



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان



Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de BIOLOGIE

MÉMOIRE

Présenté par

Mme. Tinfekhsi Nour El Houda

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Sciences biologiques, Option : Biochimie

Thème

**Contribution à l'étude des levures isolées de la cavité buccale
des enfants sains dans la région de Tlemcen**

Soutenu le 26/06/2023, devant le jury composé de :

Président	Mme Boucherit-Otmani Zahia	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant	M. Seghir Abdelfettah	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme Kazi Tani-Baba Ahmed Zahira Zakia	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

ملخص:

عدوى الخميرة عن طريق الفم مرض شائع عند الأطفال، تحدث على سطح الغشاء المخاطي بعد تكاثر الخمائر من جنس *Candida*، وخاصة *Candida albicans*. يتكاثر هذا الفطر المتعايش الانتهازي عندما تكون الظروف ملائمة له. الهدف من هذه الدراسة هو عزل الفطريات الموجودة في تجويف الفم للأطفال الأصحاء في تلمسان، وتحديد الأنواع الفطرية باستخدام اختبارات مختلفة، وتحديد قدرة السلالات المعزولة على تكوين الأغشية الحيوية. أظهرت النتائج المتحصل عليها أنه من بين 12 عينة تم جمعها، أصيب 33% بالفطريات، خاصة *Candida albicans*. وجود تسوس الأسنان وسوء نظافة الفم من عوامل الخطر المرتبطة بهذه العدوى. أظهرت جميع سلالات *Candida spp* التي تم اختبارها قدرة على تكوين أغشية حيوية. لكن لوحظ تكوين أغشية حيوية أكبر في *C. tropicalis*.

الكلمات الرئيسية: عدوى الخميرة الفموية، *Candida spp*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* ، الأغشية الحيوية

Résumé :

La candidose buccale est une maladie fréquente chez les enfants, se manifestant à la surface de la muqueuse buccale suite à une prolifération de levures du genre *Candida*, en particulier *Candida albicans*. Ce champignon opportuniste saprophyte se développe lorsque les conditions lui sont favorables. L'objectif de cette étude était d'isoler des levures présentes dans la cavité buccale d'enfants en bonne santé à Tlemcen, d'identifier les espèces fongiques à l'aide de divers tests et de déterminer la capacité des souches isolées à former des biofilms.

Les résultats obtenus ont révélé que parmi les 12 échantillons prélevés, 33 % étaient infectés par des levures, principalement *Candida albicans*. La présence de caries dentaires et une mauvaise hygiène bucco-dentaire étaient les facteurs de risque associés à ces infections.

Toutes les souches de *Candida spp* testées ont montré une capacité à former des biofilms. Cependant, une formation de biofilm plus importante a été observée chez *C. tropicalis*.

Mots clés : candidose buccale, *Candida spp*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, Biofilms.

Abstract:

Oral yeast infections is a common disease in children, occurring on the surface of the oral mucosa following a proliferation of yeasts of the genus *Candida*, especially *Candida albicans*. This opportunistic saprophytic fungus develops when conditions are favorable. The objective of this study was to isolate yeast present in the oral cavity of healthy children in Tlemcen, identify fungal species using various tests, and determine the ability of isolated strains to form biofilms.

The results obtained showed that among the 12 samples collected, 33% were infected with yeasts, mainly *Candida albicans*. The presence of dental caries and poor oral hygiene were the risk factors associated with these infections.

All strains of *Candida spp* tested showed an ability to form biofilms. However, more biofilm formation was observed in *C. tropicalis*.

Keywords: Oral yeast, *Candida spp*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, Biofilms.

Table des matières

Première partie : Synthèse bibliographique	2
Deuxième partie : Matériel et méthodes	5
1. Prélèvements.....	5
2. Isolement et purification des souches.....	5
3. Identification des souches.....	5
3.1. Observation microscopique.....	5
3.2. Test de CHROM-Agar™.....	5
3.3. Test de chlamyso-positivité.....	6
3.4. Test de blastèse.....	6
4. Formation et quantification de biofilms fongiques.....	7
4.1. Préparation de l'inoculum.....	7
4.2. Formation du biofilm.....	7
4.3. Mesure de la biomasse.....	7
Troisième partie : Résultats et discussion	9
1. Prélèvements.....	9
2. Identification des souches.....	10
3. Formation de biofilm.....	11
Quatrième partie : Conclusion générale	14
Cinquième partie : Références bibliographiques	16
Sixième partie : Annexes	20

Dédicaces

Je dédie ce travail

A ma mère, ce travail est le fruit de tes efforts, des longues années de sacrifices auxquels tu as Consentis.

J'ai en mémoire la ferme volonté que t'animait de me voir réussir dans mes études.

A mon père qui n'a jamais cessé de me soutenir matériellement et moralement pour que je puisse avoir une bonne formation et surtout être la meilleure et à qui je voudrais exprimer mes affections.

A mon époux avec qui je me sens plus forte et plus confiante chaque jour. Merci de m'avoir changé les idées quand il le fallait, merci de ta patience, de ton encouragement, de ton soutien.

A mon cher frère Zinedine que Dieu vous garde et vous protège.

A toutes ma famille et mes chers collègues.

Nourelhouda

Remerciement

Tout d'abord, nous remercions ALLAH, le tout-puissant, de nous avoir donné le courage la volonté, la patience et qui nous a guidé sur le droit chemin pour terminer ce travail qui représente le fruit de plusieurs années de sacrifices.

La réalisation de ce travail n'aurait pas été possible sans l'aide de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude;

Je tiens à remercier chaleureusement mon encadreur, **Mr. Seghir Abdelfettah**, Maître de conférences classe A, au département de Biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour son encadrement sa disponibilité, sa patience, ses grands efforts et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à réussir ce travail.

Madame Boucherit-Otmani Zahia, Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, Pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance et pour l'ensemble des enseignements et des conseils que vous m'avez donné tout au long de mon cursus universitaire. Soyez assurée de mon profond respect.

Mes sincères remerciements à **Mme Kazi Tani-Baba Ahmed Zahira Zakia**, maître de conférences classe A au département de biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, pour avoir accepté de faire partie de mon jury, pour les enseignements que vous m'avez donné durant mon cursus universitaire, veuillez recevoir tout mon respect et mon estime.

Un grand remerciement à **Melle Lakhel Hafsa**, Doctorante au laboratoire «Antibiotiques Antifongiques: Physico-chimie, synthèse et activité biologique» Université Aboubekr Belkaïd-Tlemcen, pour son aide précieuse et sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Liste des figures

Figure N°1 : Biomasse des biofilms fongiques formés sur Sabouraud liquide par la méthode du crystal violet.....	13
--	----

Liste des tableaux

Tableau N°1 : Aspect macroscopique des *Candida spp* sur *CHROMA-Agar*TM (*Sigma*).....6

Tableau N°2 : La répartition des prélèvements positifs par le sexe, l'âge et par les pathologies Buccodentaire.....11

Tableau N°3 : Identification des souches des *Candida spp* isolées de la cavité buccale.....12

Liste des abréviations

RAT : Rice Agar Tween.....	6
NIH : National Institutes of Health.....	2
RPMI 1640 : Roswell Park Memorial Institute Medium 1640.....	7

Première partie
Synthèse bibliographique

Les micro-organismes sont organisés en communautés structurées et capables de coloniser des surfaces solides. Ces structures représentent le mode de vie normal et majoritaire des micro-organismes, auquel **Costerton et ses collaborateurs (1999)** a donné le nom de "biofilms".

Selon les nouvelles annonces publiques des National Institutes of Health (NIH) plus de 60 % de toutes les infections microbiennes sont associées à la formation de biofilm. Celles-ci comprennent les infections bucco-dentaires (**Lewis, 2001**).

La cavité buccale représente l'un des écosystèmes les plus complexes de l'organisme, à l'intérieur duquel cohabitent une grande variété de micro-organismes tels que les bactéries et les levures. Lorsque l'écosystème est en équilibre, les relations entre les micro-organismes ainsi que leurs interactions avec l'environnement sont stables. Tout déséquilibre favorise le développement de certaines espèces pathogènes au détriment d'autres espèces, ce qui peut être à l'origine des pathologies bucco-dentaires telles que les parodontopathies et les caries dentaires (**Nguyen, 2018**).

Cette dernière reste la pathologie la plus fréquente chez l'enfant, tant dans les pays industrialisés que dans les pays en développement. Cependant, les recherches actuelles montrent que les enfants issus de pays pauvres présentent un risque de caries supérieur. De plus, ils subissent une détérioration de leur qualité de vie due à des problèmes bucco-dentaires et reçoivent des soins dentaires de moindre qualité (**Moreira, 2012**).

La fréquence des caries chez les enfants en bas âge varie de 1% à 12% dans les pays développés, tandis qu'elle peut atteindre jusqu'à 70% dans les pays en voie de développement, selon une étude de (**Milnes, 1996**). Quant à la gingivite, elle est l'une des maladies parodontales les plus courantes chez les jeunes enfants. Selon (**Kowash et coll., 2000**), environ 16% des enfants de 3 ans en sont atteints. Une autre étude menée par **Hugoson et ses collègues (1981)** a révélé une prévalence de gingivite de 35% chez les enfants du même âge.

Les enfants peuvent également être sujets à des infections fongiques, telles que les candidoses buccale (**Drillon et coll., 2011**), qui sont provoquées par des levures appartenant au genre *Candida*. La principale espèce pathogène est *Candida albicans*, responsable de 54,3% des infections fongiques superficielles, bien que les espèces *non-albicans* sont de plus en plus isolées (**Mujica et coll., 2004**).

La multiplication de *Candida albicans*, comme pour la plupart des levures, est favorisée dans des environnements acides contenant une forte concentration de glucides. Ainsi, une

consommation excessive de sucre, ainsi qu'un manque d'hygiène buccodentaire, constituent des facteurs de risque pour le développement de la mycose buccale **(Pacorel, 2015)**.

Les enfants courent un risque accru d'infections buccodentaires en raison de divers facteurs, notamment une hygiène buccodentaire insuffisante, une alimentation excessive en sucres et la prise de certains médicaments **(Harris et coll., 2004)**.

Les infections buccodentaires augmentent considérablement le risque de développer diverses maladies, telles que des affections broncho-pulmonaires, le diabète, des problèmes cardiovasculaires, l'obésité, la polyarthrite rhumatoïde, ainsi que d'autres maladies associées à l'inflammation **{(OMS, avril 2012) et (Brunner, 2021)}**.

L'objectif de cette étude était d'isoler des levures appartenant au genre *Candida* de la cavité buccale des enfants en bonne santé de la région de Tlemcen, ainsi que d'évaluer la capacité des souches à former des biofilms *in vitro*.

Deuxième partie
Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé au laboratoire Antibiotique, Antifongique : physico-chimie, synthèse et activité biologique, de l'Université Aboubekr Belkaïd , Tlemcen.

1. Prélèvements

Les échantillons ont été prélevés sur des enfants en bonne santé du 19 février au 19 avril 2023 en effectuant un écouvillonnage de la surface dentaire et interdentaire pendant la période.

Après le prélèvement, les écouvillons ont été placés dans des tubes stériles secs auxquels 3 ml d'eau physiologique stérile ont été ajoutés. Les tubes ont été agités vigoureusement pendant 2 minutes à l'aide d'un vortex. Ensuite, 100 µL de la solution ont été prélevés et transférés dans des tubes contenant 900 µL de milieu liquide Sabouraud pour la recherche de levures. Les tubes ont ensuite été incubés à une température de 35°C pendant 24 à 48 heures, voire 72 heures.

2. Isolement et purification des souches

Des échantillons présentant un trouble ont été utilisés pour ensemercer des boîtes de Pétri contenant de la gélose Sabouraud, qui permet l'isolement des levures. Les boîtes de Pétri ont étéensemencées par stries, puis incubées à une température de 35°C pendant une période allant de 24 à 48 heures, voire 72 heures. Ensuite, une colonie a été prélevée de la gélose, repiquée dans un milieu liquide stérile, et incubée à 35 °C pendant une période allant de 24 à 48 heures, voire 72 heures. Chaque souche pure a étéensemencée sur une gélose inclinée dans un tube, puis incubée à 35°C pendant 24 heures et conservée à une température de +4 °C.

3. Identification des souches

L'identification des souches isolées a été réalisée par des observations microscopiques et l'utilisation du milieu de culture CHROM-Agar™ *Candida*, ainsi que par des tests de chlamydosporulation et de blastèse.

3.1. Observations microscopiques

Une goutte de la suspension de levures a été observée au microscope optique avec un grossissement x40.

3.2. Identification sur CHROM-Agar™

Le CHROM-Agar Ident® est un milieu sélectif et différentiel utilisé pour isoler rapidement les espèces de *Candida albicans*, *Candida Krusei*, *Candida Tropicalis* et *Candida glabrata* à partir de cultures mixtes, en se basant sur la coloration et la morphologie des colonies (**Tableau N°1**). Des boîtes de Petri préalablement remplies avec le milieu CHROM-Agar Ident® sont ensemencées par stries, puis incubées à 35°C pendant 48 heures.

Tableau N° 1 : Aspect des *Candida spp* sur CHROM-Agar™ (Sigma)

Levures	Couleurs des colonies
<i>Candida albicans</i>	Vert clair
<i>Candida tropicalis</i>	Bleu à violet
<i>Candida glabrata</i>	Pourpre, flou
<i>Candida krusei</i>	Blanc crème

3.3. Test de chlamydosporulation

Une colonie provenant d'une préculture de 24 heures de la souche à analyser est ensemencée par stries sur un milieu RAT (riz, agar, tween 80) incliné en tube. Ensuite, une pique centrale en profondeur est réalisée. Les tubes sont incubés pendant 48 heures à une température de 28°C ± 2°C. Une observation microscopique révélant la présence de la forme levure, avec des pseudomycéliums, des blastopores et des chlamydospores, indique la levure est une *Candida albicans* (**Drouhet et Vieu, 1957**).

3.4. Test de blastèse (Test de germination)

Ce test décrit par (**Taschdjian,1960**) et inspiré des travaux de (**Reynolds et Braune, 1956**), qui ont montré que les constituants du sang favorisent la formation de filaments par certaines levures.

Pour tester une souche, une culture pure de cette dernière est préparée sur milieu Sabouraud. Ensuite, une suspension de la levure est préparée en utilisant 1 ml de sérum humain provenant d'un donneur sain. Cette suspension est ensuite placée dans une étuve à une température de 35°C pendant une période de 3 à 4 heures. Pour observer les résultats, une goutte de cette suspension est prélevée et placée entre une lame et une lamelle, puis observée au microscope à un grossissement de $\times 400$. Cette observation microscopique permettra de vérifier la présence ou l'absence de tubes germinatifs (**Bouchet et coll., 1989**).

4. Formation et quantification de biofilms fongiques

4.1. Préparation de l'inoculum

Les souches de levures isolées de la cavité buccale sont utilisées pour préparer des pré-cultures dans le milieu Sabouraud liquide et incubé à 35°C pendant 24 heures. Après incubation, la suspension est centrifugée à 3000 g pendant 5 minutes à 4°C. Le culot obtenu est lavé deux fois avec du tampon phosphate salé (PBS) à pH 7,4 et une concentration de 10 mM. Ensuite, la concentration de l'inoculum est ajustée à 10^6 cellules/mL dans le milieu RPMI-1640 ou le milieu Sabouraud (**Pierce et coll., 2008**).

4.2. Formation du biofilm

Dans cette étude, 100 μ L de l'inoculum contenant une concentration de 10^6 cellules/mL ont été répartis dans chaque puits d'une microplaque. Ensuite, la microplaque a été scellée et placée dans une étuve à une température constante de 35°C pendant une période de 24 heures.

4.3. Mesure de la biomasse

La technique de coloration au crystal violet mesure la quantité de biomasse à l'intérieur du biofilm (**Christensen et coll., 1985**). Le crystal violet se lie aux molécules extracellulaires chargées négativement, tels que les molécules de la surface cellulaire ou les polysaccharides de la matrice exopolymérique des biofilms (**Li et coll., 2003**). Après la formation de biofilms, le milieu est aspiré et les puits sont lavés 3 fois avec du PBS (pH 7,4 10mM) stérile pour écarter les cellules planctoniques et/ou les cellules non adhérentes.

Pour la fixation du biofilm, 100 μ L de méthanol absolu sont ajoutés aux différents puits de la microplaque. Après une incubation de 15 minutes à température ambiante, les puits sont lavés et 100 μ L d'une solution de crystal violet sont ajoutés. Les microplaques sont laissées pendant 20 minutes à température ambiante. Le crystal violet liées et libéré par l'addition de 150 μ L

d'acide acétique (33%). La densité optique est ensuite lue à 570 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Biochrom Asys UVM340).

Troisième partie
Résultats et discussion

La formation de biofilm est une caractéristique qui accroît la pathogénicité des espèces de *Candida* et offre une protection contre les défenses immunitaires de l'hôte ainsi que les agents antifongiques (Cavalheiro, 2018).

Les espèces de *Candida* sont des pathogènes fongiques reconnus pour causer des infections superficielles et systémiques chez les êtres humains. La candidose buccale est la maladie la plus courante chez les individus, en particulier chez les enfants. Elle est généralement due à la prolifération de *Candida spp*, en particulier *Candida albicans* (Godeau et Guedj, 2005), (Patosa et coll., 2018).

Sur la base de ces données, nous avons entrepris cette étude visant à établir l'épidémiologie des levures du genre *Candida* dans la cavité buccale des enfants en bonne santé de la région de Tlemcen, ainsi qu'à étudier leur capacité à former des biofilms in vitro.

1. Prélèvements

Du 19 février au 19 avril 2023, douze prélèvements ont été effectués sur des enfants en bonne santé, dont sept garçons et cinq filles. La mise en culture des prélèvements sur milieu Sabouraud a révélé que quatre d'entre eux étaient positifs, ce qui correspond à un taux de 33%.

Le tableau N°2 représente la répartition des prélèvements positifs selon le sexe, l'âge et les pathologies buccodentaires.

Tableau N°2 : La répartition des prélèvements positifs en fonction du sexe, de l'âge et des pathologies buccodentaires.

	Sexe	âge	Pathologies buccodentaires
Prélèvement 1	Garçons	12 ans	Carie dentaire
Prélèvement 2	Filles	10 ans	Carie dentaire
Prélèvement 3	Garçons	5 ans	Carie dentaire
Prélèvement 4	Garçons	13 ans	Carie dentaire

Le **tableau N°2** montre que le taux d'altération est plus important chez les garçons (75%) que chez les filles (25%). Ces résultats sont en accord avec ceux de **{(Staar et coll., 2002), (Bakama et coll., 2020) et (Zhang et coll., 2018)}** qui ont montré que l'altération dépend du sexe mais aussi de l'âge.

Dans notre étude, tous les enfants sont affectés par la carie dentaire. Ce taux s'approche de celui de l'étude de **Pierce et de ses collaborateurs (2019)**, qui ont montré que la prévalence de la carie chez les enfants canadiens était de 98 %.

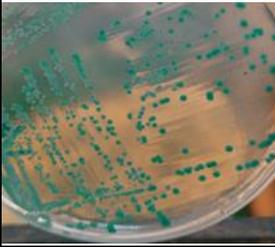
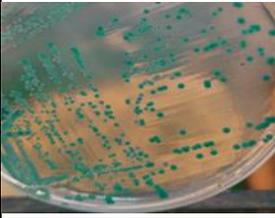
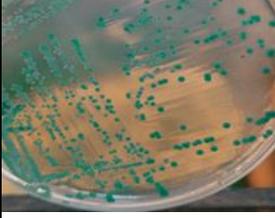
Ce type de prévalence peut s'expliquer par le type d'alimentation et les méthodes d'hygiène orale entre les enfants.

L'alimentation a un impact majeur sur l'état des dents, mais l'hygiène bucco-dentaire est également un facteur important dans la lutte contre la carie dentaire. Une mauvaise hygiène bucco-dentaire entraîne une accumulation de plaque sur toutes les surfaces des dents. Celle-ci affaiblit l'émail des dents et favorise l'apparition de caries (**Armfield, 2010**).

2. Identification des souches

Les souches ont été soumises à plusieurs tests pour les identifier. Les résultats sont regroupés dans le **tableau N°4**

Tableau N°4 : Identification des souches des *Candida spp* isolées de la cavité buccale.

Souches fongiques	Tube germinatif	Chlamydoespores	Couleurs CHROM-Agar™	Espèce	Photo
Souche 1	+	+	Verte	<i>C. albicans</i>	
Souche 2	-	-	Pourpre	<i>C. glabrata</i>	
Souche 3	+	+	Verte	<i>C. albicans</i>	
Souche 4	-	-	Bleue	<i>C. tropicalis</i>	
Souche 5	+	+	Verte	<i>C. albicans</i>	

Les résultats mentionnés dans le tableau ci-dessus ont montré que toutes les levures isolées appartiennent au genre *Candida*, dont trois *Candida albicans*, une *Candida tropicalis* et une *Candida glabrata*. Dans le même sens, les résultats de (Tata et coll., 2019) montre que *Candida albicans* était l'espèce la plus (80,9 %) fréquemment isolée de la langue et de la surface buccale.

3. Formation de biofilm

Les résultats relatifs à la quantification de la biomasse des biofilms formés par les levures de *Candida spp* isolées de la cavité buccale sont représentés sur la **Figure N°1**.

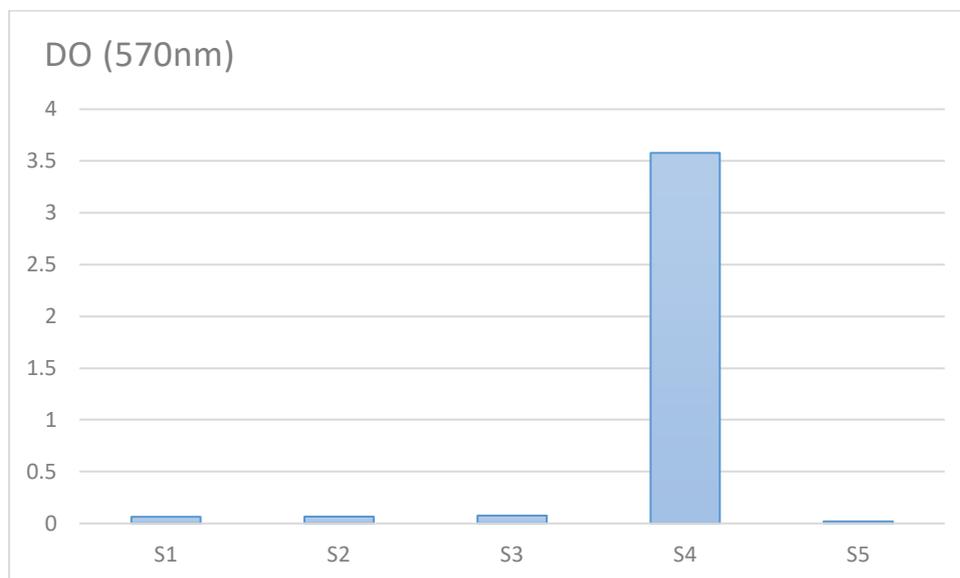


Figure N° 1 : Biomasse des biofilms fongiques formés sur Sabouraud liquide par la méthode du crystal violet.

Après une incubation de 24 heures à 35°C, nous avons observé que les trois souches de *Candida albicans* (S1, S3, S5) ainsi que la souche de *Candida glabrata* (S2) n'ont pas développé des biofilms. En revanche, la souche de *Candida tropicalis* (S4) a formé un biofilm d'une biomasse importante.

En effet, plusieurs études affirment que les souches des espèces *Candida* diffèrent quant à leur capacité à former des biofilms (Li et coll., 2003). De plus, la formation des biofilms par chaque espèce de *Candida* dépend du support utilisé ainsi que de la méthode d'étude (Shin et coll., 2002).

Cependant, une formation accrue de biofilm a été observée chez *C. tropicalis* par rapport aux deux autres espèces. Ces résultats sont en accord avec l'étude de **(Brito et coll., 2023)**.

Une étude réalisée sur *Candida albicans* a montré que cette espèce forme davantage de biofilms lorsque le milieu contient une concentration élevée de sources de carbone. De plus, une forte quantité de galactose favorise la production d'adhésine **(Douglas, 1992)**. Les sucres sont indispensables à la production de la matrice polysaccharidique.

Quatrième partie :
Conclusion et perspectives

Conclusion :

La candidose buccale, provoquée par les levures du genre *Candida*, est la mycose cutanéomuqueuse la plus courante de la cavité buccale. En se basant sur cette constatation, nous avons entrepris une étude dans le but de :

- Prélever des échantillons de la cavité buccale des enfants afin d'isoler les levures de *Candida* et d'identifier ces souches.
- Évaluer *in vitro* la capacité des souches isolées à former des biofilms.

Les résultats obtenus, nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- Parmi les 12 prélèvements effectués, 33 % présentent des altérations causées par des levures.
- Sur les 4 prélèvements altérés par les levures, trois espèces de levures ont été identifiées : *C. albicans*, *C. glabrata* et *C. tropicalis*.
- On a observé une formation accrue de biofilm chez *C. tropicalis* par rapport aux deux autres espèces.
- La carie dentaire est un facteur de risque associé aux cas d'infections

Pour compléter notre étude, nous pourrions explorer les options suivantes :

- Examiner l'utilisation de différents milieux de culture pour évaluer la capacité de formation de biofilms.
- Utiliser des techniques moléculaires telles que la PCR pour identifier les espèces de *Candida*.
- Évaluer la sensibilité des *Candida* aux antifongiques tels que l'amphotéricine B et le fluconazole.

Cinquième partie
Références bibliographiques

1. **Armfield, JM** (2010). Efficacité communautaire de la fluoruration de l'eau publique dans la réduction des maladies dentaires chez les enfants. *Rapports de santé publique*, 125 (5), 655-664.
2. **Agbo-Godeau, S., & Guedj, A.** (2005). Mycoses buccales. *EMC-Stomatologie*, 1(1), 30-41.
3. **Bouchet P., Guignard J.L., Madulo-leblond G. and Regli P.** (1989) *Mycologie générale et médicale*. Ed Masson. Paris; 107-20.
4. **Bakama L; Dilu F., Lelo, P., Kowe N., Bakambana G. and Songo F.** (2020). Manifestations buccales chez les enfants et adolescents infectés par le VIH à Kinshasa (RDC) et facteurs associés.
5. **Brunner, L.** (2021). Interactions santé bucco-dentaire, santé générale chez le sujet âgé (Doctoral dissertation)
6. **Brito, LL, Borges, KRA, Silva, GX, da Silva, MACN, de Nazaré Silva Alves, R., Teles, AM, ... & do Desterro Soares Brandão Nascimento, M.** (2023). Effets d'Euterpe oleracea Mart. extrait sur *Candida spp.* biofilms. *Journal brésilien de microbiologie*, 54 (1), 29-36.
7. **Cavalheiro, M., & Teixeira, MC** (2018). Biofilms de *Candida*: menaces, défis et stratégies prometteuses. *Frontières en médecine*, 5, 28.
8. **Christensen G.D., Simpson W.A., Younger JJ., Baddour L.M., Barrett F.F., Melton D.M., Beachey E.H.** (1985) Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of clinical microbiology*, 22(6), 996-1006.
9. **Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP** (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*; 284 (5418), 1318–1322.
10. **Da Silveira Moreira R** (2012). Epidemiology of dental caries in the world. *Pediatric Research, Epidemiological and Clinical Practice*.
11. **Douglas L.J.** (1992). Mannoprotein adhesins of *Candida albicans* p. 34-50. In J E. Bennett, R. J Hay, and P. K. Peterson (ed.), *New strategies in fungal disease*. Churchill Livingstone, Edinburgh.
12. **DROUHET, E., & VIEU, M.** (1957, June). Vitaminic factors of growth of *Candida*. In *Annales de l'Institut Pasteur* (Vol. 92, No. 6, pp. 825-831).

13. **Harris, R., Nicoll, AD, Adair, PM et Pine, CM** (2004). Facteurs de risque de caries dentaires chez les jeunes enfants : une revue systématique de la littérature. *Santé dentaire communautaire*, 21 (1), 71-85.
14. **HUGOSON A., KOCH G., RYLANDER H** (1981). Prévalence et répartition de la gingivite-parodontite chez l'enfant et l'adolescent. Données épidémiologiques comme base pour la sélection des groupes à risque. *Journal dentaire suédois*, 5(3):91-103.
15. **KOWASH M., PINFIELD A., SMITH J., ET COL** (2000). Efficacité sur la santé bucco-dentaire d'un programme d'éducation à la santé à long terme pour les mères avec de jeunes enfants. *Journal dentaire britannique*, 188(4) 201.
16. **Li, X., Yan, Z., & Xu, J** (2003). Quantitative variation of biofilms among strains in natural populations of *Candida albicans* *Microbiology*, 149(2), 353-362.
17. **Lewis, KIM** (2001). L'énigme de la résistance du biofilm. *Agents antimicrobiens et chimio-thérapie*, 45 (4), 999-1007.
18. **Mujica M.T., Finkelievich J.L, Jewtuchowicz V .and Iovaniiti C.A.** (2004) Prevalence of *Candida albicans* and *Candida non-albicans* in clinical samples during 1999-2001. *Revista Argentina de Microbiologia* 36: 107-112.
19. **MILNES A.R** (1996). Description and Epidemiology of Nursing Caries. *Journal of Public Health Dentistry*; 56(1): 38-50.
20. **Nguyen, D.** (2018). Influence de variation de conditions environnementales sur l'évolution des biofilms oraux. [Thèse doctorat] : microbiologie-immunologie. Bordeaux : université de bordeaux, 173p.
21. **Organisation Mondiale de la Santé.** Santé bucco-dentaire. Aide-mémoire n° 318. Avril 2012.
22. **Pacorel C** (2015) Santé bucco-dentaire du jeune enfant : connaissances et pratiques des professionnels de santé de périnatalité. N°6778.
23. **Pierce C. G., Uppuluri, P., Tristan, A. R., Wormley, Jr., F. L., Mowat, E., Ramage, G., & Lopez-Ribot, J. L.** (2008). A simple and reproducible 96-well plate based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. *Nature protocols* 3(9), 1494.
24. **Pierce, A., Singh, S., Lee, J., Grant, C., Cruz de Jesus, V. et Schroth, RJ** (2019). Le fardeau des caries de la petite enfance chez les enfants canadiens et les facteurs de risque associés. *Frontières en santé publique*, 7 , 328.
25. **Petosa, C., Govin, J., & Mietton, F.** (2018). Champignons pathogènes-Un nouvel espoir de traitement des infections généralisées. *médecine/sciences*, 34(2), 123-125.

26. **Tata, W., Thepbundit, V., Kuansuwan, C. et Preechasuth, K.** (2019). Distribution des espèces de *Candida* chez les patients atteints de candidose buccale : association entre les sites d'isolement, la capacité à former un biofilm et la sensibilité aux médicaments antifongiques. *Tourillon des sciences médicales associées*, 52 (1), 1-7.
27. **REYNOLDS, R. AND BRAUDE, A** (1956). The filament- inducing property of blood for *Candida albicans*: Its nature and significance (abstract). *Clin. Res. Proc.*, 4: 40.
28. **S.Drillon,E.Frouin,V.Letscher-Bru, L.Donato** (2011). *Mycoses de l'enfant*. 4-313-A-10. EMC.
29. **Starr JR, White TC, Leroux BG, Luis HS, Bernardo M, Leitao J, Roberts MC** (2002). Persistence of *Candida albicans* carriage in healthy Portuguese schoolchildren followed for 3years. *Oral Microbiol Immunol*. 17:304-310.
30. **Shin, J. H., Kee, S. J, Shin, M. G., Kim S. H., Shin, D. H., Lee, S. K., ... & Ryang, D. W.** (2002). Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources *Journal of Clinical Microbiology*, 40(4), 1244-1248.
31. **Taschdjian C.L., Burchall J .J. and Kozinn P. J.** (1960) Rapid identification of *Candida albicans* by filamentation on serum and serum substitutes A.M. A. J Dis.
32. **Zhang W, Li Y, Lin J, Abduryim A and Zhao J** (2018). Cariogenicity of *Candida albicans* of distinct genotypes among 3-5-year-old Uygur children in Kashgar, China- a case control study. *BMC Oral Health* 18:203-211.

Sixième partie

Annexes

Annexes N°1: Questionnaire

Fiche technique pour l'enquête des infections bucco-dentaire chez les enfants sains dans la région de Tlemcen

Date de prélèvement :

Age :

Adresse :

Sexe : Fille Garçon

Fréquence de Brossage des dents (jours) :

Heure de prélèvement :

 Irrégulière 1 fois/ jour 2 fois/ jour

Régime alimentaire glucidique :

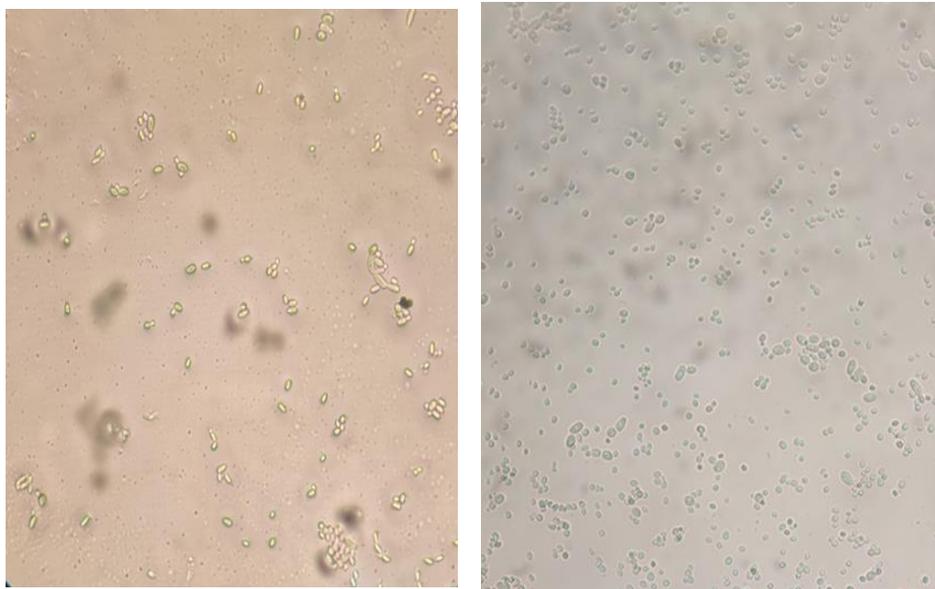
Douleurs des dents : Oui Non

Pathologies buccodentaires :

 Caries dentaires Candidose Autres pathologiesApport d'antibiotiques (dernier mois avant le prélèvement) :
Oui Non

Annexes N°2

Observation microscopique des souches isolées de la cavité buccale



Annexes N°3

(A) Formation de pseudofilaments par *Candida albicans* sur sérum humain, (B) Formation de chlamydospores par *Candida albicans* sur milieu RAT (Riz-Agar-Tween)

