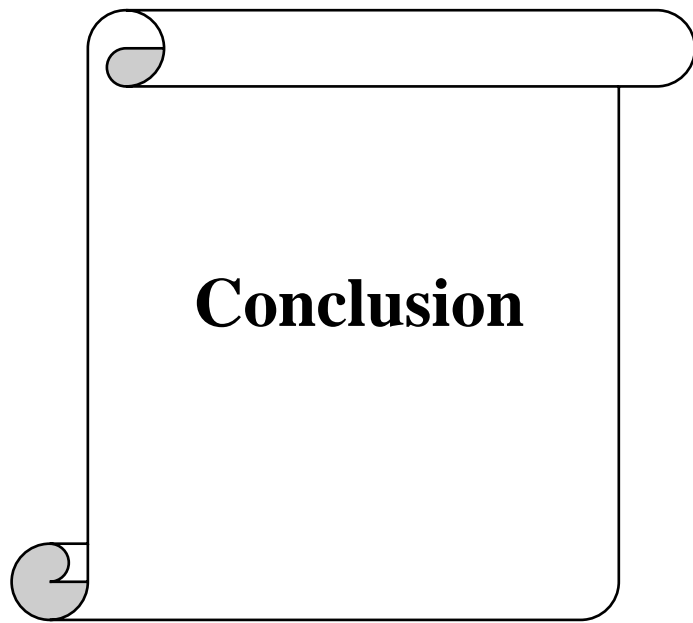
Après avoir isolé les souches pures de *Lactobacillus sp.* et de *S. salivarius*, une analyse de leur interaction a été développée en vue de sélectionner un probiotique capable d'inhiber naturellement le croissance de la bactérie opportuniste *S. salivarius*. Les résultats obtenus (Figure 23) révèlent que le *Lactobacillus sp.* avait la capacité d'inhiber la croissance du *S. salivarius* en développant une zone séparant les deux bactéries.



Figure 19 : Pouvoir antagoniste de *Lactobacillus sp.* sur *Streptococcus salivarius*.

En effet, cette zone est nettement claire, d'extension latérale, supérieure à 2 mm d'épaisseur. Cette zone est due à la présence d'une substance chimique sécrétée par la bactérie *Lactobacillus sp.* cette substance peut servir de produit antibactérien. L'ensemble des résultats sont accord ceux développés par des études antérieures (Doukani, 2015 ; Tabak *et al.*, 2007 ; Fleming *et al.*, 1975).

L'effet inhibiteur de ces souches varie en fonction de ; la souche de *S. salivarius* ciblée, de temps d'application entre l'application et la technique de confrontation utilisée (simultanée dans ce cas) (Hafidha *et al.*, 2019).



Conclusion

Conclusion

Exploration des bactéries d'origine buccale comme agents opportunistes et probiotiques est une voie prometteuse pour élucider leur rôle et leur impact dans les domaines de la santé et de l'agroalimentaire. Des recherches supplémentaires dans ce domaine peuvent conduire à des avancées significatives dans le diagnostic, le traitement et la sécurité alimentaire, avec des implications potentielles pour la santé publique et l'industrie alimentaire.

L'objectif assigné à cette étude a été atteint par l'isolement et identification de deux bactéries ; une considérée comme opportuniste en l'occurrence, *Streptococcus salivarius*, et l'autre, à savoir, *Lactobacillus sp.*, développant un effet antagoniste vis-à- de la première. Les deux bactéries sont isolées du même écosystème de la cavité buccale par des prélèvements du crachat, suivi par leur ensemencement sur milieux spécifiques correspondants. L'exposé de la bactérie opportuniste *Streptococcus salivarius* à certains antibiotiques a permis de conclure qu'elle développait une résistance. Ce résultat a orienté le travail vers la recherche d'une bactérie développant un effet inhibiteur appartenant au même écosystème. En effet, cette recherche a abouti à la sélection *Lactobacillus sp.*, cette bactérie a développé une action antagoniste vs *Streptococcus salivarius*. Cette étude a permis de conclure que les lactobacilles de la cavité buccale chez l'homme et qui appartient aux probiotiques sont présents naturellement dans cet écosystème, forment naturellement une barrière contre les bactéries opportunistes et pathogènes protégeant l'homme de leurs effets néfastes sur sa santé. La compréhension approfondie des mécanismes d'effet antagonistes de ces bactéries peut servir de socle pour leur production à l'échelle industrielle.

Au terme de cette modeste recherche, il a été permis de dégager certains points comme éléments de recherches futures :

- La recherche à confirmer que le microbiote buccal de l'homme pourrait devenir une nouvelle voie pour le traitement naturel de certaines maladies microbiennes ;
- Approfondir les recherches sur le mécanisme d'action des bactériocines produites par les lactobacilles ;
- L'utilisation de l'approche métagénomique pour cibler toutes les bactéries buccales et sélection de gènes d'intérêt dans le domaine investi.

Résumé

La présente étude visait à isoler, sélectionner et identifier certains des bactéries buccales, notamment, *Streptococcus salivarius*, à partir d'échantillons de, salive, et de crachat, et à évaluer leur réaction vs certains antibiotiques. Les bactéries obtenues ont été cultivées sur des milieux spécifiques pour caractériser leur taille, leur forme et leur mobilité et leur identification a été confirmée par un automate. L'implication croissante des streptocoques dans les infections hospitalières a été soulignée. Les souches de *Lactobacillus sp.* ont, également, été isolées du même écosystème, partiellement caractérisées, suivie, par la recherche de leur aptitude à inhiber la bactérie *Streptococcus salivarius*, considérée comme agent opportuniste. Cette interaction a été étudiée par des tests d'antagonisme, montrant des zones d'inhibition autour de la souche *Streptococcus salivarius*. Ces résultats mettent en lumière l'importance de la recherche des bactéries d'origine buccale développant des propriétés probiotiques comme les lactobacilles. Ces bactéries peuvent servir à la fois pour la sécurité sanitaire et agroalimentaire.

Mots clés : Bactéries buccales, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus sp.*, antagonisme, sécurité sanitaire, sécurité agroalimentaire.

Abstract:

The present study aimed to isolate, select, and identify certain oral bacteria, notably *Streptococcus salivarius*, from samples of saliva and sputum, and to assess their reaction to certain antibiotics. The obtained bacteria were cultured on specific media to characterize their size, shape, and mobility, and their identification was confirmed using an automated system. The increasing implication of streptococci in hospital-acquired infections was emphasized. Strains of *Lactobacillus* were also isolated from the same ecosystem, partially characterized, followed by the investigation of their ability to inhibit the bacterium *Streptococcus salivarius*, considered an opportunistic agent. This interaction was studied through antagonism tests, showing zones of inhibition around the *Streptococcus salivarius* strain. These results highlight the importance of researching oral bacteria that develop probiotic properties such as lactobacilli. These bacteria can serve both for food safety and agro-food safety.

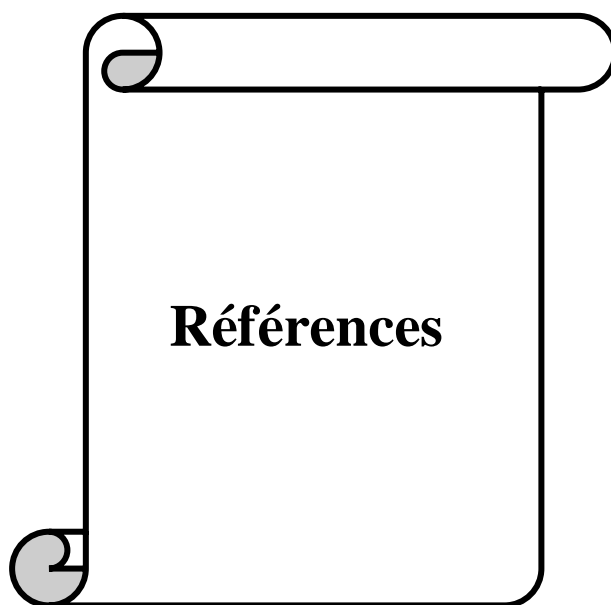
Keywords: Oral bacteria, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus sp.*, Antagonism, Food safety, agro-food safety.

ملخص

ملخص

الدراسة الحالية تهدف إلى عزل وتحديد بعض البكتيريا الفموية، بما في ذلك *Streptococcus salivarius*، من عينات اللعاب والبصاق، وتقييم استجابتها مقابل بعض المضادات الحيوية. تمت زراعة البكتيريا المحصلة على وسط خاص لتوصيف حجمها وشكلها وحركتها، وتم تأكيد تحديدها عن طريق جهاز تلقائي. تم التأكيد على الدور المتزايد لعائلة Streptococques في العدوى المستشفى. تم عزل سلالات من *Lactobacillus sp.* من نفس النظام البيئي، وتم توصيفها جزئياً، تليها البحث عن قدرتها على تثبيط بكتيريا *Streptococcus salivarius*، التي تُعتبر وكيلة فرص. تم دراسة هذا التفاعل من خلال اختبارات العدا، حيث أظهرت مناطق تثبيط حول سلالة *Streptococcus salivarius*. تسلط هذه النتائج الضوء على أهمية البحث عن البكتيريا الفموية التي تطوّر خصائص البر وبيوتيك مثل *Lactobacillus*. يمكن لهذه البكتيريا أن تخدم في السلامة الصحية والغذائية.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا فموية، *Streptococcus salivarius*، *Lactobacillus sp.*، عدا، سلامة صحية، سلامة غذائية.



Références

Références

- Avila, M., Ojcius, D.M., Yilmaz, Ö., 2009. *The Oral Microbiota: Living with a Permanent Guest*. DNA and Cell Biology 28, 405–411.
- Babina, K., Salikhova, D., Polyakova, M., Svitich, O., Samoylikov, R., Ahmad El-Abed, S., Zaytsev, A., Novozhilova, N., 2022. *The Effect of Oral Probiotics (Streptococcus Salivarius k12) on the Salivary Level of Secretory Immunoglobulin A, Salivation Rate, and Oral Biofilm: A Pilot Randomized Clinical Trial*. Nutrients 14, 1124.
- Negash, A.W., Tsehai, B.A., 2020. *Current Applications of Bacteriocin*. International Journal of Microbiology 2020, e4374891.
- Prosper, A., Lê, S., Thomas, C., Minty, M., Hamel, O., Blasco-Baque, V., Canceill, T., 2024. *Les dents et le milieu buccal au cœur de la santé globale*. Med Sci (Paris) 40, 10–15.
- Sharma, N., Bhatia, S., Sodhi, A.S., Batra, N., 2018. *Oral microbiome and health*. AIMS Microbiology 4, 42.
- Wade, W.G., 2021. *Resilience of the oral microbiome*. Periodontology 2000 86, 113–122.
- Xiao, J., Fiscella, K.A., Gill, S.R., 2020. *Oral microbiome: possible harbinger for children's health*. Int J Oral Sci 12, 1–13.
- Yamashita, Y., Takeshita, T., 2017. *The oral microbiome and human health*. J Oral Sci 59, 201–206.
- Al-Shehri, S.S., Sweeney, E.L., Cowley, D.M., Liley, H.G., Ranasinghe, P.D., Charles, B.G., Shaw, P.N., Vagenas, D., Duley, J.A., Knox, C.L., 2016. *Deep sequencing of the 16S ribosomal RNA of the neonatal oral microbiome: a comparison of breast-fed and formula-fed infants*. Sci Rep 6, 38309.
- Babina, K., Salikhova, D., Polyakova, M., Svitich, O., Samoylikov, R., Ahmad El-Abed, S., Zaytsev, A., Novozhilova, N., 2022. *The Effect of Oral Probiotics (Streptococcus Salivarius k12) on the Salivary Level of Secretory Immunoglobulin A, Salivation Rate, and Oral Biofilm: A Pilot Randomized Clinical Trial*. Nutrients 14, 1124.
- Balandreau, J., Knowles, R., 1978. Chapter 7 - The Rhizosphere, in: Dommergues, Y.R., Krupa, S.V. (Eds.), *Developments in Agricultural and Managed Forest Ecology, Interactions Between Non-Pathogenic Soil Microorganisms and Plants*. Elsevier, pp. 243–268.

- Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 2009, | Major Reference Works
- Bharathiraja, Dr.B., Ranganathan, S., Subramani, P., Ramanujam, P.K., 2014. *Enhanced production of bacteriocin from probiotics using optimization techniques by response surface methodology*. *Acta horticulturae* 1, 280–286.
- Bowen, W.H., 1970. *Effects of Foods on Oral Bacterial Populations in Man and Animals*. *J Dent Res* 49, 1276–1281.
- Bull, M., Plummer, S., Marchesi, J., Mahenthiralingam, E., 2013. *The life history of Lactobacillus acidophilus as a probiotic: a tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success*. *FEMS Microbiology Letters* 349, 77–87.
- Bulletin de l'Association des diplômés de microbiologie de la Faculté de pharmacie de Nancy*, 1973. . Société d'impressions typographiques.
- Canada, L. and A., 2022. Item – Theses Canada
- Chardin, HBO., Barsotti, O., Bonnaure-Mallet, M., 2006. *Microbiologie en odontostomatologie*. Maloine.
- Corredoira, J.C., Alonso, M.P., García, J.F., Casariego, E., Coira, A., Rodriguez, A., Pita, J., Louzao, C., Pombo, B., López, M.J., Varela, J., 2005. *Clinical characteristics and significance of Streptococcus salivarius bacteremia and Streptococcus bovis bacteremia: a prospective 16-year study*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 24, 250–255.
- Cosseau, C., Devine, D.A., Dullaghan, E., Gardy, J.L., Chikatamarla, A., Gellatly, S., Yu, L.L., Pistolic, J., Falsafi, R., Tagg, J., Hancock, R.E.W., 2008. *The Commensal Streptococcus salivarius K12 Downregulates the Innate Immune Responses of Human Epithelial Cells and Promotes Host-Microbe Homeostasis*. *Infection and Immunity* 76, 4163–4175.
- Delorme, C., Abraham, A.-L., Renault, P., Guédon, E., 2015. *Genomics of Streptococcus salivarius, a major human commensal*. *Infection, Genetics and Evolution* 33, 381–392.
- Demir, T., Demir, H., 2021. *Inhibitory Effect of Probiotics Lactobacillus Supernatants Against Streptococcus Mutans and Preventing Biofilm Formation*. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology* 9, 339–345.
- Deo, P.N., Deshmukh, R., 2019. *Oral microbiome: Unveiling the fundamentals*. *J Oral Maxillofac Pathol* 23, 122–128.
- Doctissimo, 2019. La bouche, un écosystème fragile .
- Domingo, S., José, J., 2017. *Review of the role of probiotics in gastrointestinal diseases in adults*. *Gastroenterol Hepatol* 40, 417–429.
- Dunne, C., O'Mahony, L., Murphy, L., Thornton, G., Morrissey, D., O'Halloran, S., Feeney, M., Flynn, S., Fitzgerald, G., Daly, C., Kiely, B., O'Sullivan, G.C., Shanahan, F., Collins, J.K.,

2001. *In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings*. Am J Clin Nutr 73, 386S-392S.
- Fredrickson, A.G., 1977. *BEHAVIOR OF MIXED CULTURES OF MICROORGANISMS*. Annual Review of Microbiology 31, 63–88.
- Geering, K., 1975. *Lipase and unspecific esterase activity in the fat body of Aedes aegypti L.* Acta Trop 32, 273–276.
- Geigy, R., Jenni, L., Kauffmann, M., Onyango, R.J., Weiss, N., 1975. *Identification of T. brucei-subgroup strains isolated from game*. Acta Trop 32, 190–205.
- Gélose au sang et gélose au sang + ANC*, 2010.
- Georges, C., François-Marie, L., 2008. *Bactéries lactiques. De la génétique aux ferments*. Lavoisier.
- Gibbons, R.J., Houte, J.V., 1975. *Bacterial adherence in oral microbial ecology*. Annual Review of Microbiology 29, 19–42.
- Giraffa, G., Chanishvili, N., Widyastuti, Y., 2010. *Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology*. Research in Microbiology, Microbial research commons: From strain isolation to practical use 161, 480–487.
- Goldberg, M., Ardouin, J.-L., Barrandon, Y., Bernimoulin, J.-P., Bonnaure-Mallet, M., Bouvet, J.-P., Brion, M., Daculsi, G., Dard, M., Kaiserlian, D., Klein, J.-P., Lebrun, T., Ogier-Dirrig, J., Pellat, B., Sixou, M., 1999. *Maladies parodontales : thérapeutiques et prévention (report)*. Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM).
- Gueimonde, M., Salminen, S., 2006. *New methods for selecting and evaluating probiotics*. Digestive and Liver Disease, Papers from the 3rd International Congress on Probiotics, Prebiotics and New Foods 38, S242–S247.
- Gurbanov, R., Yıldız, F., 2017. *Molecular profile of oral probiotic bacteria to be used with functional foods*. Food and Health 3, 117–131.
- He, L., Yang, H., Chen, Z., Ouyang, X., 2020. *The Effect of Streptococcus salivarius K12 on Halitosis: a Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial*. Probiotics & Antimicro. Prot. 12, 1321–1329.
- Hemolysis: Types, Causes & Symptoms*, 2001. Cleveland Clinic.
- Holzappel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., Schillinger, U., 2001. *Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition*. Am J Clin Nutr 73, 365S-373S.
- Jack, R.W., Tagg, J.R., Ray, B., 1995. *Bacteriocins of gram-positive bacteria*. Microbiol Rev 59, 171–200.

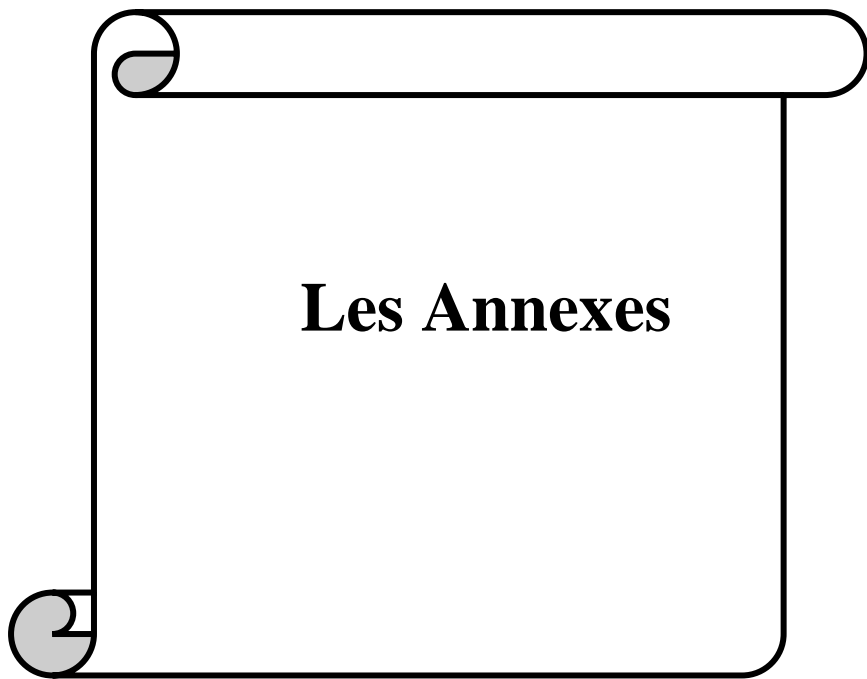
- Ketteridge, D., 1975. *Differentiation of newly isolated strains of Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi by agglutination and precipitation reactions*. Acta Trop 32, 173–189.
- Kim, Y.S., Ho, S.B., 2010. *Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress*. Curr Gastroenterol Rep 12, 319–330.
- Klaenhammer, T.R., Kullen, M.J., 1999. *Selection and design of probiotics*. International Journal of Food Microbiology 50, 45–57.
- Kleerebezem, M., de Vos, W.M., 2011. *Lactic acid bacteria: life after genomics*. Microbial Biotechnology 4, 318–322.
- Kullar, R., Goldstein, E.J.C., Johnson, S., McFarland, L.V., 2023. *Lactobacillus Bacteremia and Probiotics: A Review*. Microorganisms 11, 896.
- Lamontagne, M., 2020. *Mécanisme d'arrêt de la compétence chez Streptococcus salivarius*.
- Lara-Villoslada, F., Olivares, M., Sierra, S., Rodríguez, J.M., Boza, J., Xaus, J., 2007. *Beneficial effects of probiotic bacteria isolated from breast milk*. British Journal of Nutrition 98, S96–S100.
- Latif, A., Shehzad, A., Niazi, S., Zahid, A., Ashraf, W., Iqbal, M., Rehman, A., Riaz, T., Khan, I., Ozogul, F., Rocha, J., Esatbeyoglu, T., Korma, S., 2023. *Probiotics: Mechanism of action, health benefits and their application in food industries*. Frontiers in Microbiology.
- Lawrence, G.W., McCarthy, N., Walsh, C.J., Kunyoshi, T.M., Lawton, E.M., O'Connor, P.M., Begley, M., Cotter, P.D., Guinane, C.M., 2022. *Effect of a bacteriocin-producing Streptococcus salivarius on the pathogen Fusobacterium nucleatum in a model of the human distal colon*. Gut Microbes 14, 2100203.
- Lebeer, S., Vanderleyden, J., De Keersmaecker, S.C.J., 2010. *Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens*. Nat Rev Microbiol 8, 171–184.
- Lévesque, C., Lamothe, J., Frenette, M., 2003. *Coaggregation of Streptococcus salivarius with periodontopathogens: evidence for involvement of fimbriae in the interaction with Prevotella intermedia*. Oral Microbiol Immunol 18, 333–337.
- Łubiech, K., Twarużek, M., 2020. *Lactobacillus Bacteria in Breast Milk*. Nutrients 12, 3783.
- Lyons, K.E., Ryan, C.A., Dempsey, E.M., Ross, R.P., Stanton, C., 2020. *Breast Milk, a Source of Beneficial Microbes and Associated Benefits for Infant Health*. Nutrients 12, 1039.
- Madsen, K., Cornish, A., Soper, P., McKaigney, C., Jijon, H., Yachimec, C., Doyle, J., Jewell, L., Simone, C.D., 2001. *Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function*. Gastroenterology 121, 580–591.

- Metchnikoff, E., Mitchell, P.C. (Peter C., 1908. *The prolongation of life : optimistic studies*. New York & London : G. P. Putnam's Sons, The Knickerbocker Press.
- Ouwehand, A.C., Salminen, S., Isolauri, E., 2002. *Probiotics: an overview of beneficial effects*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 82, 279–289.
- Pilgrim, ~ Son of, 2020. Pyogenic cocci. The Good Doctor.
- Prosper, A., Lê, S., Thomas, C., Minty, M., Hamel, O., Blasco-Baque, V., Canceill, T., 2024. *Les dents et le milieu buccal au cœur de la santé globale*. *Med Sci (Paris)* 40, 10–15.
- Rigobelo, E., 2012. Probiotics. BoD – Books on Demand.
- Ruby, J., Barbeau, J., n.d. *The Buccale Puzzle: The Symbiotic Nature of Endogenous Infections of the Oral Cavity*. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology* 13, 34–41.
- Sa, 2015. *Compositional Guideline for Streptococcus salivarius M18*.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., Mattila-Sandholm, T., 2000. *Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties*. *J Biotechnol* 84, 197–215.
- Salvetti, E., Torriani, S., Felis, G.E., 2012. *The Genus Lactobacillus: A Taxonomic Update*. *Probiotics & Antimicro. Prot.* 4, 217–226.
- Sanders, M.E., 2003. *Probiotics: considerations for human health*. *Nutr Rev* 61, 91–99.
- Servin, A.L., 2004. *Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens*. *FEMS Microbiol Rev* 28, 405–440.
- Sixou, M., Diouf, A., Alvares, D., 2007. *Biofilm buccal et pathologies buccodentaires*. *Antibiotiques* 9, 181–188.
- Stamm, O., Latscha, U., Janecek, P., Campana, A., 1976. *Development of a special electrode for continuous subcutaneous pH measurement in the infant scalp*. *Am J Obstet Gynecol* 124, 193–195.
- Système immunitaire et microbiote des nourrissons*, 2023.
- Tailliez, P., 2004. *Les lactobacilles : propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine*. *Antibiotiques* 6, 35–41.
- Wescombe, P.A., Heng, N.C., Burton, J.P., Chilcott, C.N., Tagg, J.R., 2009. *Streptococcal bacteriocins and the case for Streptococcus salivarius as model oral probiotics*.
- Whiley, R.A., Beighton, D., 1998. *Current classification of the oral streptococci*. *Oral Microbiology and Immunology* 13, 195–216.
- Yaekob, A.T., Kasegn, M.M., Mesele, E., Haftu, S.Z., Gebremeskel, A.Z., Gebrelibanos, T.S., 2024. *Cactus pear (Opuntia ficus-indica) cladode extracts as a growth medium for Lactobacillus species: the case of Lactobacillus reuteri and Lactobacillus mali*. *Biologia*.

- Zangrilli, A., Diluvio, L., Di Stadio, A., Di Girolamo, S., 2022. *Improvement of Psoriasis Using Oral Probiotic Streptococcus salivarius K-12: a Case–Control 24-Month Longitudinal Study. Probiotics & Antimicro. Prot.* 14, 573–578.
- Zimmermann, P., Curtis, N., 2020. *Breast milk microbiota: A review of the factors that influence composition. Journal of Infection* 81, 17–47.
- Zoumpopoulou, G., Pepelassi, E., Papaioannou, W., Georgalaki, M., Maragkoudakis, P.A., Tarantilis, P.A., Polissiou, M., Tsakalidou, E., Papadimitriou, K., 2013. *Incidence of Bacteriocins Produced by Food-Related Lactic Acid Bacteria Active towards Oral Pathogens. International Journal of Molecular Sciences* 14, 4640–4654.
- Bekrarchouche, K., Sidi Ali Cherif, G.B., Moulkraloua, F.Z., 2022. *Profil Bactériologique des infections respiratoires l'état de l'antibiorésistance.*
- Camille, D., 2014. *Pratique en microbiologie de laboratoire ? Recherche de bactéries et de levures-moisissures.* Lavoisier.
- Cheesbrough, M., 2011 *District Laboratory Practice in Tropical Countries, Part 2 Second Edition.*
- Dugourd, P.-M., Dupont, A., Hubiche, T., Chiaverini, C., *et al.*, 2019. *Érythème généralisé fébrile et choc : choc toxique staphylococcique. Annales de Dermatologie et de Vénérologie* 146, 287–291.
- Elavarasan, T., Chhina, S.K., Parameswaran (Ash), M., Sankaran, K., 2013. *Resazurin reduction based colorimetric antibiogram in microfluidic plastic chip. Sensors and Actuators B: Chemical* 176, 174–180.
- Elvire, N.A.M., Vanessa, S.L., Hortense, G.K., Emmanuel, N.N., Rose, N.M., Francine, M.N.C., Charles, F., 2020. *Activité Antibactérienne In Vitro d'Azadirachta Indica (Neem) Utilisé pour le Traitement de l'Alvéolite. HEALTH SCIENCES AND DISEASE* 21.
- Jamai Amir, I., Lebar, Z., yahyaoui, G., Mahmoud, M., 2020. *Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. Option/Bio* 31, 15–20.
- Kozmos, M., Virant, P., Rojko, F., Abram, A., Rudolf, R., Raspor, P., Zore, A., Bohinc, K., 2021. *Bacterial Adhesion of Streptococcus mutans to Dental Material Surfaces. Molecules* 26, 1152.
- Lin, N., Dufresne, A., 2014. *Surface chemistry, morphological analysis and properties of cellulose nanocrystals with gradiented sulfation degrees. Nanoscale* 6, 5384–5393.

- O'Neil, E., Horney, B., Burton, S., Lewis, P.J., MacKenzie, A., Stryhn, H., 2013. *Comparison of wet-mount, Wright-Giemsa and Gram-stained urine sediment for predicting bacteriuria in dogs and cats*. *Can Vet J* 54, 1061–1066.
- Pimentel-Filho, N. de J., Mantovani, H.C., de Carvalho, A.F., Dias, R.S., Vanetti, M.C.D., 2014. *Efficacy of bovicin HC5 and nisin combination against Listeria monocytogenes and Staphylococcus aureus in fresh cheese*. *International Journal of Food Science & Technology* 49, 416–422.
- Schillinger, U., Lücke, F.K., 1989. *Antibacterial activity of Lactobacillus sake isolated from meat*. *Appl Environ Microbiol* 55, 1901–1906.
- Yajko, D.M., Lawrence, J., Nassos, P., Young, J., Hadley, W.K., 1986. *Clinical trial comparing bacitracin with Strep-A-Chek for accuracy and turnaround time in the presumptive identification of Streptococcus pyogenes*. *Journal of Clinical Microbiology* 24, 431–434.
- Canada, A. de la santé publique du, 2012. Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – *Streptococcus salivarius*.
- Cunningham, M.W., 2000. *Pathogenesis of group A streptococcal infections*. *Clin Microbiol Rev* 13, 470–511.
- Denis, F., Ploy, M.-C., Martin, C., Bingen, E., Quentin, R., 2007. *Bactériologie médicale, techniques usuelles*. Masson 389–392.
- Doukani, K., 2015. *Effect of Bifidobacterium bifidum CUETM 89/29 on Helicobacter pylori 158 SAN Responsible for Gastroduodenal Diseases*. *International Journal of Applied and Natural Sciences (IJANS)* 4, 25–32.
- Drider, M.D., 2019. *Potentiel probiotique et activités anti-Clostridium perfringens établies in vitro et in vivo pour des souches du genre Lactobacillus nouvellement isolées du caecum de poulets*.
- Finland, M., 1971. *Changes in Susceptibility of Selected Pathogenic Bacteria to Widely Used Antibiotics*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 182, 5–20.
- Goldsmith, C.E., Hara, Y., Sato, T., Nakajima, T., Nakanishi, S., Mason, C., Moore, J.E., Matsuda, M., Coulter, W.A., 2015. *Comparison of antibiotic susceptibility in viridans group streptococci in low and high antibiotic-prescribing General Practices*. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* 40, 204–207.
- Gordon, K.A., Beach, M.L., Biedenbach, D.J., Jones, R.N., Rhomberg, P.R., Mutnick, A.H., 2002. *Antimicrobial susceptibility patterns of β -hemolytic and viridans*

- group streptococci*: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2000). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 43, 157–162.
- Guiraud, J.-P., Rosec, J.-P., 2004. *Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR.*
- Kilian, M., MIKKELSEN, L., HENRICHSEN, J., 1989. Taxonomic Study of Viridans *Streptococci*: Description of *Streptococcus gordonii* sp. nov. and Emended Descriptions of *Streptococcus sanguis* (White and Niven 1946), *Streptococcus oralis* (Bridge and Sneath 1982), and *Streptococcus mitis* (Andrewes and Horder 1906). *International Journal of Systematic Bacteriology* 39.
- Kim, Y.-H., Lee, S.Y., 2020. *Antibiotic Resistance of Viridans Group Streptococci Isolated from Dental Plaques.* *Biocontrol Science* 25, 173–178.
- Ngwu, J.N., Uzoeto, H.O., Emaimo, J., Okorie, et al., 2022. *Antibiogram of Biofilm Forming Oral Streptococci Species Isolated from Dental Caries Patients Visiting Federal College of Dental Technology and Therapy, Enugu Nigeria.* *International Journal of Research and Reports in Dentistry* 5, 12–25.
- Philips Ogbeide Orhue, Timothy Omoregie, Charlse Iyore Idehen, Osamuyimen Iserhienrhien, 2021. *Antibiogram types of bacterial isolates from dental caries patients attending clinic at a teaching hospital in Nigeria.* *Int. J. Sci. Res. Updates* 1, 024–041.
- Salvetti, E., Torriani, S., Felis, G.E., 2012. *The Genus Lactobacillus: A Taxonomic Update.* *Probiotics & Antimicro. Prot.* 4, 217–226.



Les Annexes

Les Annexes

Annexe 01

Composition des milieux

Milieu MRS

Extrait de levure	5g/L
Extrait de viande	10g/L
Peptone	10g/L
Acétate de sodium	5g/L
Citrate de sodium	2g/L
Glucose	20g/L
KH ₂ PO	2g/L
MgSO ₄	0,2g/L
MnSO ₄	0,05g/L
Agar	15g/L
Tween80.....	1ml/
Eau distillée	1000 ml

pH=6.2

Milieu Mulher hinton chocolat

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

PH=7.4

Milieu gélose au sang

Mélange spécial de peptones.....	23g
amidon	1 g
chlorure de sodium	5 g
agar	10 g
sang humain	50 ml

pH=7.3

Milieu columbia

Extrait de levure.....	3,0
Peptone de viande.....	5,0
Peptone de soja.....	3,0
Tryptone.....	5,0
Cœur-cerveau.....	8,0
Amidon.....	1,0
Chlorure de Sodium.....	18,0

pH : 7,3

Composition de bouillon cœur cerveau

protéase-peptone	10,0 g.
infusion de cerveau de veau	12,5 g.
infusion de cœur de bœuf.....	5,0 g.
glucose	2,0 g.
chlorure de sodium	5,0 g.
hydrogénophosphate de sodium...	2,5 g.

pH = 7,4

Eau physiologique à 0.9%

NACL0.9g

Eau distillé.....1000ml

Annexe 02

Méthode des trois cadrant

Préparation du matériel

- Une boîte de Pétri stérile contenant de la gélose nutritive adaptée ;
- Pipette pasteur stérilisée ;
- Une suspension bactérienne (inoculum) préparée à partir de l'échantillon à analyser.

Ensemencement par quadrants

Premier quadrant

- Flamber l'anse de platine et la laisser refroidir ;
- Prélever une quantité importante de suspension bactérienne avec pipette ;
- Déposer l'inoculum sur le **premier quadrant** de la gélose en stries serrées, couvrant toute la surface du quadrant.

Deuxième quadrant

- Flamber à nouveau l'anse de platine et la laisser refroidir ;
- Sans prélever de nouveau matériel, utiliser la pipette pour strier le **deuxième quadrant** de la gélose en partant du bord du quadrant précédemment ensemencé ;
- Les stries doivent être moins serrées que dans le premier quadrant.

Troisième quadrant

- Flamber une dernière fois l'anse de platine et la laisser refroidir ;
- Encore une fois sans prélever de nouvel inoculum, utiliser la pipette pour strier le **troisième quadrant** de la gélose en partant du bord du deuxième quadrant ;

- Les stries doivent être encore plus espacées que dans le deuxième quadrant.

Annexe 03 :

Composition des distributeurs des antibiotiques.

Distributeur utilisé dans l'antibiogramme :

1. Pénicilline
2. Amoxicilline
3. Cefazoline
4. Cefatoxime
5. Minocycline
6. Gentamycine
7. Fosfomycine
8. Chloramphénicol
9. Erythromycine
10. Clindamycine
11. Pristinamycine
12. Vancomycine
13. Lévofloxacine

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : CHERBAL Amani Malak
BOUKERZAZA Amina

Exploration des bactéries d'origine buccale pour des applications dans la santé et l'agroalimentaire.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Biothérapie

La présente étude visait à isoler, sélectionner et identifier certains des bactéries buccales, notamment, *Streptococcus salivarius*, à partir d'échantillons de, salive, et de crachat, et à évaluer leur réaction vs certains antibiotiques. Les bactéries obtenues ont été cultivées sur des milieux spécifiques pour caractériser leur taille, leur forme et leur mobilité et leur identification a été confirmée par un automate. L'implication croissante des streptocoques dans les infections hospitalières a été soulignée. Les souches de *Lactobacillus sp.* ont, également, été isolées du même écosystème, partiellement caractérisées, suivie, par la recherche de leur aptitude à inhiber la bactérie *Streptococcus salivarius*, considérée comme agent opportuniste. Cette interaction a été étudiée par des tests d'antagonisme, montrant des zones d'inhibition autour de la souche *Streptococcus salivarius*. Ces résultats mettent en lumière l'importance de la recherche des bactéries d'origine buccale développant des propriétés probiotiques comme les lactobacilles. Ces bactéries peuvent servir à la fois pour la sécurité sanitaire et agroalimentaire.

Mots-clefs : Bactéries buccales, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus sp*, antagonisme, sécurité sanitaire, sécurité agroalimentaire.

Laboratoires de recherche : laboratoire de laboratoire de microbiologie du CHU de Constantine.

Président du jury : Dr Milet E (Prof - U Constantine 1 Frère Mentouri).

Encadrant : Pr. Kacem Chaouche N (Prof- U Constantine 1 Frère Mentouri).

Examineur : Dr Benchiheub M (Prof - U Constantine 1 Frères Mentouri).