

**UNIVERSITE DE NANTES**

**UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE**

---

Année 2008

N° :47

**LES TESTS BIOLOGIQUES EN  
PARODONTOLOGIE**

---

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement par

**Florian OLANIÉ**

, né le 20 Avril 1982,

le 16 Décembre 2008 devant le jury ci-dessous :

Président : Pr Alain JEAN

Directeur : Dr Gilles AMADOR DEL VALLE

Assesseur : Dr Assem SOUEIDAN

Co-Directeur : Dr Christian VERNER

## LISTE DES PRINCIPALES ABREVIATIONS UTILISEES :

Aa : *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Pg : *Porphyromonas gingivalis*

Tf : *Tannerella forsythia*

Td : *Treponema denticola*

Fn : *Fusobacterium nucleatum*

Pi : *Prevotella intermedia*

Cr : *Campylobacter rectus*

Ec : *Eikenella corrodens*

Pm: *Peptostreptococcus micros*

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

TNF : Tumor Necrosis Factor

MMP : Métalloprotéase matricielle

PCR: Polymerase Chain Reaction

## TABLE DES MATIERES

<b>1 GENERALITES SUR LES MALADIES PARODONTALES .....</b>	<b>8</b>
1.1 MICROBIOLOGIE DES MALADIES PARODONTALES .....	8
1.1.1 RAPPELS DE MICROBIOLOGIE .....	8
1.1.1.1 Classification des bactéries.....	8
1.1.1.2 Espèces bactériennes de la cavité buccale .....	9
1.1.1.3 Critères de pathogénicité .....	11
1.1.2 COMPOSITION DE LA FLORE SOUS-GINGIVALE .....	13
1.1.2.1 Généralités.....	13
1.1.2.1.1 Relation entre état parodontal et flore sous gingivale : .....	15
1.1.2.1.1.1 Composition de la flore des sites sains et des sites malades .....	15
1.1.2.1.1.2 Relation entre paramètres cliniques et flore sous gingivale .....	15
1.1.2.2 Parodonte sain .....	16
1.1.2.3 Gingivites.....	17
1.1.2.4 Parodontites .....	18
1.1.3 CONCEPT DE SPECIFICITE BACTERIENNE .....	18
1.1.4 MECANISMES DE PATHOGENICITE DES BACTERIES .....	19
1.1.4.1 Colonisation bactérienne .....	19
1.1.4.2 Destruction tissulaire.....	20
1.1.4.3 Neutralisation des défenses immunitaires.....	21
1.2 CLASSIFICATION DES MALADIES PARODONTALES.....	22
1.2.1 LES GINGIVITES INDUITES PAR LA PLAQUE .....	25
1.2.1.1 Définition .....	25
1.2.1.2 Clinique.....	25
1.2.1.3 Microbiologie .....	26
1.2.2 LES PARODONTITES.....	27
1.2.2.1 LES PARODONTITES CHRONIQUES.....	27
1.2.2.1.1 Définition .....	27
1.2.2.1.2 Clinique.....	27
1.2.2.1.3 Microbiologie .....	28
1.2.2.2 LES PARODONTITES AGRESSIVES .....	30
1.2.2.2.1 Définition .....	30
1.2.2.2.2 Clinique.....	30
1.2.2.2.3 Microbiologie .....	32
1.2.2.3 LES PARODONTITES ASSOCIEES A DES MALADIES SYSTEMIQUES .....	33
1.2.3 MALADIES PARODONTALES NECROTIQUES .....	34
1.2.3.1 La gingivite ulcéro-nécrotique .....	34
1.2.3.2 La parodontite ulcéro-nécrotique .....	34
1.3 ACTIVITE DE LA MALADIE ET NOTION DE RISQUE PARODONTAL.....	35
1.3.1 Activité de la maladie.....	35
1.3.2 Le risque parodontal.....	36
1.4 EFFETS DES THERAPEUTIQUES PARODONTALES SUR LA FLORE SOUS GINGIVALE.....	38
1.4.1 Elimination de la plaque supra gingivale.....	38
1.4.2 Détartrage et surfaçage radiculaire.....	38
1.4.3 Traitement chirurgical.....	39
1.4.4 Utilisation des antibiotiques .....	39
<b>2 LES TESTS BIOLOGIQUES EN PARODONTOLOGIE.....</b>	<b>40</b>
2.1 INTRODUCTION.....	40
2.1.1 Définitions.....	40

2.1.1.1	Gold Standard.....	40
2.1.1.2	Sensibilité et Spécificité.....	40
2.1.1.2.1	Sensibilité.....	41
2.1.1.2.2	Spécificité.....	41
2.1.1.3	Valeur prédictive du test.....	42
2.1.1.4	Test idéal.....	43
2.1.2	Techniques de prélèvement.....	43
2.1.2.1	Prélèvement de la flore sous gingivale.....	43
2.1.2.1.1	Choix du site.....	43
2.1.2.1.2	Techniques de prélèvement.....	44
2.1.2.1.2.1	Prélèvement à la curette.....	44
2.1.2.1.2.2	Prélèvement par pointe de papier.....	44
2.1.2.1.2.3	Discussion.....	45
2.1.2.2	Prélèvement du fluide gingival.....	46
2.1.2.2.1	Rappel.....	46
2.1.2.2.2	Techniques de prélèvement.....	46
2.1.2.2.2.1	Description des techniques.....	47
2.1.2.2.2.1.1	Prélèvement par pointe de papier.....	47
2.1.2.2.2.1.2	Prélèvement par micro seringue d'Hamilton.....	47
2.1.2.2.2.1.3	Prélèvement par capillaire.....	47
2.1.2.2.3	Résultats.....	48
2.2	LES TESTS BACTERIENS.....	49
2.2.1	LES CULTURES BACTERIENNES.....	49
2.2.1.1	Principe.....	49
2.2.1.1.1	Isolement des bactéries.....	50
2.2.1.1.2	Transport.....	50
2.2.1.1.3	Identification des bactéries.....	50
2.2.1.1.4	Antibiogramme.....	54
2.2.1.2	Intérêts cliniques.....	56
2.2.1.3	Limites.....	58
2.2.2	LES TESTS IMMUNOLOGIQUES.....	61
2.2.2.1	Principe.....	61
2.2.2.1.1	Microscopie à immuno-fluorescence.....	62
2.2.2.1.2	Immunoabsorption enzymatique, ELISA.....	62
2.2.2.1.2.1	Principe.....	62
2.2.2.1.2.2	Présentation du kit EVALUSITE.....	63
2.2.2.2	Avantages.....	64
2.2.2.3	Inconvénients.....	65
2.2.3	LES TESTS BASES SUR L'ANALYSE DES ACIDES NUCLEIQUES.....	67
2.2.3.1	Les sondes nucléotidiques.....	67
2.2.3.1.1	Technique.....	67
2.2.3.1.1.1	Principe général.....	67
2.2.3.1.1.2	Méthode.....	68
2.2.3.1.1.2.1	Obtention d'une sonde.....	68
2.2.3.1.1.2.2	Hybridation.....	70
2.2.3.1.1.2.3	Marquage des sondes.....	70
2.2.3.1.2	Kits commerciaux.....	71
2.2.3.1.3	Intérêts.....	74
2.2.3.1.4	Limites.....	76
2.2.3.2	L'amplification en chaîne par la polymérase (PCR).....	77
2.2.3.2.1	Technique.....	77
2.2.3.2.1.1	Principe.....	77
2.2.3.2.1.2	Protocole.....	78
2.2.3.2.2	La PCR en temps réel (PCR RT).....	80
2.2.3.2.3	Kits utilisant la PCR en temps réel.....	81
2.2.3.2.4	Intérêts.....	84
2.2.3.2.5	Limites.....	85
2.2.4	LES TESTS ENZYMATIQUES.....	87
2.2.4.1	Principe.....	87
2.2.4.1.1	Technique.....	87
2.2.4.1.2	Intérêts.....	89
2.2.4.1.3	Limites.....	89

2.2.5 LA MICROSCOPIE A FOND NOIR, A CONTRASTE DE PHASE .....	90
2.2.5.1 Technique.....	90
2.2.5.1.1 Matériel.....	90
2.2.5.1.2 Analyse.....	91
2.2.5.1.3 Interprétation des résultats.....	92
2.2.5.2 Intérêts .....	93
2.2.5.3 Limites .....	93
2.3 L' EVALUATION DES REPONSES DE L'HÔTE.....	96
2.3.1 Généralités sur le fluide gingival .....	97
2.3.2 Marqueurs de l'inflammation gingivale.....	98
2.3.2.1 Interleukines .....	98
2.3.2.2 TNF- $\alpha$ .....	99
2.3.2.3 Prostaglandine E2 .....	99
2.3.3 Enzymes dégradant les structures tissulaires .....	99
2.3.3.1 Collagénase .....	100
2.3.3.2 Élastase .....	100
2.3.4 Produits du catabolisme tissulaire.....	101
2.3.4.1 Peptides et acides aminés .....	101
2.3.4.2 Glycosaminoglycannes.....	101
2.3.5 Enzymes cytoplasmiques issues de lyse cellulaire.....	101
2.3.5.1 Lacticodéshydrogénase .....	102
2.3.5.2 Aspartate aminotransférase.....	102
2.3.6 La température sous gingivale.....	102
2.4 TEST GENETIQUE ET APPRECIATION DU RISQUE A L INFLAMMATION PARODONTALE .....	104
2.4.1 Polymorphisme du gène IL-1 .....	104
2.4.2 Présentation du test .....	106
2.4.3 Intérêts cliniques.....	107
2.4.4 Limites .....	109
<b>3 PLACE DES TESTS BIOLOGIQUES DANS LE TRAITEMENT PARODONTAL.....</b>	<b>110</b>
3.1 DEPISTAGE DES SUJETS A RISQUE .....	110
3.1.1 Généralités.....	110
3.1.2 Entretien clinique.....	111
3.1.3 Examens biologiques .....	112
3.1.3.1 Risque parodontal faible.....	112
3.1.3.2 Risque parodontal élevé .....	113
3.1.3.2.1 Flore compatible avec la santé parodontale.....	113
3.1.3.2.2 Flore incompatible avec la santé parodontale.....	113
3.2 STADE DIAGNOSTIC ET THERAPEUTIQUE .....	114
3.2.1 Diagnostic .....	114
3.2.1.1 Caractérisation du type de maladie.....	115
3.2.1.2 Evaluation de l'activité de la maladie.....	116
3.2.2 Thérapeutique.....	116
3.2.2.1 Généralités.....	116
3.2.2.2 Protocole thérapeutique.....	117
3.2.2.3 Antibiothérapie .....	119
3.2.2.3.1 Généralités.....	119
3.2.2.3.2 Molécules .....	119
3.2.2.3.2.1 Les $\beta$ -lactamines .....	119
3.2.2.3.2.2 Les macrolides .....	120
3.2.2.3.2.3 Les macrolides apparentés .....	120
3.2.2.3.2.4 Les imidazoles .....	120
3.2.2.3.2.5 Les tétracyclines.....	120
3.2.2.3.3 Indications .....	121
3.2.2.3.4 Intérêts et limites.....	122
3.3 STADE DE REEVALUATION .....	123
3.3.1 Généralités.....	123
3.3.2 Modalités.....	123
3.3.2.1 Examen clinique .....	123

3.3.2.2 Sondage.....	124
3.3.2.3 Examen radiographique.....	124
3.3.2.4 Tests biologiques .....	124
<b>3.4 STADE DE MAINTENANCE.....</b>	<b>125</b>
3.4.1 Généralités.....	125
3.4.2 Diagnostic des récidives .....	126
3.4.2.1 Examen clinique .....	126
3.4.2.2 Sondage.....	126
3.4.2.3 Examen radiographique.....	127
3.4.2.4 Tests biologiques .....	127

# INTRODUCTION

Les maladies parodontales sont des maladies infectieuses à composante inflammatoire associées à l'existence de complexes bactériens spécifiques au sein de la flore microbienne sous gingivale. A cette composante bactérienne s'ajoutent une modification des défenses de l'hôte infecté ainsi qu'une composante génétique.

Les concepts sur l'étiologie et la pathogénie des atteintes parodontales ont considérablement évolué au cours des vingt dernières années. Il semble aujourd'hui indispensable de diagnostiquer la maladie de façon précoce et précise, afin d'instaurer une thérapeutique adaptée, en particulier pour les formes les plus agressives de maladies parodontales. Comme pour les autres maladies infectieuses, il faut pouvoir déterminer : la nature des agents infectieux en cause, le niveau d'activité de la maladie ainsi que le degré de risque pour un individu de développer une maladie parodontale.

L'évolution de ces concepts a conduit cliniciens et chercheurs à s'orienter vers de nouveaux moyens de diagnostic des maladies parodontales. Plusieurs tests peuvent être mis en œuvre pour répondre à ces objectifs. Certains sont déjà disponibles, d'autres restent du domaine de la recherche. Ces tests sont classés en trois catégories :

- Les tests microbiologiques : ils permettent l'identification des pathogènes parodontaux et comprennent les cultures bactériennes, les tests immunologiques, les tests enzymatiques, les sondes à acides nucléiques et la microscopie optique.
- Les tests basés sur la réponse de l'hôte : ils reposent sur des dosages biochimiques des constituants du fluide gingival. On mesure ainsi les taux d'enzymes libérés à la suite d'agression bactérienne et les taux de médiateurs de l'inflammation dont les concentrations augmentent lors de l'activité de la maladie.
- Les tests génétiques : ils mesurent la susceptibilité d'un individu à la maladie parodontale. Ils sont basés sur l'existence d'un polymorphisme génétique en rapport avec la différence de réponse entre les individus face à l'agression bactérienne.

# **1 GENERALITES SUR LES MALADIES PARODONTALES**

## **1.1 MICROBIOLOGIE DES MALADIES PARODONTALES**

Sous le terme de maladies parodontales sont regroupées des états inflammatoires d'origine infectieuse localisés au niveau du parodonte. On définit deux types de maladies parodontales d'origine infectieuse :

- les gingivites : localisées à la gencive, réversibles
- les parodontites : caractérisées par une destruction de l'appareil d'attache des dents (desmodonte et os alvéolaire), irréversibles.

Les parodontites regroupent différentes entités cliniques et sont caractérisées par un degré d'atteinte, un taux de progression, une localisation et une flore gingivale spécifiques.

Depuis 1965 et l'étude de LOE et coll., la plaque bactérienne est unanimement reconnue comme le facteur étiologique de la maladie parodontale. Les bactéries initient en effet les mécanismes de destruction des tissus parodontaux, des facteurs génétiques et/ou environnementaux (tabac, stress...) pouvant également l'influencer.

### **1.1.1 RAPPELS DE MICROBIOLOGIE**

#### **1.1.1.1 Classification des bactéries**

Les bactéries sont des micro-organismes procaryotes unicellulaires ayant des parois rigides se multipliant par division binaire (FERRON, 1994). Elles peuvent être classées selon :

- la coloration de Gram : c'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne. Les bactéries à Gram positif apparaîtront mauves alors que celles à Gram négatif apparaîtront roses.
- la morphologie : la forme est extrêmement diverse au sein du monde bactérien. On distingue principalement des formes sphériques (cocci), cylindriques (bacille), spiralées (spirille), enroulées (spirochète) et en fuseaux (fusiformes).



- le mode respiratoire : on peut classer les bactéries en trois catégories principales :
  - aérobie stricte : besoin strict d'oxygène
  - anaérobie stricte : ne se développe pas en présence d'oxygène
  - aérobie facultative : se développe aussi bien en présence ou en l'absence d'oxygène.

Sont rassemblées dans la même espèce les bactéries qui ont le plus d'affinité génétique, c'est-à-dire les souches qui sont supposées descendre d'un ancêtre commun. Les espèces qui ont en commun un certain nombre de caractères sont rangées dans un même genre, les genres communs dans une même famille, les familles comparables dans un même ordre.

Toutes les bactéries sont désignées par deux noms latins : le nom du genre, suivi du nom de l'espèce, par exemple : *Porphyromonas gingivalis*.

### **1.1.1.2 Espèces bactériennes de la cavité buccale**

De par sa situation anatomique et son rôle physiologique, la cavité oro-pharyngée est l'un des sites les plus septiques du corps humain : elle contient une flore riche et variée.

Le milieu buccal est caractérisé par son extraordinaire complexité : on considère que plus de 300 espèces bactériennes peuvent être répertoriées, en plus des nombreux virus et champignons (tableau 1). Le tout constitue de multiples niches écologiques variables en quantité et en composition suivant leur localisation (muqueuse, langue, dents, plaque supra et sous gingivale). Elles sont toutes en étroite relation avec le système de défense de l'individu (MASSON, 1994).

La diversité bactérienne requiert, pour vivre et se développer dans ce milieu, des surfaces d'adhésion favorables, des conditions nutritives et respiratoires riches et variées, des facteurs physico-chimiques compatibles et des facteurs inhibiteurs maîtrisables. La complexité de l'écosystème sous-entend l'existence d'une organisation structurale rigoureuse des bactéries (formation de la plaque dentaire) et d'interactions nutritionnelles (ANAES, 2002).

A l'intérieur de ce vaste système, certaines espèces bactériennes commensales et pathogènes ont tendance à se regrouper au niveau des sites les plus favorables à leur croissance, en fonction :

- de leurs exigences métaboliques et respiratoires, donc de leur mode et de leurs conditions de croissance

- de leurs possibilités d'adhérence spécifique (entre bactéries, ou sur un support muqueux ou minéralisé)
- de leurs besoins réciproques réalisant de véritables symbioses

Genre	Espèce
<b>Bactéries anaérobies strictes</b>	
<b>Bâtonnets à Gram-négatif</b>	
<i>Porphyromonas</i>	<i>P. gingivalis</i> , <i>P. endodontalis</i> , <i>P. catoniae</i>
<i>Prevotella</i>	<i>P. oralis</i> , <i>P. oris</i> , <i>P. buccae</i> , <i>P. corporis</i> , <i>P. denticola</i> , <i>P. loescheii</i> , <i>P. intermedia</i> , <i>P. nigrescens</i> , <i>P. melaninogenica</i> ,
<i>Fusobacterium</i>	<i>F. nucleatum</i> spp. <i>nucleatum</i> , spp. <i>vincentii</i> , spp. <i>polymorphum</i>
<i>Mitsuokella</i>	<i>M. dentalis</i>
<i>Selenomonas</i>	<i>S. sputigena</i>
<i>Campylobacter</i>	<i>C. sputorum</i> , <i>C. rectus</i> , <i>C. curvus</i>
<i>Treponema</i>	<i>T. denticola</i> , <i>T. vincentii</i> , <i>T. socranskii</i>
<i>Bacteroides</i>	<i>B. forsythus</i>
<b>Bâtonnets à Gram-positif</b>	
<i>Eubacterium</i>	<i>E. alactolyticum</i> , <i>E. lentum</i> , <i>E. yurii</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>P. acnes</i> , <i>P. propionicum</i> , <i>P. jensenii</i> , <i>P. granulosum</i> , <i>P. avidum</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. catenaforme</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. oris</i> , <i>L. uli</i> , <i>L. grasseri</i>
<i>Actinomyces</i>	<i>A. israelii</i> , <i>A. odontolyticus</i> , <i>A. meyeri</i>
<i>Arachnia</i>	<i>A. propionica</i>
<b>Coques à Gram-négatif</b>	
<i>Veillonella</i>	<i>V. parvula</i> , <i>V. alcalescens</i>
<b>Coques à Gram-positif</b>	
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. asaccharolyticus</i> , <i>P. magnus</i> , <i>P. micros</i> , <i>P. anaerobius</i> <i>P. prevotii</i>
<b>Bactéries anaérobies facultatives</b>	
<b>Bâtonnets à Gram-négatif</b>	
<i>Eikenella</i>	<i>E. corrodens</i>
<i>Capnocytophaga</i>	<i>C. ochracea</i> , <i>C. sputigena</i> , <i>C. gingivalis</i>
<i>Actinobacillus</i>	<i>A. actinomycetemcomitans</i>
<i>Haemophilus</i>	<i>H. aphrophilus</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>H. parainfluenzae</i> , <i>H. paraphrophilus</i> , <i>H. segnis</i>
<b>Bâtonnets à Gram-positif</b>	
<i>Corynebacterium</i>	<i>C. xerosis</i> , <i>C. matruchotii</i>
<i>Actinomyces</i>	<i>A. naeslundii</i> , <i>A. viscosus</i>
<i>Rothia</i>	<i>R. dentocariosa</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. buchneri</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>L. fermentum</i>
<b>Coques à Gram-négatif</b>	
<i>Neisseria</i>	<i>N. flavescens</i> , <i>N. mucosa</i> , <i>N. sicca</i> , <i>N. subflava</i>
<i>Branhamella</i>	<i>B. catarrhalis</i>
<b>Coques à Gram-positif</b>	
<i>Streptococcus</i>	<i>S. mutans</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. sobrinus</i> , <i>S. rattus</i> , <i>S. downei</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. milleri</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. intermedius</i>
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i>

**Tableau 1. Bactéries fréquemment isolées dans la cavité buccale (d'après MOUTON et ROBERT, 1999).**

### 1.1.1.3 Critères de pathogénicité

Parmi ce réservoir bactérien très vaste, les critères généralement admis pour définir la pathogénicité des germes sont les suivants :

- association de la présence de ces micro-organismes dans les sites parodontaux actifs, de leur absence dans les sites inactifs des différentes formes de maladie parodontale et de leur absence dans les sites sains
- réponse immunitaire de l'organisme se traduisant habituellement par une augmentation des anticorps dans le sérum, la salive ou le fluide gingival
- démonstration in vitro de la virulence sur des bases histo-pathologiques
- amélioration clinique de l'état de santé parodontale après élimination des bactéries au sein de la lésion
- démonstration de la pathogénicité sur modèle animal.

Les postulats de KOCH émis pour définir les critères de pathogénicité des maladies infectieuses ont été révisés pour satisfaire au particularisme des infections parodontales (tableau 2, SOCRANSKY et HAFFAJEE, 1992).

Postulat n°1 : ASSOCIATION
Les agents étiologiques les plus probables sont les bactéries retrouvées en grande quantité dans une majorité des sites atteints, et absentes ou présentes en faible quantité dans les sites sains.
Postulat n°2 : ELIMINATION
L'éradication de l'agent étiologique suspecté s'accompagne d'une rémission des signes cliniques.
Postulat n°3 : PATHOGENECITE CHEZ L'ANIMAL
L'agent étiologique suspecté doit pouvoir recréer la lésion sur modèle animal.
Postulat n°4 : REPOSE IMMUNITAIRE
La réponse cellulaire ou humorale de l'hôte à l'agent étiologique doit être augmentée ou diminuée.
Postulat n°5 : EXPRESSION DE FACTEURS DE VIRULENCE
L'agent étiologique suspecté doit posséder une capacité à détruire les tissus.

Tableau 2. Postulats de Koch révisés par SOCRANSKY et HAFFAJEE (1992).

Les bactéries pathogènes ainsi identifiées peuvent être distinguées entre :

- bactéries pathogènes spécifiques : elles provoquent dans un organisme des lésions entraînant un processus apparent ou inapparent ; ces bactéries entraînent une maladie spécifique
- bactéries pathogènes opportunistes : elles ne provoquent pas habituellement une maladie ; ce type fait généralement partie des flores commensales de l'individu concerné ; elles peuvent avoir un pouvoir pathogène qui ne deviendra évident qu'en cas de modification du terrain ou de déficience de l'hôte.

A côté de ces bactéries pathogènes, existent des bactéries saprophytes et commensales de la cavité buccale. Les bactéries saprophytes se développent aux dépens de déchets organiques ; leur vie et leur multiplication sont totalement indépendantes des organismes humains et animaux.

Les bactéries commensales ne peuvent vivre qu'au contact des cellules humaines et animales auxquelles elles sont accolées en utilisant les déchets rejetés par ces cellules :

- soit la bactérie et son hôte ne tirent aucun bénéfice de cette alliance
- soit l'un des deux ou les deux peuvent en tirer un certain avantage : c'est la symbiose. Un des aspects de cette symbiose est celui de l'équilibre des flores où les bactéries peuvent s'entraider dans leur croissance, ou inversement, contribuer à des équilibres de régulation (FERRON, 1984).

" Les maladies parodontales sont le plus souvent des maladies infectieuses se développant selon la nature et la quantité de bactéries présentes, en fonction de la capacité du patient à se défendre " (VERNER, 2007). La figure 1 montre les différents types d'infections parodontales possibles, en fonction de l'origine des pathogènes.

Certaines bactéries gingivales (Aa et Pg) peuvent être présentes dans un parodonte sain et sont capables de provoquer des réactions antigènes-anticorps chez des sujets infectés. Ces dernières sont considérées comme responsables d'infections vraies. En revanche, les infections parodontales par des micro-organismes endogènes sont appelées infections endogènes (VAN WINKELHOFF et WINKEL, 2005).

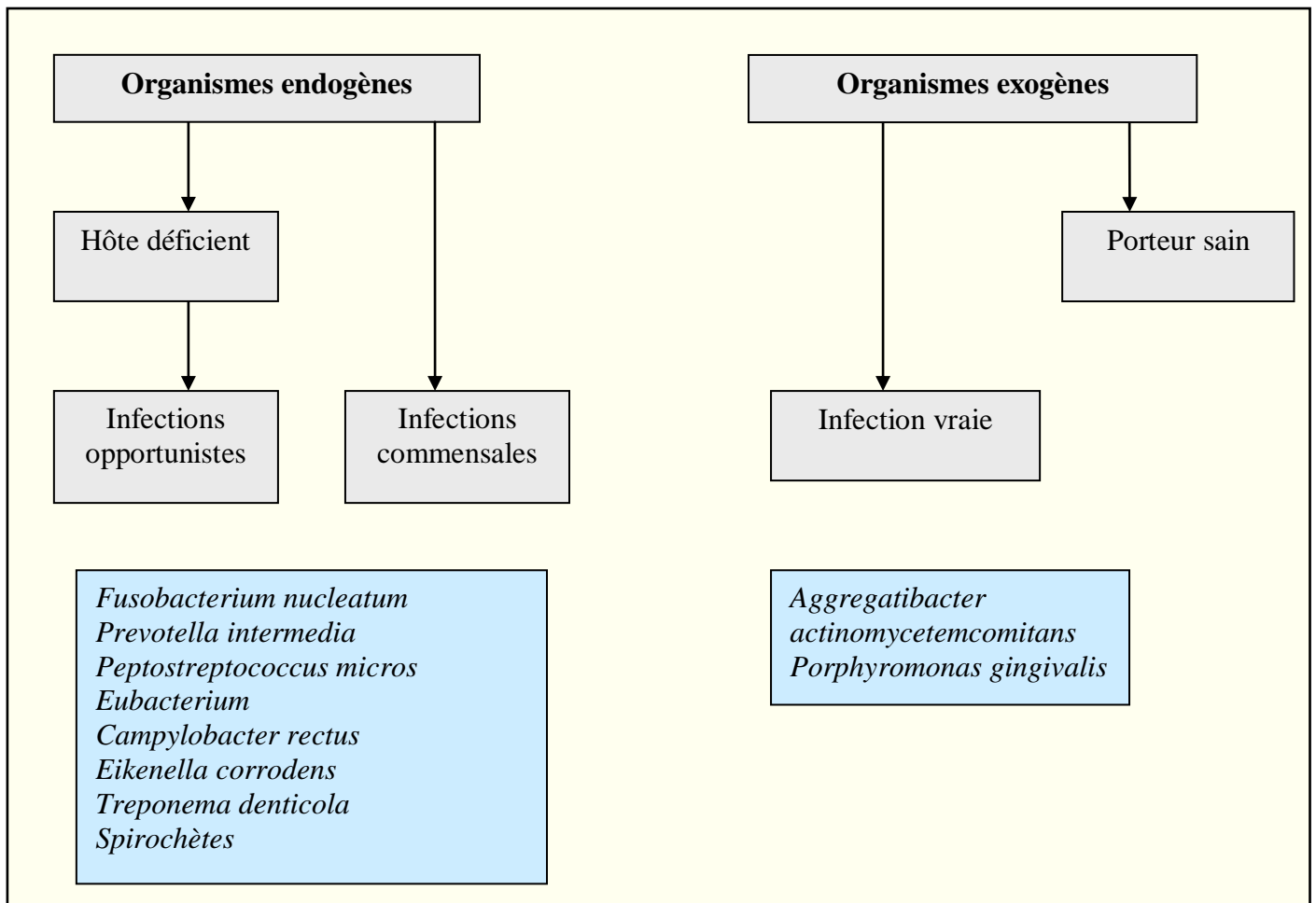


Figure 1. Les différents types d'infections parodontales (d'après VAN WINKELHOFF et WINKEL, 2005).

## 1.1.2 COMPOSITION DE LA FLORE SOUS-GINGIVALE

### 1.1.2.1 Généralités

Il est reconnu depuis maintenant plusieurs années que les différentes espèces bactériennes s'organisent sous forme de complexes au niveau de la plaque sous gingivale (figure 2, SOCRANSKY, 1998). Cinq complexes ont ainsi été décrits :

- le complexe rouge : *Tannerella forsythia*  
*Porphyromonas gingivalis*  
*Treponema denticola*
- le complexe orange : *Fusobacterium nucleatum*  
*Prevotella intermedia*  
*Prevotella nigrescens*  
*Peptostreptococcus micros*

Associées au complexe : *Eubacterium nucleatum*

*Campylobacter rectus*

- le complexe jaune : *Streptococcus sanguis*  
*S. oralis*  
*S. mitis*  
*S. intermedius*
- le complexe vert : *Eikenella corrodens*  
*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* anciennement *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (NORSKOV-LAURITSEN et KILIAN, 2006 )  
*Capnocytophaga*
- le complexe bleu : *Actinomyces sp.*
- le complexe violet : *Veillonella parvula*, *A.odontolyticus*

Les complexes rouge et jaune représentent les facteurs étiologiques bactériens de la plupart des maladies parodontales. Les autres groupes représentent les espèces qui vont adhérer initialement à la surface radiculaire, se multiplier, puis modifier l'environnement et permettre la colonisation secondaire et la coaggrégation des bactéries des complexes rouge et orange.

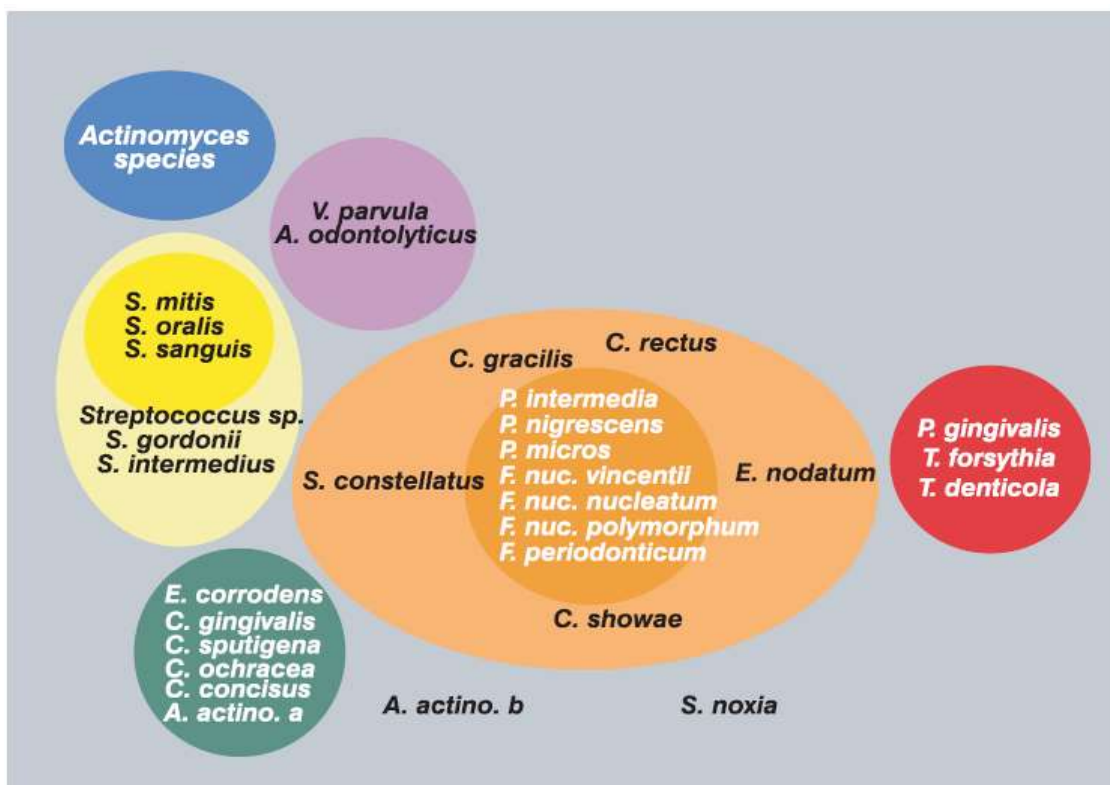


Figure 2. Représentation schématisque des rapports des espèces dans les complexes microbiens et entre les complexes microbiens (d'après Socransky et Haffajee, 2005)

### 1.1.2.1.1 Relation entre état parodontal et flore sous gingivale :

#### 1.1.2.1.1.1 Composition de la flore des sites sains et des sites malades

Depuis plus d'un siècle, toutes les générations de biologistes sont arrivées à la conclusion suivante : la composition de la flore sous gingivale des sujets présentant un parodonte sain diffère de celle des sujets présentant une parodontopathie.

En général la quantité de bactéries est plus importante chez les sujets avec parodontite que chez les sujets exempts de maladie. Les plus grandes différences se situent au niveau des espèces des complexes rouge et orange ; en effet, le nombre de bactéries appartenant à ces deux complexes est significativement plus élevé chez les individus avec parodontite (SOCRANSKY, 2005).

#### 1.1.2.1.1.2 Relation entre paramètres cliniques et flore sous gingivale

La relation entre certains paramètres cliniques et la composition de la flore bactérienne est démontrée depuis plusieurs années. Deux facteurs déterminants sont à prendre en compte : l'inflammation des tissus parodontaux et la profondeur des poches parodontales.

Les données indiquent que pour la majorité des espèces bactériennes il n'y a pas de relation entre leur nombre et la profondeur de poche. En revanche, on observe que la plupart des bactéries du complexe orange et toutes celles du complexe rouge sont associées à une augmentation significative de la profondeur de poche (figure 3).

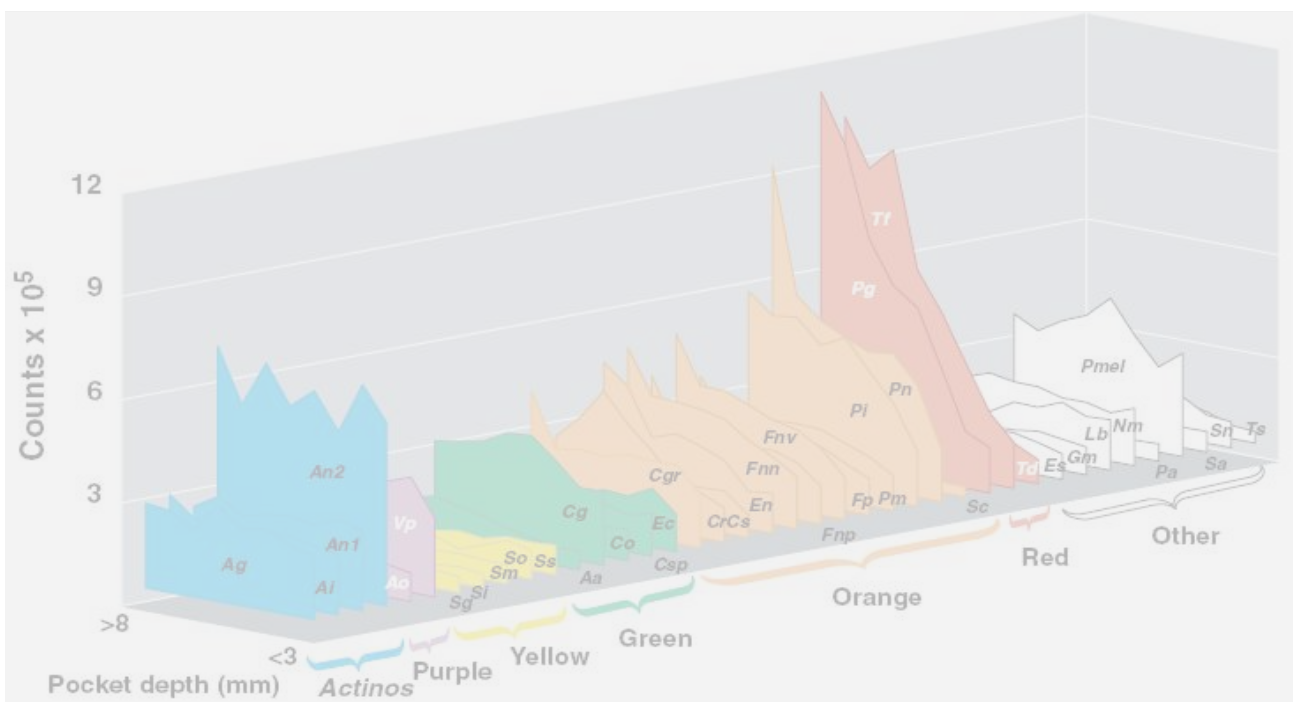


Figure 3. Relation entre profondeur de poche d'un site donné et le nombre de bactéries spécifiques (Socransky 2005).

Il est probable que des facteurs locaux soient à l'origine d'une diminution des bactéries de la surface dentaire et d'une prolifération des bactéries adhérentes aux surfaces épithéliales. Par exemple, la baisse de la quantité de sucres fermentescibles limite la croissance de bactéries liées aux dents tandis que la relative abondance de sources d'énergie comme l'hydrogène et les produits de la dégradation des protéines favorise les espèces des complexes rouge et orange.

Des relations ont également été établies entre la composition de la flore bactérienne et le degré d'inflammation. Le nombre de bactéries des complexes rouge et orange est élevé au niveau des sites présentant un indice de saignement positif (figure 4).

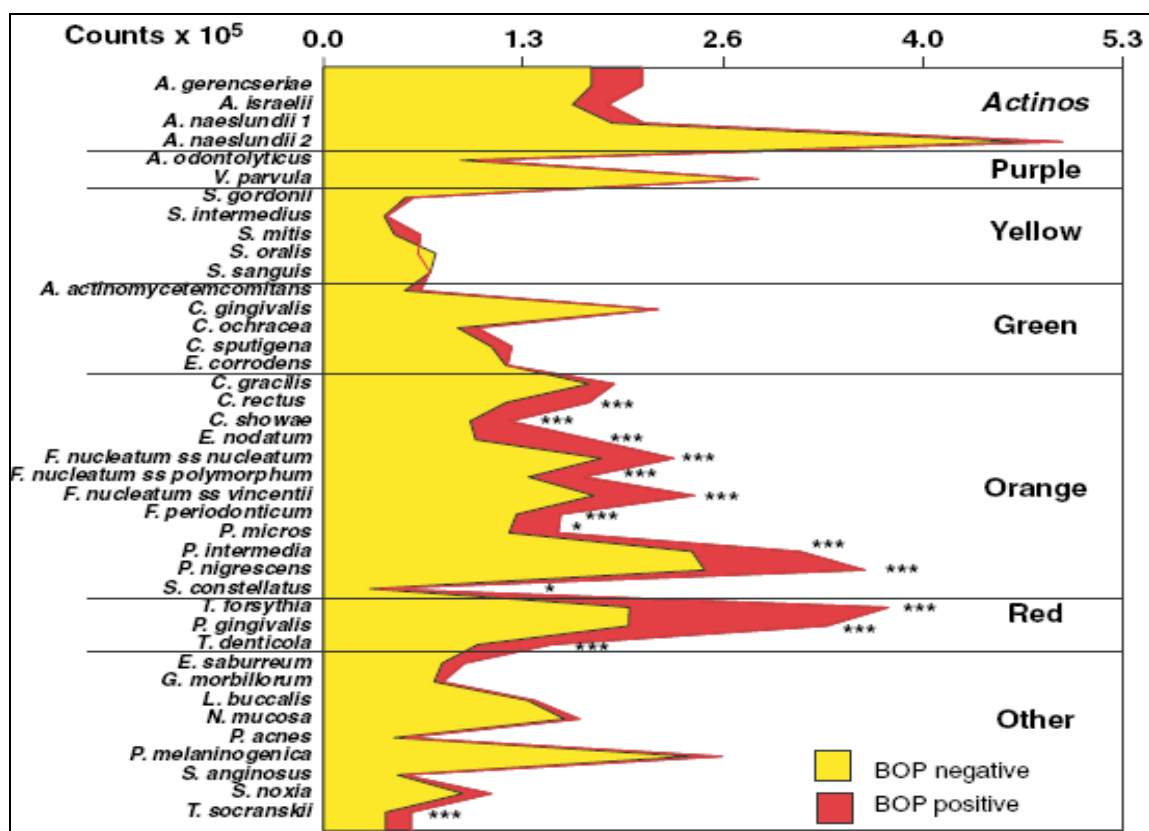


Figure 4. Relations entre saignement au sondage et complexes bactériens chez des sujets atteints de parodontite. (Socransky 2005)

### 1.1.2.2 Parodontite sain

La santé parodontale peut être définie comme un état stable dans le temps de chacun des quatre tissus parodontaux suivants : gencive, os alvéolaire, cément, ligament parodontal. On trouve dans les sites sains ou assainis des germes provenant du milieu buccal et de la plaque dentaire.



La composition de la flore microbienne associée à la santé parodontale varie cependant en fonction de l'âge et des antécédents de maladie parodontale :

- chez les sujets jeunes, la charge bactérienne est relativement faible ; la flore est principalement composée de gram positifs, streptocoques, actinomyces et seulement environ 15% de gram négatifs .
- chez les sujets âgés sans antécédents de maladie parodontale autre que la gingivite, on constate que le pourcentage de gram - peut monter jusqu'à 45% : on retrouve *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*.
- chez les patients présentant des antécédents de maladie parodontale, on trouve au niveau des sites assainis une flore bactérienne semblable, avec 15% de gram négatif.

La probabilité de présenter au niveau de sites sains des bactéries gram négatif augmente avec l'âge et les antécédents de maladie parodontale ; il est probable que la présence de ces bactéries pathogènes majore le risque d'apparition ou de résurgence de la maladie (DARVEAU, 1997).

### 1.1.2.3 Gingivites

Les facteurs à l'origine de la transition de la santé parodontale à la gingivite sont une combinaison d'exposition bactérienne, de colonisation et de réponse de l'hôte. La gingivite est associée à une augmentation de la charge microbienne et un enrichissement en bactéries gram -, le taux passant de 15 à 50% (DARVEAU, 1997). La microbiologie des gingivites sera développée ultérieurement.

La flore bactérienne évolue en effet dans le temps :

- 1<sup>er</sup> phase : caractérisée par la présence de cocci gram positif, de bacilles gram positif et de cocci gram négatif (*Veillonella*).
- 2<sup>e</sup> phase : caractérisée par la présence des microorganismes filamenteux.
- 3<sup>e</sup> phase : lorsque la gingivite est installée, on note une augmentation des anaérobies gram négatif (*Fusobacterium nucleatum* , *Prevotella intermedia*, *Capnocytophaga*).

#### 1.1.2.4 Parodontites

La flore de la poche parodontale est beaucoup plus dense que celle de la gingivite. Elle varie en fonction de la localisation :

- la plaque supra gingivale est comparable à celle la gingivite
- la plaque sous gingivale est composée surtout par des bactéries anaérobies à gram négatif.

La composition de la poche parodontale est donc constituée essentiellement d'anaérobies, de bactéries à gram négatif et de spirochètes (DARVEAU, 1997).

Pour la plupart, l'oxygène est toxique et elles ne requièrent pas de carbonates. Beaucoup d'espèces vivent grâce aux protéines du fluide gingival, d'autres grâce aux produits dérivés du métabolisme d'autres espèces (association bactérienne spécifique).

L'aspect microbiologique des différentes formes cliniques de parodontites sera détaillé ultérieurement.

#### 1.1.3 CONCEPT DE SPECIFICITE BACTERIENNE

Si le rôle de la plaque bactérienne dans l'étiologie des maladies parodontales a été prouvé dès 1965 (LOE et coll., 1965), la spécificité bactérienne associée aux différents tableaux cliniques a longtemps été discutée.

Les premiers concepts expliquant l'étiologie des parodontopathies étaient basés sur l'hypothèse de la plaque non spécifique ; selon cette théorie, la destruction des tissus parodontaux était directement liée à une augmentation de la flore bactérienne. Son corollaire thérapeutique (contrôle de plaque, détartrage) supposait une réponse au traitement identique chez tous les patients.

L'ère de la spécificité bactérienne a démarré par la découverte d'un certain nombre de bactéries de la plaque sous gingivale susceptibles d'être parodontopathogènes (*Fusobacterium nucleatum*, Aa).

Ce concept de spécificité bactérienne n'a pu être mis en évidence que grâce aux progrès des techniques de cultures bactériennes et à la mise au point de milieux de cultures semi- sélectifs performants.

Il est maintenant admis que les diverses formes de parodontopathies ne sont pas associées à une bactérie spécifique mais bien à l'action potentialisatrice de plusieurs pathogènes (NISHIHARA et KOSEKI, 2004). Il est bien établi que certaines entités cliniques précises sont associées à la présence spécifique de groupes bactériens : on parle ainsi de spécificité élargie. Ainsi, si l'augmentation de la quantité de bactéries de la plaque peut jouer un rôle potentialisateur dans le développement de certaines formes de parodontopathies, le facteur responsable de l'initiation de la pathologie reste la composition de la flore sous gingivale.

#### **1.1.4 MECANISMES DE PATHOGENICITE DES BACTERIES**

Les mécanismes de pathogénicité des bactéries parodontopathogènes peuvent être répartis en trois catégories :

- mécanismes intervenant dans la colonisation bactérienne
- mécanismes intervenant dans la destruction tissulaire
- mécanismes participant à la neutralisation des systèmes de défense de l'organisme.

##### **1.1.4.1 Colonisation bactérienne**

Pour qu'une bactérie colonise l'espace sous gingival, elle doit être capable de se fixer à l'une des surfaces disponibles, de s'y multiplier, de vaincre la compétition avec les autres bactéries et de se prémunir contre les moyens de défense que lui oppose l'organisme hôte.

- **Facteurs d'adhésion** : adhésines / fimbriae / vésicules

La plupart des bactéries parodontopathogènes possèdent à leur surface une ou plusieurs adhésines capables de se fixer aux substrats suivants : cellules épithéliales, fibroblastes, leucocytes, membrane basale.

P.g possède une fimbriae de fixation à des cellules épithéliales et une adhésine capable de reconnaître un récepteur à la surface des érythrocytes ; elle peut également adhérer à d'autres bactéries (SLOTS, 1999 ; HOLT, 2005).

▪ **Facteurs de croissance :**

Les nutriments nécessaires à la croissance des bactéries proviennent :

- du fluide gingival : vitamine K, oestradiol, progestérone...
- des tissus de l'hôte : collagène du tissu conjonctif
- du métabolisme d'autres bactéries.

▪ **Facteurs d'inhibition :**

Une espèce peut sécréter une substance antagoniste pour une autre espèce : par exemple Aa produit une bactériocine active sur *S. sanguis* tandis que celle-ci produit du peroxyde d'hydrogène , inhibiteur de croissance pour Aa.

### 1.1.4.2 Destruction tissulaire

Les bactéries à potentiel parodontopathogène accumulées dans la poche sont susceptibles d'entraîner une lyse tissulaire du parodonte par trois mécanismes :

▪ directement par libération d'enzymes lytiques :

Les enzymes s'attaquent aux protéines constitutives du parodonte, elles sont dites protéolytiques. Citons en particulier la collagénase, les peptidases et les aminopeptidases qui permettent la dégradation des protéines du tissu conjonctif.

▪ indirectement par libération de substances déclenchant la synthèse d'enzymes lytiques :

Le lipopolysaccharide (LPS) des bactéries gram négatif a la capacité d'induire chez les macrophages la production d'enzymes lytiques ; ces enzymes appartiennent à la famille des métalloprotéases matricielles qui dégradent les constituants de la matrice extracellulaire.

▪ indirectement par stimulation des médiateurs de l'inflammation :

De nombreux antigènes bactériens déclenchent une réponse immunitaire aboutissant à la libération de cytokines par les macrophages et lymphocytes, qui activent plusieurs mécanismes de dégradation tissulaire. Les LPS de Pg et Aa stimulent ainsi la libération de l'interleukine-1(IL-1), de la prostaglandine E2 et du TNF (Tumor Necrosis Factor) (BARTHOLD, 2006).

### 1.1.4.3 Neutralisation des défenses immunitaires

" Les bactéries parodontopathogènes disposent de moyens leur permettant de contourner les barrières de protection et les systèmes de défense que leur oppose l'hôte infecté. Aa est capable de synthétiser une leucotoxine particulièrement active sur les neutrophiles et qui altère les lymphocytes B et T. Cette leucotoxine agit par production de pores dans la membrane cytoplasmique menant à une lyse de la cellule ; sa présence semble conférer une virulence supplémentaire à la bactérie.

Pg synthétise des protéases spécifiques des immunoglobulines qui lui donnent la possibilité d'hydrolyser les IgG, IgM et IgA en peptides que la bactérie utilise comme nutriments. Des protéases actives sur C3, C4 et C5 lui donnent la possibilité d'inactiver le complément. Ces attributs propres à Pg lui confèrent un important potentiel d'inactivation des défenses immunitaires de l'hôte " (PAGE, 1997).

La figure 5 résume le mécanisme de pathogénicité des maladies parodontales :

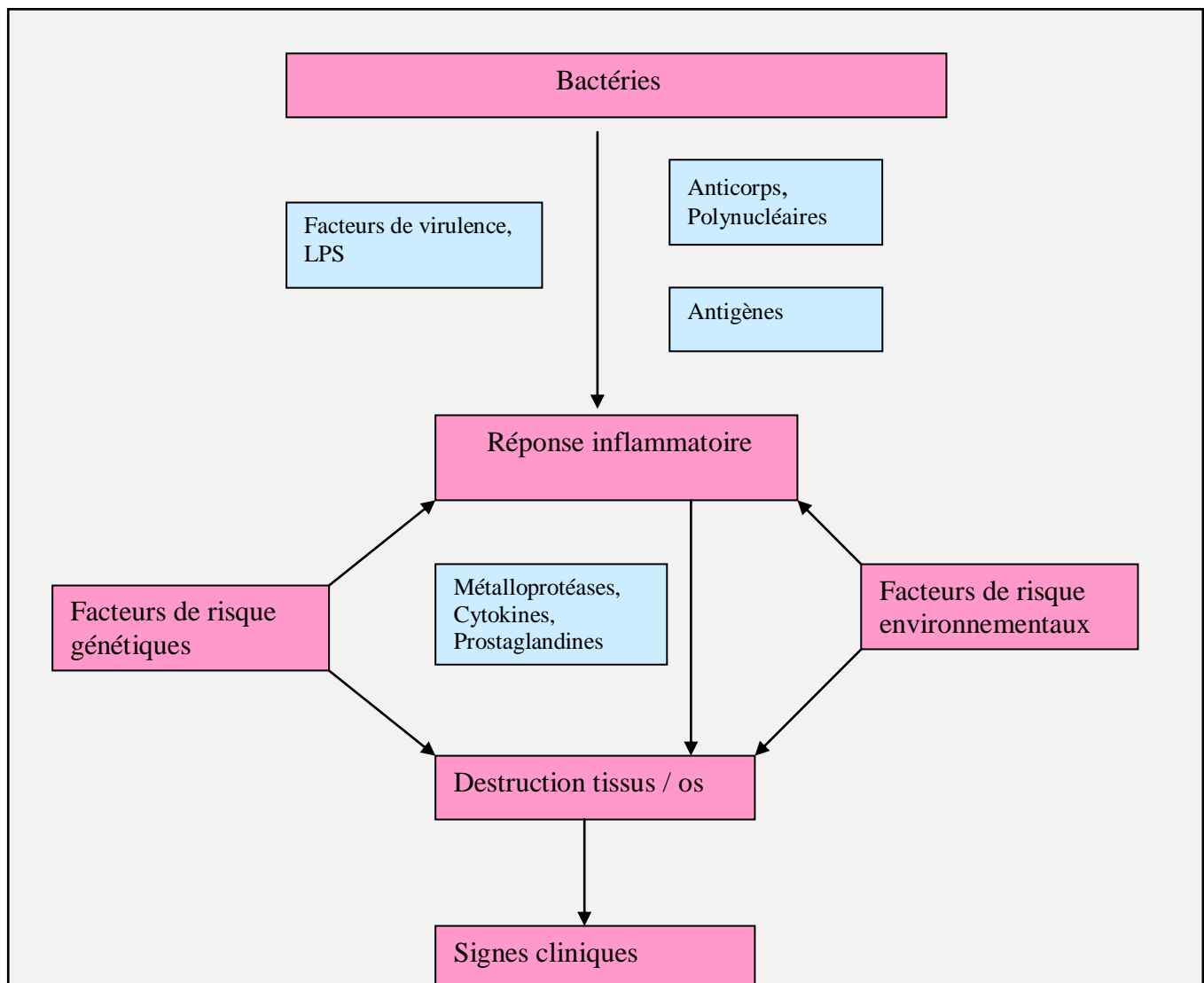


Figure 5. Mécanismes de pathogénicité des maladies parodontales (d'après PAGE, 1997).

## 1.2 CLASSIFICATION DES MALADIES PARODONTALES

Cliniquement, les maladies parodontales sont des processus pathologiques affectant les tissus de soutien de la dent qui comprennent : la gencive, le cément, le desmodonte et l'os alvéolaire. Ces processus pathologiques peuvent atteindre :

- le parodonte superficiel provoquant une gingivite correspondant à une inflammation cliniquement décelable de la gencive
- le parodonte profond provoquant une parodontite correspondant à une résorption de l'os alvéolaire et aboutissant *in fine*, en l'absence de traitement, à la perte des dents.

" La classification des différentes atteintes parodontales se doit d'être la plus claire et la plus complète possible afin de caractériser au mieux la maladie et l'ensemble de ses composants et ainsi permettre un traitement adapté et donner un pronostic à moyen terme. Issue d'une conférence de consensus mondiale (World Workshop de 1999), la classification de 1999 s'est aujourd'hui imposée (tableau 3). Elle tente d'harmoniser les points de vue des principales sociétés scientifiques mondiales (Académie Américaine de Parodontologie, Fédération Européenne de parodontologie, etc.) au regard des connaissances scientifiques actuelles et des recherches entreprises au cours des dernières années " (STRUILLOU, 2003).

Dans cette nouvelle classification, toutes les différentes formes des parodontites (parodontites de l'adulte ; parodontites à début précoce, c'est-à-dire prépubertaires, juvéniles et à progression rapide ; parodontites réfractaires) disparaissent au profit de deux entités cliniques qui sont la parodontite chronique et la parodontite agressive, chaque forme pouvant être soit localisée, soit généralisée ( ARMITAGE, 1999 ).

Les principaux changements sont :

- le remplacement des «parodontites de l'adulte» par la dénomination «parodontites chroniques»
- le remplacement des «parodontites à début précoce» par les «parodontites agressives»
- la disparition de la forme clinique séparée des «parodontites réfractaires »

- la clarification de l'expression de «parodontite comme manifestation d'une maladie systémique»
- le remplacement de la dénomination de «parodontite ulcéro-nécrotique» par «maladies parodontales nécrotiques»
- l'ajout de nouvelles catégories : «les abcès parodontaux» et les «lésions endo-parodontales»

Dans le cadre de notre travail, nous nous intéresserons aux maladies gingivales induites par la plaque, aux parodontites chroniques et agressives, ainsi qu'aux maladies parodontales nécrotiques.

## **I MALADIE GINGIVALE**

### **A-maladie gingivale induite par la plaque**

#### **1 gingivite associée avec la plaque uniquement**

- a) sans facteurs locaux
- b) avec facteurs locaux (voir VIII A)

#### **2 maladie gingivale associée à des facteurs systémiques**

- a) Associée à des modifications endocriniennes
  - 1) gingivite de la puberté
  - 2) gingivite associée aux cycles menstruels
  - 3) gingivite au cours de la grossesse
- gingivite, granulome pyogénique
- 4) gingivites et diabète sucré
- b) Associée à un trouble de la crase sanguine : leucémie, autres troubles

#### **3 maladie gingivale et médicaments**

- 1) hypertrophie gingivale induite par les médicaments
- 2) gingivite aggravée par les médicaments : contraceptifs oraux et gingivite, autres médicaments

#### **4 gingivites et malnutritions**

- a) gingivite et carence en acide ascorbique
- b) autres

### **B-lésion gingivale non induite par la plaque**

#### **1 pathologie gingivale liée à une bactérie spécifique**

Neisseria gonorrhoea, Treponema pallidum, Streptocoques

#### **2 maladie gingivale d'origine virale**

- a) infections à herpes virus  
gingivostomatite lors de la primo-infection à herpes virus, herpes buccal récidivant, varicelle -zona
- b) autres

#### **3 maladie gingivale d'origine fongique**

- a) infection à candida : candidose gingivale généralisée
- b) érythème gingival linéaire
- c) histoplasmose
- d) autres

#### **4 lésions gingivales d'origine génétique**

- a) gingivite au cours des fibromatoses
- b) autres

#### **5 gingivites au cours de manifestations générales**

- a) atteintes cutanéomuqueuses
  - 1) lichen plan
  - 2) pemphigoïde
  - 3) pemphigus vulgaire
  - 4) érythème polymorphe
  - 5) lupus érythémateux
  - 6) induites par des médicaments
  - 7) autres
- b) réactions allergiques
  - 1) aux matériaux d'obturations dentaires : mercure nickel acrylique et autres
  - 2) réactions allergiques attribuées à : pâtes dentifrices, bain de bouche, additif contenu dans les chewing-gums, additifs présents dans les aliments
  - 3) autres

#### **6 lésions traumatiques (factices, iatrogènes, accidentelles)**

chimique, physique, thermique

#### **7 réactions auto-immunes**

#### **8 non spécifiques**

## **II PARODONTITES CHRONIQUES**

A localisées, B généralisées

## **III PARODONTITES AGRESSIVES**

A localisées, B généralisées

## **IV PARODONTITES MANIFESTATIONS D'UNE MALADIE GENERALE**

### **A-associées à une hémopathie**

neutropénie acquise, leucémie, autres

### **B-associées à une anomalie génétique**

- 1) neutropénie familiale cyclique
- 2) syndrome de Down
- 3) syndrome de déficience d'adhésion des leucocytes
- 4) syndrome de Papillon-Lefèvre
- 5) syndrome de Chediak-Higashi
- 6) hystiocytose
- 7) maladie du stockage du glycogène
- 8) agranulocytose de l'enfant
- 9) syndrome de Cohen
- 10) syndrome de Ehlers-Danlos (types IV et VIII)
- 11) hypophosphatasie
- 12) autres

### **C-non spécifiées**

## **V PARODONTOPATHIES ULCERO-NECROTIQUES**

gingivite ulcéro-nécrotique, parodontite ulcéro-nécrotique

## **VI ABCES PARODONTAL**

abcès gingival, abcès parodontal, abcès péri-coronaire

## **VII PARODONTITE ASSOCIEE A UNE PATHOLOGIE ENDODONTIQUE**

lésions combinées endo-parodontales

## **VIII ANOMALIES BUCCO-DENTAIRES ACQUISES OU CONGENTALES EN RAPPORT AVEC LES PARODONTOPATHIES**

**A-facteurs locaux liés à la dent prédisposant aux gingivites ou aux parodontites induites par la plaque**  
facteur lié à l'anatomie de la dent, obturation et restauration dentaire, fractures des racines, résorptions cervicales et fissures du ciment

### **B-malformation muco-gingivale au voisinage des dents**

- 1) récessions gingivales au niveau des surfaces linguales ou vestibulaires, interproximales
- 2) défaut de kératinisation de la gencive
- 3) réduction de la profondeur du vestibule
- 4) frein aberrant, anomalie de l'insertion musculaire
- 5) excès de gencive : pseudo-poche, gencive marginale inconsistante, excès de gencive visible, hypertrophie gingivale
- 6) anomalie de la coloration

### **C-malformation mucogingivale et édentation**

- 1) déficit horizontal ou vertical de la crête alvéolaire
- 2) déficit de kératinisation de la gencive
- 3) hypertrophie gingivale
- 4) frein aberrant, anomalie de l'insertion musculaire
- 5) réduction de la profondeur du vestibule
- 6) anomalie de la coloration

### **D-traumatisme occlusal : occlusal primaire, secondaire**

Tableau 3. Classification des maladies parodontales (Armitage 1999).



## 1.2.1 LES GINGIVITES INDUITES PAR LA PLAQUE

### 1.2.1.1 Définition

La gingivite se définit comme une inflammation du parodonte superficiel, n'atteignant pas le parodonte profond, provoquée par une agression non spécifique liée aux bactéries de la plaque dentaire. Elle est réversible et régresse avec le retour du contrôle de plaque.

Le facteur étiologique principal est la plaque dentaire. Son rôle a été démontré sans équivoque par LOE et ses collaborateurs en 1965 lors de leur célèbre étude clinique sur la gingivite expérimentale.

Les gingivites regroupent :

- les gingivites d'origine bactérienne :
  - sans facteurs locaux aggravant
  - avec facteurs locaux aggravant :
    - facteurs anatomiques
    - facteurs iatrogènes (dentisterie restauratrice et prothèse)
    - fractures radiculaires
    - myolyses et anomalies cémentaires
  
- les gingivites associées à des facteurs systémiques :
  - gingivites associées à des modifications endocriniennes (puberté, cycles menstruels, grossesse, diabète)
  - gingivites associées à des troubles de la crase sanguine (leucémie)
  - gingivites associées à la prise de médicaments (par exemple la ciclosporine)
  - gingivites associées à la malnutrition ( par exemple une carence en acide ascorbique).

### 1.2.1.2 Clinique

Nous nous intéressons à la description de la gingivite chronique.

A l'interrogatoire le patient peut signaler des saignements au brossage et des sensibilités gingivales (tension, gênes).

A l'examen, on note :

- des signes d'inflammation nets : œdème, érythème, saignement au sondage.
- la présence de tartre et de plaque.
- une profondeur au sondage généralement inférieure à 4 mm.
- l'absence de perte d'attache et de perte osseuse visible à la radio.

### 1.2.1.3 Microbiologie

L'étude de LOE et coll. (1965) met en évidence trois phases sur une période de deux semaines après l'arrêt de tout contrôle de plaque : la flore initialement composée de coques et de bacilles gram négatif évolue vers une flore plus complexe avec des bactéries filamenteuses, puis vers le dixième jour, des bactéries mobiles et des spirochètes.

Des analyses bactériologiques de la flore de la gingivite chronique révèlent que, si les micro-organismes gram positif sont encore majoritaires, leur proportion a diminuée au profit des bactéries gram négatif et des anaérobies. Les bactéries prédominantes sont *Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Peptostreptococcus micros* pour les gram positifs; *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Veillonella parvula* pour les gram négatifs ; et les genres prédominants sont *Capnocytophaga*, *Campylobacter* et *Haemophilus* (DARVEAU, 1997)

La séquence état sain - gingivite - parodontite s'accompagne d'un passage progressif à une flore plus riche en bactéries anaérobies (tableau 4).

	Etat sain	Gingivite	Parodontite
<b>Bactéries aérobies ou facultatives</b>	<b>75%</b>	<b>50%</b>	<b>10%</b>
<b>Bactéries anaérobies</b>	<b>25%</b>	<b>50%</b>	<b>90%</b>
<b>Bactéries Gram +</b>	<b>85%</b>	<b>56%</b>	<b>25%</b>
<b>Bactéries Gram -</b>	<b>15%</b>	<b>44%</b>	<b>75%</b>

Tableau 4. Composition de la flore sous gingivale en fonction de l'état de santé parodontale (d'après DARVEAU, 1997).

## 1.2.2 LES PARODONTITES

### 1.2.2.1 LES PARODONTITES CHRONIQUES

#### 1.2.2.1.1 Définition

" La parodontite chronique est une maladie infectieuse entraînant une inflammation des tissus de soutien des dents, une perte d'attache et une alvéolyse progressive. Elle est caractérisée par la formation d'une poche parodontale et/ou d'une récession gingivale.

Elle représente la forme la plus commune de parodontite. Elle peut survenir à n'importe quel âge même si elle est plus communément détectée chez des patients adultes. La prévalence et la sévérité de la maladie augmentent avec l'âge. Le facteur étiologique est la plaque bactérienne, mais les mécanismes de réponse de l'hôte jouent un rôle important dans sa pathogénie. Le taux de progression de la maladie est lent ou modéré mais peut présenter des périodes de progression rapide " (FLEMMING, 1999).

Les parodontites peuvent être associées à des facteurs locaux de prédisposition (liés à la position de la dent ou à des facteurs iatrogènes) ; elles peuvent être également associées à des maladies systémiques ou à d'autres facteurs tels que le tabac ou le stress.

#### 1.2.2.1.2 Clinique

La perte d'attache et l'alvéolyse sont progressives, leur classification se fait en fonction de l'étendue et de la sévérité de l'atteinte.

Elles peuvent donc être :

- **localisées** : moins de 30% de sites atteints
- **généralisées** : plus de 30% de sites atteints.

La sévérité de la maladie parodontale peut être vue soit dans sa globalité (sur l'ensemble des dents de la bouche) soit au niveau d'une dent ou d'un site. En fonction de la perte d'attache, on distingue les parodontites chroniques :

- **légères** :
  - perte d'attache comprise entre 1 et 2mm en moyenne
  - présence de plaque et tartre
  - signes d'inflammation
  - pas d'augmentation de la mobilité

- poches parodontales peu profondes, 4 à 5mm
- perte osseuse faible
- furcations non atteintes

■ **modérées :**

- perte d'attache comprise entre 3 et 4mm en moyenne
- présence de plaque et de tartre
- signes d'inflammation
- légère augmentation de la mobilité
- poches parodontales moyennes à profondes, environ 6mm
- perte osseuse nette à la radio
- atteinte modérée des furcations

■ **sévères :**

- perte d'attache de 5mm et plus en moyenne
- présence de plaque et de tartre
- signes d'inflammation
- mobilité nette
- poches parodontales profondes, supérieures à 6mm
- atteinte des furcations.

### 1.2.2.1.3 Microbiologie

La flore retrouvée dans les parodontites chroniques est très hétérogène (SLOTS, 1985 ; MOORE, 1994) mais reste dominée par des micro-organismes anaérobies et des bactéries capnophiles gram négatif (DZINK, 1985).

Dans l'étude de XIMENEZ et coll. (2000) des proportions augmentées de *P. gingivalis*, *B. Forsythus* et des espèces de *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Campylobacter* et *Treponema* ont été identifiés en sous gingival chez les sujets atteints de parodontite chronique. *P. gingivalis*, *B. Forsythus* et *T. denticola* avaient une fréquence globale significativement plus importante dans les échantillons de plaque sus et sous gingivale chez les patients avec parodontite que chez les sujets sains.

Le tableau 5 présente les bactéries de la flore des parodontites chroniques d'après l'AFSSAPS, 2001 :

Bactéries	Fréquence d'isolement des bactéries
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	+
<i>Bacteroides forsythus</i>	+
<i>Campylobacter rectus</i>	+
<i>Eikenella corrodens</i>	+
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	+
<i>Micromonas micros</i>	+
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	+
<i>Prevotella intermedia</i>	+
<i>Prevotella melaninogenica</i>	+
Spirochètes ( <i>Treponema</i> sp.)	+
<i>Eubacterium</i> sp	
<i>Veillonella</i> sp	

+, ++ ou +++ : fréquence d'isolement des bactéries.

**Tableau 5. Bactéries de la flore présente dans les parodontites chroniques (AFSSAPS 2001).**

Le tableau 6 met en évidence les espèces prédominantes de la flore anaérobie dans les sites actifs (c'est-à-dire en phase de destruction) et inactifs (en phase de quiescence) ; l'activité de destruction est associée à des groupements bactériens spécifiques.

Bactéries	Sites inactifs	Sites actifs
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	0.4 – 1.1%	2.5-12.7%
<i>Prevotella intermedia</i>	0.7-1.6%	3.4-7.4%
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	0-0.3%	1.2-2.2%
<i>Peptostreptococcus micros</i>	1-1.2%	1.8-8.5%
<i>Tanerella forsythia</i>	0.4-0.5%	2.5-6.5%
<i>Campylobacter rectus</i>	0.5-2.3%	1.6-3.6%

**Tableau 6. Espèces prédominantes dans les sites actifs et les sites inactifs (d'après MOORE et coll.1991 et DZINK et coll. 1988).**

Les formes les plus sévères et dont la progression est la plus rapide sont caractérisées par l'augmentation de la proportion de Pg. Au niveau des sites où la maladie est la plus active, SLOTS (1986) a décrit une association de Aa, Pg et Pi.

## 1.2.2.2 LES PARODONTITES AGRESSIVES

### 1.2.2.2.1 Définition

" La parodontite agressive est une maladie infectieuse entraînant une inflammation des tissus de soutien des dents, une perte d'attache et une alvéolyse rapide. Elle est caractérisée par la formation d'une poche parodontale et/ou d'une récession gingivale. Il existe habituellement une incidence familiale.

La dénomination «parodontite agressive» a été choisie car elle est moins restrictive que la précédente, «parodontite à début précoce», qui était trop dépendante de l'âge du patient. Toutefois, la nouvelle désignation «parodontite agressive localisée» recoupe, en général, le schéma clinique des anciennes «parodontites juvéniles localisées».

La parodontite agressive représente une entité spécifique, clairement différente de la parodontite chronique" (TONETTI, 1999).

### 1.2.2.2.2 Clinique

La perte d'attache et l'alvéolyse sont rapides ; leur classification se fait en fonction de l'étendue de l'atteinte ainsi que la sévérité. Elles peuvent donc être :

- **localisées** : moins de 30% des sites sont atteints
- **généralisées** : plus de 30% de sites atteints

La sévérité de la maladie parodontale peut être vue soit dans sa globalité (sur l'ensemble des dents de la bouche) ou au niveau d'une dent ou d'un site. En fonction de la perte d'attache, on distingue les parodontites agressives :

- **légères** : perte d'attache comprise entre 1 et 2mm en moyenne
- **modérées** : perte d'attache comprise entre 3 et 4mm en moyenne
- **sévères** : perte d'attache de 5mm et plus en moyenne

" Les caractéristiques communes des parodontites agressives localisées ou généralisées sont les suivantes :

- patients en bonne santé générale
- patients présentant des pertes d'attache et des alvéolyses rapides
- présence d'une composante familiale.

D'autres caractéristiques sont retrouvées de façon inconstante :

- quantité de plaque bactérienne dans la cavité buccale en inadéquation avec la sévérité de la destruction des tissus parodontaux
- pourcentages d' Aa et de Pg importants
- présence d'anomalies dans les systèmes phagocytaires
- existence d'un phénotype entraînant une hyper-réponse macrophagique, aboutissant à des niveaux élevés de sécrétion de PGE-2 et d'Il-1b
- éventuelle survenue d'un arrêt spontané de la progression de la perte d'attache et osseuse.

De plus, la parodontite agressive localisée présente des spécificités :

- âge de survenue aux alentours de l'adolescence
- présence d'une réponse anticorps sérique forte aux agents infectants
- localisation spécifique au niveau des premières molaires et des incisives, avec présence d'une perte d'attache interproximale sur au moins 2 dents permanentes, dont une première molaire, et intéressant au plus 2 dents supplémentaires autres que les incisives et les premières molaires.

La parodontite agressive généralisée présente aussi certaines spécificités :

- patients de moins de 30 ans
- faible réponse anticorps sérique aux agents infectants
- la maladie progresse par épisodes de perte d'attache et de destruction osseuse prononcés
- présence d'une perte d'attache interproximale généralisée affectant au moins 3 dents permanentes autres que les incisives et les premières molaires " (ARMITAGE, 2004).

### 1.2.2.2.3 Microbiologie

Les parodontites agressives généralisées et les parodontites agressives localisées présentent une flore bactérienne sensiblement différente (tableau 7, AFSSAPS, 2001) (SIXOU, 2003).

La parodontite agressive localisée est un exemple caractéristique de pathologie infectieuse avec un agent étiologique bactérien, *Aa*.

" *Aa* possède une leucotoxine susceptible d'influer sur l'efficacité des réactions de défense de l'hôte. Ce germe a la potentialité de pénétrer dans les tissus parodontaux, traversant le conjonctif gingival, pour exercer son pouvoir pathogène au contact de l'os " (INSERM, 1999). En général, *Aa* ne se retrouve pas dans les sites sains de patients atteints de parodontite agressive localisée, et la quantité retrouvée est beaucoup plus faible dans les autres formes de parodontites.

De plus, des quantités importantes d'anticorps anti-*Aa* sont retrouvées dans le sérum, la salive et le fluide gingival de ces patients, ce qui contraste avec les faibles taux mis en évidence chez les sujets sains ou atteints d'autres formes de maladie parodontale (ZAMBON, 1988).

La flore microbienne des formes généralisées est plus complexe ; elle est essentiellement dominée par une association de *Pg* et d'autres bacilles gram négatif tels que *Ec*, *Capnocytophaga* et *Aa* (SIXOU, 2003).

*Pg* produit une batterie d'enzymes protéolytiques ayant un potentiel de dégradation du collagène et des autres constituants de la matrice extra cellulaire. Ces protéases peuvent participer à la destruction des tissus parodontaux en agissant directement sur le collagène parodontal ; ou de manière indirecte en provoquant la synthèse de métalloprotéases matricielles par les fibroblastes, ou encore par clivage des cellules de défense de l'hôte comme les immunoglobulines (SLOTS, 1999).

Dans l'étude de KAMMA et coll. (2002) portant sur 66 sujets atteints de parodontite agressive, *Pi*, *Pg* et *Cr* étaient présents dans 75 à 90% des échantillons testés. *Pg* et *Aa* étaient respectivement isolés dans 60% et 25% des sites. Les auteurs ont mis en évidence l'existence d'association positive entre *Tf* et *Cr* ainsi qu'entre *Tf* et *Pg*. Enfin, une coinfection par *Pg*, *Tf*, *Pi* et *Cr* a été observée chez 90% des sujets testés.



Bactéries	Fréquence d'isolement des bactéries
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	++
<i>Bacteroides forsythus</i>	+
<i>Campylobacter rectus</i>	+
<i>Eikenella corrodens</i>	+
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	+++
<i>Prevotella intermedia</i>	+
Spirochètes ( <i>Treponema</i> sp.)	+
<i>Capnocytophaga</i> sp	+

(+, ++ ou +++ : fréquence d'isolement des bactéries.)

Tableau 7. Bactéries de la flore présente dans les parodontites agressives d'après l'AFSSAPS, 2001.

### 1.2.2.3 LES PARODONTITES ASSOCIEES A DES MALADIES SYSTEMIQUES

Certaines maladies parodontales peuvent être une manifestation de maladies systémiques, d'ordre hématologique ou génétique :

- Parodontites associées à des désordres hématologiques :
  - neutropénies acquises
  - leucémies
  - autres
  
- Parodontites associées à des désordres génétiques :
  - neutropénies cycliques et familiales
  - syndrome de Down
  - syndrome de déficience de l'adhésion leucocytaire
  - syndrome de Papillon-Lefèvre
  - syndrome de Chediak-Higashi
  - syndrome histiocytosiques
  - maladie de stockage du glycogène.
  - agranulocytoses infantiles génétiques
  - syndrome de cohen
  - syndrome d'Ehlers-Danlos
  - hypophosphatasies

Il est à noter que le diabète n'y figure pas car, s'il est clair que c'est un facteur aggravant, les données sont insuffisantes pour le classer comme pouvant être à l'origine de maladies parodontales.

### **1.2.3 MALADIES PARODONTALES NECROTIQUES**

D'après STRUILLLOU (2003), " les gingivites ulcéro-nécrotiques et les parodontites ulcéro-nécrotiques sont deux formes cliniques parfaitement définies, mais la relation entre elles n'est pas encore suffisamment établie. Elles pourraient représenter deux stades d'une même infection (limitée aux tissus gingivaux dans un cas, touchant tous les tissus parodontaux dans l'autre).

#### **1.2.3.1 La gingivite ulcéro-nécrotique**

La gingivite ulcéro-nécrotique est une infection caractérisée par une nécrose gingivale avec présence de papilles interdentaires décapitées, de saignements gingivaux et de douleurs pouvant être importantes. De plus, on peut noter la présence de débris pseudo-membraneux sur la gencive et cette infection engendre souvent une haleine fétide.

D'un point de vue microbiologique, cette infection est associée à la présence de bactéries fusiformes, de *Prevotella intermedia* et de spirochètes. Différents facteurs de prédisposition ont été décrits, tels que le stress, les carences alimentaires, le tabac, ou l'infection par le VIH. Non traitée elle peut évoluer vers le parodonte profond et conduire à une parodontite ulcéro-nécrotique.

#### **1.2.3.2 La parodontite ulcéro-nécrotique**

La parodontite ulcéro-nécrotique est une infection caractérisée par une nécrose des tissus gingivaux, du ligament parodontal et de l'os alvéolaire. Elle est souvent associée à des pathologies systémiques telles que l'infection par le VIH, une sévère malnutrition ou une immunosuppression ". Le tableau 8 détaille les bactéries présentes dans les parodontites ulcéro-nécrotiques (AFSSAPS, 2001).

Bactéries	Fréquence d'isolement des bactéries
<i>Fusobacterium sp.</i>	+++
<i>Prevotella intermedia</i>	+
Spirochètes ( <i>Treponema sp.</i> )	++
<i>Campylobacter rectus</i>	+

(+, ++ ou +++ : fréquence d'isolement des bactéries.)

Tableau 8. Bactéries de la flore présente dans les parodontites ulcéro- nécrotiques d'après l'AFSSAPS, 2001

## 1.3 ACTIVITE DE LA MALADIE ET NOTION DE RISQUE PARODONTAL

### 1.3.1 Activité de la maladie

Pendant longtemps, on a considéré que la maladie parodontale était une désorganisation lente, continue et progressive allant de la gingivite précoce à une perte d'attache graduelle, jusqu'au stade terminal de la maladie c'est-à-dire la perte des dents. Une corrélation avait été rapportée entre la sévérité de la maladie et des facteurs tels que l'âge des sujets d'où la théorie d'évolution lente et continue de la maladie (AXELSON et LINDHE, 1978).

Il apparaît aujourd'hui que seuls quelques sites sont en activité pendant un temps relativement bref au cours duquel le taux de destruction des tissus parodontaux est extrêmement rapide (SOCRANSKY et HAFFAJEE, 1986). De plus, ces épisodes sont plus intenses et plus fréquents pendant une période donnée de la vie, après quoi la maladie évolue très lentement (phénomène du « burn-out » pour les anglo-saxons) (SUZUKI et CHARON, 1989). Au cours d'une phase active de la maladie, seul un nombre limité de lésions sont en activité (6 à 10%) (GOODSON, 1982).

Les paramètres cliniques (accumulation de plaque, rougeur, saignement au sondage, suppuration, volume du fluide gingival, profondeur de poche), permettent de diagnostiquer la maladie, mais ne sont pas utilisables pour prédire son activité.

Parmi ces paramètres on utilise :

- l'indice de plaque
- l'indice de saignement au sondage : sa présence peut indiquer une exacerbation de la maladie parodontale
- la perte d'attache et la profondeur de poche :
  - l'examen radiographique : c'est un élément diagnostique indispensable en parodontologie. Mais, outre les difficultés et erreurs d'interprétation possibles, les destructions osseuses décelables à la radiographie présentent un retard de 4 à 6 mois par rapport aux pertes d'attache mesurées au sondage (MOL, 2004).
  - le sondage : il permet d'évaluer la profondeur des poches parodontales. Les inconvénients du sondage sont d'une part la difficulté de reproductibilité des mesures, et d'autre part, le fait que l'activité de la maladie est indépendante de l'importance de la destruction parodontale et de la profondeur de poche (GOODSON et coll., 1982). Enfin l'évaluation de la perte d'attache est souvent rétrospective et n'apporte pas d'information quant à l'évolution du site concerné (SOCRANSKY et coll., 1984) , sauf si les mesures sont faites très régulièrement, ce qui est évidemment peu réalisable dans le cadre de la pratique courante.

Ainsi, les indices cliniques, s'ils permettent d'évaluer la présence de la maladie parodontale, n'ont en revanche qu'une valeur relative en ce qui concerne son évolution. Aussi, du fait de l'évolution cyclique de la maladie, avec des phases d'exacerbation spontanée sans aucun signal d'alarme, des recherches se sont orientées pour mettre au point des moyens diagnostic ou même pronostic de l'activité.

### **1.3.2 Le risque parodontal**

L'épidémiologie nous apprend que le risque de développer une forme sévère de maladie parodontale n'est pas réparti de façon égale chez tous les individus (BURT, 1988). En effet ces formes sévères sont rares et affectent un faible pourcentage de la population.

Pour CHARON et coll. (1998), les phases de destruction sont la conséquence de la réunion des trois conditions suivantes :

- présence de bactéries virulentes (Aa, Pg, Pi, Tf, spirochètes)

- présence d'un environnement favorable où le pH, la température, la pression osmotique et le potentiel d'oxydo-réduction jouent un rôle prépondérant
- présence d'une défaillance transitoire ou définitive des défenses immunitaires ou non immunitaires (déséquilibre du rapport flore bactérienne / défenses de l'hôte).

La plupart de ces conditions ne sont réunies qu'exceptionnellement au cours des parodontites chroniques, alors qu'elles le sont souvent pour les parodontites agressives.

D'après l'étude de LOE et coll. (1986), on peut distinguer trois groupes d'individus :

- le premier groupe : sujets qui ne développeront pas de maladies parodontales destructrices, pouvant être affectés d'inflammation gingivale (due à une absence totale ou relative de contrôle de plaque) et ne pas souffrir de maladie parodontale destructrice. Ils sont une minorité (5%)
- le second groupe : individus dont les gingivites évoluent en parodontites à évolution relativement lente et peu invalidantes. Ils représentent la majorité (80%)
- le troisième groupe : sujets qui seront édentés, totaux ou partiels, en absence de diagnostic et de traitements adaptés. C'est le groupe de sujets à haut risque (5 à 15%).

Selon CHARON (1998), ces patients à risque présentent une ou plusieurs des caractéristiques suivantes :

- antécédents familiaux de parodontites sévères.
- réponse défavorable au stress psychologique.
- susceptibilité directe ou indirecte aux infections.
- faible susceptibilité à la carie dentaire.
- antécédents de gingivite ulcéro-nécrotique.

L'identification précoce de ces groupes et/ou individus à risque est donc hautement souhaitable pour mettre en œuvre des traitements correctement ciblés. Cela permet également d'affiner le traitement et la maintenance grâce à des outils de diagnostic modernes basés sur la microbiologie.

## **1.4 EFFETS DES THERAPEUTIQUES PARODONTALES SUR LA FLORE SOUS GINGIVALE**

Généralement, un patient présentant une parodontite recevra des instructions d'hygiène orale ; un détartrage et des surfaçages seront également effectués.

Après ce traitement initial, les poches profondes résiduelles seront traitées par chirurgie dans le but de réduire la charge bactérienne et de faciliter une hygiène satisfaisante. L'échec de ces thérapeutiques peut conduire à adopter d'autres stratégies telles que l'instauration d'une antibiothérapie systémique (HAFFAJEE et coll., 2006).

### **1.4.1 Elimination de la plaque supra gingivale**

Le contrôle de plaque diminue l'inflammation et la quantité de fluide gingival, provoquant une diminution des nutriments disponibles aux microorganismes sous gingivaux.

Des changements au niveau de la composition de la flore sous gingivale ont ainsi été observés :

- Réduction de la charge bactérienne totale
- Diminution des taux de spirochètes
- Augmentation de la proportion des bactéries gram positif
- Réduction de la fréquence de détection de Aa, Pg et Fn
- Diminution des taux de Pi et Pg

Toutefois ces effets semblent limités aux poches inférieures ou égales à 4mm.

L'élimination de la plaque supra gingivale ne peut à elle seule permettre d'obtenir une flore compatible avec la santé parodontale. Elle ne suffit pas à stopper la progression de la maladie parodontale, néanmoins, elle est indispensable pour le maintien des résultats après traitement.

### **1.4.2 Détartrage et surfaçage radiculaire**

Le but à ce stade du traitement est d'éliminer les dépôts bactériens au niveau des surfaces radiculaires. L'effet immédiat de ces thérapeutiques est une nette réduction de la quantité totale de bactéries. Le traitement non chirurgical semble souvent suffisant pour réduire les taux de la plupart des pathogènes parodontaux : Fn, Pi et Ec. " Si les résultats obtenus pour Aa et Pg varient selon les auteurs, tous s'accordent sur l'efficacité clinique (réduction des poches, du saignement au sondage), notamment sur les poches inférieures à 6mm "(VERNER, 2007).

### **1.4.3 Traitement chirurgical**

Les avantages apportés par le traitement chirurgical sont :

- Un meilleur accès aux surfaces radicaire
- La réduction des poches profondes
- L'accès facilité au contrôle de plaque par les patients.

Le traitement chirurgical s'est montré plus efficace sur les surfaçages sur la prévalence des bactéries pathogènes (MOMBELLI et coll., 2000). TUAN et coll. (2000) ont évalué les effets d'une plasticie osseuse sur la flore sous gingivale, Aa et Pg n'étaient plus détectés après traitement, Tf étant réduit à de faibles niveaux.

Il semblerait donc que certaines espèces bactériennes soient plus affectées par la chirurgie que par le traitement non chirurgical.

### **1.4.4 Utilisation des antibiotiques**

L'usage des antibiotiques est fréquent dans le traitement des affections parodontales.

Des études montrent que l'administration systémique d'antibiotique permet d'obtenir un gain d'attache après thérapie en comparaison avec des sujets n'ayant pas reçu d'antibiothérapie.

HERRERA et coll. (2002) ont montré les bénéfices des antibiotiques par rapport au traitement conventionnel seul, en particulier sur les formes sévères et les poches les plus profondes.

Les travaux de HAFFAJEE et coll. (2007) confirment ces résultats chez 95 patients atteints de parodontite chronique. Les groupes ayant reçu une antibiothérapie systémique présentaient des gains d'attache supérieurs de 0,3 à 0,4 mm par rapport au groupe n'en ayant pas reçu.

" Il est important de noter que l'antibiothérapie ne doit pas être prescrite sans être associée au traitement mécanique ; en effet, la structure du biofilm nécessite d'être désorganisée pour permettre l'action des antibiotiques " (VERNER, 2007).

## 2 LES TESTS BIOLOGIQUES EN PARODONTOLOGIE

### 2.1 INTRODUCTION

L'évolution des connaissances sur la pathogénie des maladies parodontales, le mode d'évolution et les différents types de maladies, a permis l'émergence de moyens diagnostique de plus en plus précis. Avant de décrire chacun de ces tests, il convient de préciser certains termes, de qualifier le test idéal et d'aborder les techniques de prélèvement.

#### 2.1.1 Définitions

##### 2.1.1.1 Gold Standard

Les tests biologiques sont caractérisés par leur sensibilité, leur spécificité, leur valeur prédictive positive et leur valeur prédictive négative.

Ces caractéristiques sont définies par rapport au meilleur test disponible à ce jour permettant de désigner le patient comme malade ou non ; ce test est le test de référence ou «Gold Standard». Il fait office de modèle auquel tous les autres tests se réfèrent ; mais c'est un modèle relatif car il est susceptible d'être remplacé par un autre test si celui-ci correspond mieux à la définition de la maladie.

##### 2.1.1.2 Sensibilité et Spécificité

L'analyse de la relation entre le test diagnostique et la présence ou l'absence de la maladie parodontale aboutit à quatre situations possibles (tableau 9) :

	Maladie présente	Maladie absente
Test positif	vrai positif	<i>faux positif</i>
Test négatif	<i>faux négatif</i>	<i>vrai négatif</i>

Tableau 9. Résultats possibles d'un test diagnostique (American Academy of Periodontology 2003).



### **2.1.1.2.1 Sensibilité**

La sensibilité indique la probabilité d'avoir un test positif chez un patient porteur de la maladie ; elle est calculée comme suit :

$$\text{Sensibilité} = \text{nombre de sujets vrai positifs} / \text{nombre de sujets malades testés}$$

La sensibilité est définie comme un rapport dans le groupe malade, un test sensible ne va pas considérer un patient malade comme sain. Cependant il peut comporter un nombre important de faux-positifs, et dans ce cas le test considère un patient sain comme malade. Ainsi, un test sensible est plus utile lorsque le résultat est négatif car on peut admettre avec une forte vraisemblance qu'il n'y a pas de maladie ; par contre, un test sensible positif n'implique pas nécessairement que la maladie est présente.

Lors des comparaisons entre différents tests, le mode de calcul de la sensibilité se fera par rapport à la valeur test de référence ; la sensibilité sera estimée par le rapport nombre de résultats positifs dans le test et dans la méthode référence divisé par le nombre de résultats positifs dans la méthode de référence.

### **2.1.1.2.2 Spécificité**

La spécificité indique la probabilité d'avoir un test négatif chez un patient n'ayant pas la maladie ; elle est calculée comme suit :

$$\text{Spécificité} = \text{nombre de sujets faux négatifs} / \text{nombre de sujets sains testés}$$

La spécificité est définie comme un rapport dans le groupe sain. Un test spécifique ne va pas considérer un patient sain comme malade, cependant il peut comporter un nombre important de faux négatifs, et dans ce cas le test considère un patient malade comme sain. Ainsi un test spécifique est plus utile lorsque le résultat est positif car on peut admettre avec une forte vraisemblance que la maladie est présente alors qu'un résultat négatif n'implique pas nécessairement que la maladie est absente.

Lors des comparaisons entre différents tests, le mode de calcul de la spécificité se fera par rapport à la valeur test de référence ; la spécificité sera estimée comme le nombre de résultats négatifs dans le test et dans la méthode référence divisé par le nombre de résultats négatifs dans la méthode de référence.

### 2.1.1.3 Valeur prédictive du test

La valeur prédictive positive du test correspond au nombre de fois où le test a identifié correctement la présence de la maladie ; elle est calculée comme suit :

$$P + = \text{nombre de tests positifs chez les individus malades} / \text{nombre total de tests positifs}$$

La valeur prédictive négative du test correspond au nombre de fois où le test a identifié correctement l'absence de la maladie ; elle est calculée comme suit :

$$P - = \text{nombre de tests négatifs chez les individus sains} / \text{nombre total de tests négatifs}$$

Le tableau 10 résume le calcul de la sensibilité, de la spécificité et des valeurs prédictives d'un test diagnostic en fonction des résultats possibles de ce test :

	Maladie présente	Maladie absente	
Test positif	vrai positif : A	faux positif : C	$P+ = A / A+C$
Test négatif	faux négatif : B	vrai négatif : D	$P - = D / D+B$
	<b>SENSIBILITE</b> A / A+B	<b>SPECIFICITE</b> D / D+C	

**Tableau 10. Matrice de définition pour la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positive et négative d'un test diagnostic (d'après l'American Academy of Periodontology (2003)).**

En conclusion, si l'on souhaite dépister tous les individus malades, il faut utiliser un test très sensible, avec une valeur prédictive positive élevée. Mais ceci s'accompagne également d'un nombre élevé de faux négatifs. Aussi des tests de confirmation doivent être réalisés ; ils doivent être hautement spécifiques afin de s'assurer qu'un sujet sain n'a pas été diagnostiqué malade par erreur, surtout si les conséquences de ce diagnostic erroné sont la mise en œuvre d'un arsenal thérapeutique lourd et coûteux pour enrayer la maladie.

#### **2.1.1.4 Test idéal**

CHAPPLE en 1997 a défini les qualités du test idéal ; ce test doit être :

- quantitatif
- hautement sensible : la méthode doit permettre d'analyser un site parodontal sain aussi bien qu'un site présentant la maladie
- reproductible
- hautement spécifique
- simple à réaliser
- rapide, réalisable en une ou deux procédures
- non invasif
- souple en terme de technique de prélèvement, de stockage et de transport
- peu coûteux
- caractérisé par une instrumentation simple et robuste

Comme nous le verrons ultérieurement, le test idéal n'existe pas. C'est donc le sens clinique et la compétence du praticien qui devra intervenir pour choisir, parmi les nombreux tests disponibles, le test le plus approprié à la situation clinique de chaque patient.

### **2.1.2 Techniques de prélèvement**

Les tests biologiques nécessitent le prélèvement de la flore sous gingivale (microscopie, culture bactérienne...) ou le prélèvement du fluide gingival pour les analyses biochimiques.

#### **2.1.2.1 Prélèvement de la flore sous gingivale**

##### **2.1.2.1.1 Choix du site**

Le choix du site de prélèvement se fait après analyse des signes habituels d'activité de la maladie : (VERNER, 2006) :

- saignement au sondage
- indice gingival
- perte d'attache
- profondeur de poche

Après avoir considéré ces différents paramètres cliniques et radiologiques, le site de prélèvement est choisi, par exemple au niveau d'une dent présentant la poche la plus profonde d'un quadrant (WOLF, 2005). Si plusieurs sites d'un quadrant présentent une profondeur de poche identique, le choix du site de prélèvement se fera de façon arbitraire.

Les prélèvements peuvent se faire par pool ou site par site. En pool, les prélèvements de différents sites sont placés dans un même milieu de transport. En site par site, chaque site a son milieu de transport.

#### **2.1.2.1.2 Techniques de prélèvement**

Les deux méthodes les plus couramment utilisées pour collecter la plaque sous gingivale sont le prélèvement à la curette et le prélèvement par pointe de papier (LOOMER, 2004). Ces techniques requièrent toutes deux l'élimination préalable de la plaque supra gingivale pour empêcher la contamination ou la dilution de l'échantillon.

##### **2.1.2.1.2.1 Prélèvement à la curette**

Cette technique décrite par LISTARGEN (1978) a été appliquée par de nombreux auteurs.

Les étapes sont les suivantes :

- suppression de toute la plaque microbienne supra gingivale
- introduction d'une curette parodontale propre, stérile de la façon la plus délicate possible afin de léser le moins possible le tissu gingival
- prélèvement du contenu bactérien

Le procédé peut être répété plusieurs fois si cela est nécessaire afin d'obtenir une quantité suffisante de flore gingivale.

##### **2.1.2.1.2.2 Prélèvement par pointe de papier**

Cette technique diffère peu de la technique précédemment décrite si ce n'est que le prélèvement n'est pas réalisé à la curette mais à l'aide de pointes de papier stérile (figure 6).

### 2.1.2.1.2.3 Discussion

En matière de prélèvement, si ces techniques sont efficaces sur le plan bactérien, elles présentent l'inconvénient de ne pas être reproductibles d'un opérateur à l'autre. La notion de reproductibilité est importante surtout dans le domaine de la recherche, car pour comparer différentes méthodes de diagnostic et d'étude de bactéries, il faut pouvoir avoir des techniques de prélèvement qui soient reproductibles et identiques d'un opérateur à l'autre (SAVITT et coll., 1988). Cette notion est également importante lors de la phase de diagnostic microbiologique si l'on veut pouvoir étudier la flore d'un point de vue quantitatif, par exemple en début et en fin de traitement.

Il est important de noter que le mode de prélèvement par site donne des résultats plus précis et plus complets que par pool pour la conservation des informations bactériennes des prélèvements. Pour VERNER (2007), " il est préférable de réaliser des prélèvements avec un milieu de transport spécifique par site pour avoir la meilleure corrélation possible entre la situation clinique et la culture en laboratoire ".

La technique de prélèvement actuellement recommandée est la suivante (DAHLEN, 1993 ; WOLF, 2005) :

Les prélèvements doivent être effectués au moins deux heures après toute prise d'aliments, de boisson ou de brossage des dents. La plaque dentaire supra gingivale est d'abord éliminée à l'aide de curettes, de compresses et de sérum physiologique stérile. Après nettoyage, les sites choisis sont isolés de la salive par des rouleaux de coton salivaire puis séchés à l'air. Une pointe de papier stérile est saisie avec une précelle stérile, et introduite dans la poche à analyser jusqu'à sentir une résistance. Après dix à vingt secondes, la pointe est retirée.

Lors de son retrait la pointe ne doit pas entrer en contact avec de la salive, du pus, ou la muqueuse buccale. La pointe est alors introduite dans un tube de transport pour analyse.



Figure 6. Prélèvement par pointe de papier stérile (document société GUM).

## **2.1.2.2 Prélèvement du fluide gingival**

### **2.1.2.2.1 Rappel**

Le sillon gingivo-dentaire contient un liquide, le fluide gingival ou fluide créviculaire dont le volume augmente en période d'inflammation (PELLAT, 1991). Sa composition résulte d'interactions entre le biofilm adhérent aux surfaces dentaires et les cellules des tissus parodontaux (CHAMPAGNE, 2003).

On retrouve dans le fluide gingival :

- des métabolites provenant des bactéries, du métabolisme gingival, du sang
- des électrolytes
- de nombreuses enzymes
- des cellules (cellules épithéliales desquamées, leucocytes...)
- des cytokines

L'analyse des composants spécifiques du fluide gingival apporte des informations sur le métabolisme cellulaire locale du sillon gingival et donc sur l'état de santé parodontale du patient.

Nous détaillerons ultérieurement les marqueurs de la maladie parodontale contenus dans le fluide gingival.

### **2.1.2.2.2 Techniques de prélèvement**

Des techniques très variées ont été utilisées pour prélever des échantillons de fluide (prélèvement par bandelettes de papier absorbantes, par micropipettes, par rinçage sulculaire, par bandelettes de papier plastique).

POULET et coll. ont réalisé en 1995 une étude comparative entre les trois techniques de prélèvement les plus couramment utilisées afin de retenir celle qui permet d'obtenir un maximum d'exsudat avec un certain nombre de critères techniques et pratiques :

- quantité suffisante pour les études envisagées
- fiabilité
- reproductibilité

Trois méthodes ont été retenues :

- par pointes de papier endodontiques (PP)
- par micro seringues d'Hamilton (H)
- par micropipettes ou micro capillarité (C)

#### **2.1.2.2.2.1 Description des techniques**

##### **2.1.2.2.2.1.1 Prélèvement par pointe de papier**

Des pointes de papier sont pesées dans leur flacon de transport à l'aide d'une balance de sensibilité 0,01µg, avant prélèvement.

Elles sont ensuite placées dans le sillon gingival jusqu' à sensation de résistance, pendant 15 secondes en évitant tout contact avec les muqueuses jugales.

Après prélèvement, la pointe est replacée dans son flacon de transport hermétique, et l'ensemble est pesé dans les mêmes conditions que précédemment. La densité de fluide gingival étant admise comme égale à celle de l'eau, la différence entre le poids avant et après prélèvement représente la quantité de fluide recueillie.

##### **2.1.2.2.2.1.2 Prélèvement par micro seringue d'Hamilton**

L'extrémité de la seringue est introduite dans la poche parodontale jusqu'à la première sensation de résistance. Puis le piston est actionné lentement dans le sens d'une aspiration qui dure une quinzaine de secondes. La quantité est directement lue sur le corps de la seringue.

##### **2.1.2.2.2.1.3 Prélèvement par capillaire**

Des capillaires de diamètre et longueur connus sont utilisés. Ils sont étalonnés au préalable et une courbe de référence est établie. L'extrémité du capillaire est insérée dans le sillon gingival et on laisse monter le fluide par capillarité pendant trente secondes. Puis une marque est réalisée sur le tube à l'aide d'un marqueur très fin indélébile, au niveau où le fluide s'est stabilisé.

Le capillaire est ensuite reporté sur la courbe de référence, et l'interférence entre cette courbe avec la marque réalisée donne la quantité recueillie.

### 2.1.2.2.3 Résultats

L'analyse comparative des différents critères techniques et pratiques est représentée dans le tableau 11 :

	<b>Hamilton</b>	<b>Pointes papier</b>	<b>Capillaires</b>
<b>Quantité</b>	+ +	+ + + +	+ +
<b>Fiabilité</b>	+ + +	+	+ + +
<b>Reproductibilité</b>	+	+	+
<b>Mise en oeuvre</b>	+ + + +	+ + + +	-
<b>Matériel</b>	+ + + +	-	+ + + +
<b>Technologie</b>	+ +	-	+ +

**Tableau 11. Analyse comparative des différentes techniques de prélèvement du fluide gingival (POULET, 1995).**

Les conclusions montrent :

- que la technique des capillaires est fiable et permet de recueillir des quantités suffisantes de fluide. Cependant elle ne peut être utilisée qu'en présence d'une pathologie avancée avec des poches profondes dans les sites antérieurs. Le fait qu'elle ne soit pas d'une mise en œuvre aisée interdit son utilisation dans les secteurs postérieurs qui représentent pourtant un pourcentage important des sites atteints. De plus, l'emploi des capillaires semble induire une inflammation surajoutée par rapport aux autres techniques.
- que la technique par pointe de papier, bien qu'étant d'une mise en œuvre aisée, nécessite par la suite un matériel très important et une technologie délicate afin d'obtenir une quantité de fluide utilisable. De plus du fait de leur très grand pouvoir absorbant, les pointes de papier risquent de prélever d'autres liquides organiques (salive résiduelle, liquide interstitiel...) ; enfin, on ne peut pas être sûr que le pouvoir absorbant de deux pointes de papier choisies au hasard soit identique.
- que la technique par micro seringue permet de recueillir des collections aussi bien dans les sites antérieurs que postérieurs de façon reproductible. Les quantités de fluide obtenues sont faibles mais directement utilisables pour les analyses biochimiques. Cette technique apparaît comme la plus fidèlement reproductible, l'une des moins agressives mais surtout la plus facile à utiliser par un opérateur spécialisé.



## **2.2 LES TESTS BACTERIENS**

Le but des tests identifiant les pathogènes bactériens est d'établir la composition de la flore sous gingivale, qui varie de façon significative parmi les sujets atteints de parodontite. Ils permettent ainsi, en fonction des bactéries retrouvées, d'instaurer un traitement adapté.

Différentes approches sont proposées pour déterminer les pathogènes parodontaux présents :

- Les cultures bactériennes
- Les tests immunologiques
- Les tests enzymatiques
- Les tests moléculaires
- La microscopie directe

### **2.2.1 LES CULTURES BACTERIENNES**

La technique de culture bactérienne utilisant un milieu semi sélectif ou non, dans un environnement anaérobie ou non, est considérée comme la méthode de référence pour déterminer la composition microbienne de la plaque sous gingivale. Cette méthode reste la norme à laquelle sont comparées toutes les autres analyses microbiennes. Elle représente le « Gold Standard » qui sert de référence pour comparer et valider les autres tests (ZAMBON et HARASZHY, 1995).

Son avantage essentiel est sa capacité, en principe, à identifier une majeure partie des composants de la flore bactérienne. Cet avantage est particulièrement important dans les parodontopathies impliquant des pathogènes inhabituels, elle permet également de réaliser des tests de susceptibilité bactérienne (antibiogramme et détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices CMI) afin de prescrire l'antibiotique le plus efficace (SLOTS et TINGS, 1997).

#### **2.2.1.1 Principe**

La première étape du diagnostic bactériologique est l'obtention de la souche bactérienne responsable des dommages observés chez les malades, afin de pouvoir l'étudier. Durant le processus infectieux les bactéries pathogènes se sont adaptées aux conditions de vie de l'hôte ; leur prélèvement va consister à les transférer dans un environnement dans lequel elles risquent de ne pas survivre. Cela impose des délais très brefs entre la collecte et l'étude des bactéries. Cela impose aussi l'utilisation d'un milieu de transport qui permette de conserver les bactéries à l'état vivant, dans des conditions aussi proches que possibles de son milieu d'origine afin de ne pas en modifier le contenu.

### **2.2.1.1.1 Isolement des bactéries**

Pour les cultures bactériennes, la technique de prélèvement par pointes de papier stérile est considérée comme la technique de choix en raison de sa reproductibilité (DAHLEN, 1993) et de son efficacité dans la collecte des bactéries anaérobies (ZAMBON et coll., 1985).

Généralement, on prélève dans chaque sextant au niveau du site présentant la plus grande profondeur de poche. La technique de prélèvement par pointe de papier stérile a déjà été détaillée précédemment.

### **2.2.1.1.2 Transport**

Le prélèvement effectué, le milieu de transport va servir d'hôte artificiel intermédiaire entre le milieu de prélèvement et le milieu d'étude.

Le milieu de transport utilisé est le VGMA III décrit par MOLLER en 1966, il s'agit d'un milieu semi-gélosé afin d'éviter une trop grande oxygénation. Il contient une partie nutritive pour maintenir la vitalité bactérienne et une partie inhibitrice pour éviter qu'une souche prenne le dessus sur une autre. Enfin, c'est un milieu équilibré du point de vue ionique pour protéger la structure bactérienne fragile. A l'arrivée, il ne faut pas que le ratio de bactéries ait changé afin que le prélèvement soit le reflet de la population sous-gingivale.

D'après DAHLEN (1993), ce milieu permet de conserver les bactéries et les anaérobies pendant 24 heures, certaines espèces comme *Pg y* vivant jusqu'à 6 jours.

Les échantillons sont ensuite adressés par simple courrier au laboratoire d'analyses et doivent être traités dans un délai de 48 heures après le prélèvement. Le temps de transport est important car il conditionne la vitalité des germes ; celui-ci est dépendant des aléas de la vie (grève, problème de transport, variation de température...), surtout si le laboratoire est loin du lieu de prélèvement (SAVITT, 1988).

### **2.2.1.1.3 Identification des bactéries**

Au laboratoire, les bactéries vont êtreensemencées sur un milieu de culture. Dans de nombreux cas, un diagnostic de présomption peut être porté dès le stade du prélèvement. L'identification des bactéries se fait en corrélation avec les données cliniques.

Les échantillons de plaque sont d'abord mélangés par ultrasons ou par un vortex, puis vient l'étape de l'ensemencement.

Comme les exigences particulières des bactéries dont la présence est soupçonnée sont encore inconnues à ce stade du diagnostic, la règle est d'ensemencer divers milieux, enrichis ou non en facteur de croissance :

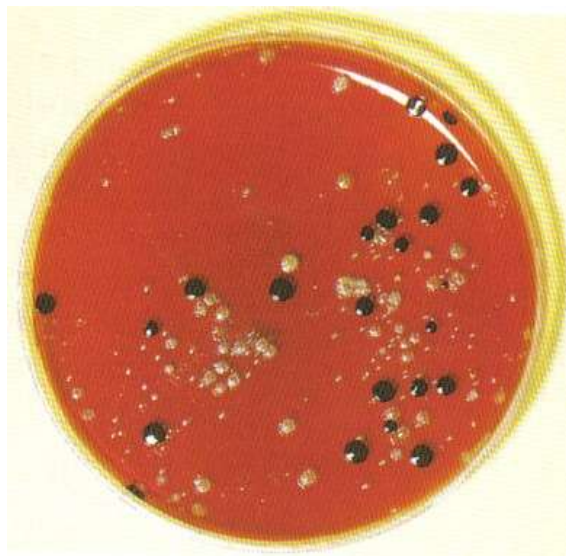
- les milieux non sélectifs : ils permettent de cultiver beaucoup d'espèces bactériennes sans en modifier la croissance. Ils fournissent à l'examineur la possibilité de détecter des espèces bactériennes non suspectées, à condition que ces espèces puissent croître dans des conditions non spéciales.
- les milieux sélectifs : ils contiennent des agents de nutrition et des agents d'inhibition ; ils favorisent ainsi la croissance de certaines espèces au détriment des autres. Cette sélection permet d'augmenter la sensibilité de détection après culture lorsque l'échantillon de départ contient un faible niveau de bactéries recherchées ou lorsque les bactéries que l'on recherche ne croissent pas ou mal sur des milieux non sélectifs. L'utilisation de ces milieux sélectifs impose la recherche de bactéries cibles. Ainsi le TSVB décrit par SLOTS en 1982 est utilisé pour faire croître sélectivement Aa, tandis que le CVE permet de cultiver Fn (WALKER et coll, 1979).

Les échantillons ensemencés sur les différents milieux sont ensuite placés dans une atmosphère aérobie ou anaérobie. Comme la plupart des pathogènes parodontaux sont anaérobies (capnophiles pour Aa), il est nécessaire de les faire croître dans une enceinte recréant leur milieu de vie. L'anaérobiose est obtenue par trois techniques :

- par BIOBAG, c'est un sac scellé contenant un générateur d'anaérobiose ; la technique est peu coûteuse mais peu efficace
- par une jarre d'anaérobiose ; c'est un environnement hermétique contenant également un générateur d'anaérobiose
- par une chambre anaérobique (type Bactron® anaerobic chamber, Sheldon Mfg, Oregon). Cette technique utilise un système de sas dans lequel il n'y pas de rupture de la chaîne d'anaérobiose contrairement aux deux autres méthodes ; c'est la plus efficace.

Le temps de culture varie de trois jours à trois semaines.

Une première culture d'isolement des différentes bactéries de l'échantillon est réalisée (figure 7). Puis un repiquage est effectué avec les bactéries isolées pour n'obtenir que des cultures « pures » (figures 8 et 9). Ces bactéries clonées servent pour les tests d'identification.



**Figure 7. Culture de bactéries anaérobies sur des milieux de gélose au sang (WOLF, 2005).**

La dernière étape est celle de l'identification proprement dite (SEBALD et PETIT, 1994) :

- elle débute par un simple examen microscopique des préparations non fixées (mobilité ou immobilité des bactéries, aspect des colonies) : c'est l'examen direct. Cet examen taxonomique permet d'identifier les morphologies caractéristiques d'un genre bactérien.
- les préparations sont ensuite colorées avec des colorations standard comme la coloration de Gram ou le bleu de Méthylène.
- les informations recueillies sur la taille et la morphologie des colonies ainsi que leur pigmentation permettent de conforter le diagnostic de présomption de début d'examen.
- le diagnostic est confirmé par l'utilisation des résultats de tests standardisés pour chaque famille de bactéries. Il s'agit de galeries d'identification enzymatique et biochimique, comportant une série d'épreuves nécessaires et suffisantes au diagnostic des principales espèces pathogènes :

- recherche du type trophique : anaérobie- aérobie
- révélation d'enzymes : catalase, oxydase, protéase
- analyse des voies métaboliques : fermentation des sucres, voies azotées
- indicateur de ph.

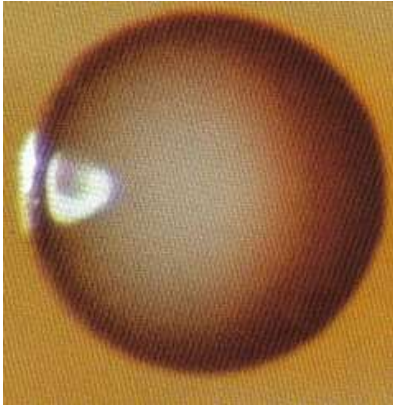


Figure 8. Colonie de *Porphyromonas gingivalis* (WOLF 2005)



Figure 9. Colonie d' *Agregatibacter actinomycetemcomitans* (WOLF 2005)

D'après VERNER (2007), " l'identification des différents pathogènes parodontaux donne les résultats suivants :

▪ *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* :

Coccobacille à Gram négatif, capnophile, non mobile, adhérent fortement à la gélose, translucide, non fluorescent.

Son organisation se fait en deux types :

- Petites colonies de 0.5mm bombées, lisses, brillantes, irrégulières.
- Colonie de 0.5 à 1mm de diamètre à surface rugueuse, aux contours irréguliers, en forme de grain de sable, avec une structure étoilée centrale (figure 9)

Catalase positif, oxydase négatif

▪ *Capnocytophaga* :

Bacilles à Gram négatif, capnophile

Deux types de colonies

- 2-5mm de diamètre rose ou jaune-orangé, étalées à bords irréguliers
- 1-2mm bombées, brillantes translucides ou pigmentées rose/ jaune/ blanc

Grasses, glissent sur la gélose

Catalase négatif, oxydase négatif

- *Eikenella corrodens* :  
Bacille à Gram négatif  
Colonies étendues de 2-4mm en gagnant 1mm par jour, contour irrégulier, rugueuses, odeur de chlore  
Catalase négatif, oxydase positif
  
- *Fusobacterium nucleatum* :  
Long bacille Gram négatif, anaérobie strict  
Colonies de 2-4mm, bleues violacées, mouchetées, bords irréguliers, grasses avec production d'un suintement de gélatinase.  
Catalase négatif, oxydase négatif.
  
- *Porphyromonas gingivalis* :  
Bacille de petite taille, Gram négatif, anaérobie strict, non sporulé et immobile  
Colonies de 1-3mm, rondes, crémeuses, bords irréguliers, lisses, hydrophobes, hémolytiques, marrons (figure 8).  
Catalase négatif, oxydase négatif.
  
- *Prevotella intermedia* :  
Bacille, Gram négatif, anaérobie strict, non sporulé, immobile  
Colonies 1-4mm, lisses, bombées, bords irréguliers, hydrophobes, non hémolytiques, beige foncé, opaques
  
- *Tannerella forsythia* :  
Bacille fusiforme, Gram négatif, anaérobie strict, non sporulé, immobile  
Colonies rondes, jaunâtres  
Catalase positif, oxydase négatif ".

#### 2.2.1.1.4 Antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence d'antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celles-ci.

D'après KAMAGATE et coll. (2001), " la concentration minimale inhibitrice (CMI) se définit comme étant la plus faible concentration d'un antibiotique inhibant totalement la prolifération d'un nombre défini de bactéries après 18 heures de culture à 37°C. La détermination de la CMI permet d'apprécier l'efficacité des agents antibactériens "in vivo". Son calcul repose sur des techniques standardisées selon des normes internationales qui facilitent les comparaisons des profils de sensibilité des espèces bactériennes. Il s'agit généralement de la concentration critique la plus élevée retenue pour les bactéries anaérobies facultatives. Toute souche dont la CMI est supérieure à cette concentration est considérée comme résistante et inversement, toute souche dont la CMI est inférieure ou égale à cette concentration est considérée comme sensible".

Les antibiogrammes sont le plus souvent réalisés par la technique de diffusion en gélose ou la méthode des disques (figure 10). Après isolement et identification, les souches bactériennes sont ensemencées sur un milieu gélosé, par exemple la gélose de Wilkins-Chalgren qui permet un ensemencement en nappe. La technique est la suivante :

- la surface de la gélose est ensemencée uniformément avec le micro-organisme à étudier.
- des disques de papiers buvards imprégnés des différents antibiotiques testés sont ensuite disposés sur la gélose ; chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose et détermine des concentrations inversement proportionnelles à la distance par rapport au disque.
- la croissance bactérienne sur ce type de milieu produit des zones circulaires d'inhibition de croissance bactérienne de taille variable autour des disques imprégnés d'antibiotiques
- après une incubation de 24 à 72 heures en anaérobiose à 37°C, les disques apparaissent entourés d'une zone d'inhibition dont le diamètre permet de mesurer la CMI (la culture s'arrête dans la gélose, là où il existe une concentration égale à la CMI). Le système disque-milieu de culture est étalonné au préalable avec un grand nombre de souches de références de CMI connues, déterminées par les méthodes de références. On trace ainsi la droite de régression ou "courbe de concordance", donnant la correspondance entre les CMI et les diamètres des zones d'inhibition pour les disques et le milieu de culture considérés. Après, on mesure les diamètres des zones d'inhibition, puis on les reporte sur le graphique pour déduire les CMI.

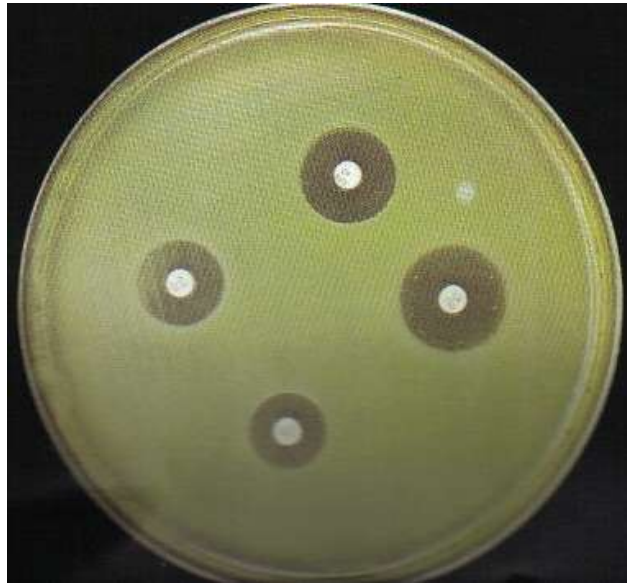


Figure 10. Antibiogramme déterminé par la méthode des disques sur gélose (WOLF 2005).

Les résultats sont ensuite exprimés en trois catégories en fonction de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques testés :

- Sensibles (S)
- Intermédiaire (I)
- Résistante (R)

Cette méthode, par sa simplicité, sa facilité et sa rapidité de réalisation constitue la technique de choix en bactériologie clinique (KAMAGATE et coll., 2001). Le laboratoire adresse au praticien le résumé de l'analyse bactériologique prescrite (le compte en valeur relative ou absolue des bactéries rencontrées, les résultats des antibiogrammes éventuellement réalisés avec les CMI). Les conclusions du laboratoire doivent être analysées en fonction des données cliniques.

### 2.2.1.2 Intérêts cliniques

La culture bactérienne reste actuellement la norme à laquelle tous les autres tests de détection des bactéries sont comparés ; elle représente aujourd'hui le « Gold Standard » et est traditionnellement la méthode de choix pour l'examen de la flore bactérienne. Les renseignements fournis par ces études microbiologiques restent une aide précieuse pour les chercheurs, en particulier pour l'identification d'organismes associés à des formes cliniques particulières de la maladie parodontale.

Le praticien pourra également confirmer ou non son diagnostic d'une des différentes maladies parodontales puisque chacune d'elles peut être associées à des flores sous gingivales particulières.



Un des avantages majeurs de la culture bactérienne est en effet son efficacité, en principe, à détecter la majorité des composants de la flore orale (SLOTS et TINGS, 1997). Même si ce n'est pas la seule méthode utilisée pour identifier les bactéries d'un échantillon de plaque, c'est en revanche la seule capable de détecter le plus grand nombre de pathogènes présents dans cet échantillon. Ceci est particulièrement intéressant pour mettre en évidence les pathogènes communs comme les pathogènes les plus inhabituels. La quantité de micro-organismes cultivables peut être augmentée grâce à l'utilisation de milieux de cultures sélectifs, en particulier ceux mis au point pour l'identification de Pg, Aa et Fn. Le seuil de détection varie de  $10^4$  à  $10^5$  bactéries pour les milieux non sélectifs. Il est de  $10^3$  en ce qui concerne les milieux sélectifs (SUCHETT-KAYE, 2001).

Néanmoins comme la sensibilité de ces milieux décroît à mesure que la sélectivité augmente, le risque est de laisser passer et de méconnaître d'autres agents pathogènes. Ainsi, il est recommandé aux laboratoires d'utiliser des milieux sélectifs pour déceler les faibles niveaux de pathogènes spécifiques et également d'utiliser des milieux non sélectifs.

La culture se révèle particulièrement précise chez les patients qui ne répondent pas à un traitement conventionnel. SLOTS et coll. (1988) ont en effet rapporté qu'un tiers des sites réfractaires testés hébergeaient des levures, des bacilles tels que des *Pseudomonas* ; or ces organismes ne peuvent aujourd'hui être détectés qu'après culture.

WENNSTROM et coll. (1989) ont suivi 25 sites chez des patients qui ont continué après traitement à avoir des niveaux élevés de Aa, Pi ou Pg. Au bout d'un an, 20% des sites ont présenté une perte d'attache de 2 mm, alors qu'aucune perte n'était constatée sur les sites où ces organismes étaient absents. Les auteurs ont conclu que cette absence était un meilleur élément de prédiction de non perte d'attache que la présence de ces bactéries ne l'était d'une activité pathologique.

Même si la capacité prédictive des informations fournies par la culture des germes en matière de détérioration des tissus parodontaux reste à clarifier, cette technique est l'une des voies de recherche pour la détection des sujets à risque et de leurs sites afin de poser le diagnostic précoce des maladies parodontales infra cliniques (GREENSTEIN, 1990).

La culture bactérienne avec détermination de l'antibiogramme est la méthode de choix pour la détermination in vitro de la susceptibilité d'un pathogène donné à un antibiotique donné. Si dans le futur les techniques de biologie moléculaire comme l'amplification par réaction en chaîne peuvent

faciliter l'identification de plasmides ou de molécules servant de base à la résistance bactérienne, les cultures restent pour l'instant la méthode standard (LOOMER, 2005).

Selon VAN WINKELHOFF (2003), le choix de l'antibiotique doit toujours se faire après une analyse microbiologique complète et sérieuse, cela dans le but d'adapter au mieux le traitement et de limiter les résistances bactériennes acquises.

Dans les infections parodontales commensales, le traitement antimicrobien seul peut parfois être instauré pour réduire le nombre de bactéries parodontopathogènes, en particulier chez les patients immunodéprimés. Dans les surinfections parodontales, les entérobactéries, staphylococci et levures peuvent gêner l'éradication des pathogènes parodontaux classiques et s'opposer à une bonne cicatrisation. Une antibiothérapie adjuvante sera alors indiquée dans certains types de surinfection ; deux antibiotiques ayant des spectres différents pourront être associés pour éliminer les bactéries causales.

Aa et Pg peuvent provoquer des infections parodontales vraies. Le traitement doit donc éliminer totalement ces pathogènes majeurs, surtout chez les individus susceptibles. Si une antibiothérapie seule peut être efficace, elle ne diminue pas de façon prévisible les taux de Aa et Pg sous le seuil de détection et doit être associée à un traitement mécanique.

### **2.2.1.3 Limites**

Bien que présentant de nombreux avantages, la culture bactérienne reste, du fait essentiellement des impératifs techniques que sa mise en œuvre suppose, une méthode qui prend beaucoup de temps, qui est difficilement « standardisable » et qui reste coûteuse (HORZ, 2007 ; SIXOU, 2003 ; LOOMER, 2005).

La culture bactérienne est une technique très sensible. Ainsi, les résultats de ce type de test dépendent souvent de très nombreuses variables, dont certaines sont difficilement objectivables, et qui peuvent intervenir à chacune des étapes de la réalisation de ce test, depuis le prélèvement jusqu'à l'interprétation de résultats :

- lors du prélèvement : compétence du praticien, choix et fiabilité de la technique de prélèvement, contamination éventuelle du prélèvement (il s'agit de la limite manipulateur dépendant)

- lors du transport : la mise en culture de l'échantillon doit avoir lieu dans les 48 heures suivant le prélèvement ; pendant ce laps de temps, le ratio de bactéries dans l'échantillon doit rester identique pour que celui-ci soit représentatif. Le transport doit ainsi permettre la survie des bactéries anaérobies et capnophiles tout en limitant les phénomènes de compétition et d'inhibition bactérienne (SIXOU, 2003 ; HORZ, 2007). Or ce temps de transport qui conditionne la vitalité des germes dépend des aléas de la vie, d'autant plus si le laboratoire est loin du lieu de prélèvement (SAVITT et coll., 1988).
  
- lors de la mise en culture : des variables interviennent lors de la dispersion, la dilution et la sélection du milieu de culture ; ces nombreuses manipulations, qui nécessitent en outre un personnel spécialisé et compétent, peut rendre compte des résultats contradictoires entre les différents laboratoires.
  
- lors de l'interprétation des résultats : compétence du personnel de laboratoire, en particulier au niveau de la connaissance de la microbiologie orale, permettant le diagnostic d'espèces inhabituelles.

SALKIN et coll. (2003) ont mené une étude sur 20 patients comparant deux échantillons de plaque prélevés simultanément sur un même site pour être analysés séparément dans un même laboratoire d'analyses. L'analyse consistait en l'identification des bactéries présentes dans l'échantillon ainsi que la sensibilité à différentes molécules antibiotiques. Dans la moitié des cas, les résultats concernant l'identification des bactéries n'étaient pas concordants.

MELLADO et coll. (2001) ont comparés pour 23 patients deux échantillons de plaque prélevés simultanément au niveau d'un même site et soumis à analyse par deux laboratoires indépendants. Les résultats des deux laboratoires étaient dans la plupart des cas différents ; dans aucun cas les deux laboratoires n'étaient d'accord sur la présence d'espèces bactériennes identiques. Quant à l'analyse de la sensibilité aux antibiotiques, les résultats des deux laboratoires divergeaient dans la majorité des cas.

Les auteurs de ces deux études concluent que le manque de concordance entre les résultats de deux laboratoires indépendants et ceux obtenus au sein d'un même laboratoire pour un échantillon provenant d'un même site doit amener les praticiens à questionner l'utilité de ce test. Cela remet en cause la reproductibilité du test. Pour eux, l'administration d'une association antibactérienne type amoxicilline-métronidazole constitue une approche plus rationnelle que la réalisation d'une culture et

d'un antibiogramme, quand une antibiothérapie est indiquée. Cette approche empirique serait ainsi beaucoup plus avantageuse en terme de temps et de coût.

Le fait que les cultures bactériennes soient utilisées comme le « Gold Standard » auprès duquel sont évalués les autres tests pose quelques problèmes. En effet, en plus d'être difficile à standardiser, cette technique nécessite des bactéries viables et cultivables. Or, toutes les bactéries présentes dans la poche parodontale ne sont pas viables ou cultivables. Certaines bactéries sont déjà mortes ou initialement viables, mais incapables de survivre après le stress accumulé lors des prélèvements, la dispersion de l'échantillon, l'exposition à l'oxygène ou encore à cause du manque de nutriments dans les milieux de culture.

Il faut rappeler que les informations issues des cultures proviennent d'une fraction seulement du nombre de bactéries totales présentes dans l'échantillon, puisque aucun milieu de culture unique, aucune batterie de milieux sélectifs ou non, ni aucune combinaison de milieux et de méthodes de cultures ne peuvent couvrir l'ensemble des bactéries (ZAMBON et HARAZTHY, 1995). Toutes les bactéries présentes dans la poche ne sont pas cultivables, par exemple, la présence de Td n'est pas détectée par la culture ; ceci a pour conséquence de donner des résultats qualifiés de faux négatifs quand on utilise cette technique pour comparer des tests qui ne requièrent pas de bactéries cultivables ou viables.

Les cultures bactériennes sont également coûteuses ; la nécessité d'un matériel spécifique, associée aux nombreuses manipulations en font une technique lourde et onéreuse. Cette technique est par ailleurs lente puisqu'un délai de 2 à 3 semaines est nécessaire pour obtenir les résultats.

En conclusion, les cultures bactériennes restent encore à l'heure actuelle la technique de référence par rapport aux autres tests microbiologiques. Malgré le fait qu'elle se révèle longue et coûteuse, la culture bactérienne est toujours considérée par de nombreux auteurs comme une méthode de choix pour l'analyse bactériologique des différents sites parodontaux, en particulier ceux qui ne répondent pas à la thérapie conventionnelle. Enfin, elle constitue le seul moyen d'établir un antibiogramme, préalable primordial et indispensable avant un traitement antibiotique pour choisir la molécule la plus efficace et ainsi limiter les résistances acquises lors de l'utilisation d'antibiotiques inadaptés.

La complexité des approches bactériologiques par la culture des bactéries anaérobies a conduit les bactériologistes à utiliser d'autres stratégies pour l'identification bactérienne en développant les techniques immunologiques et moléculaires (SIXOU, 2003).

## 2.2.2 LES TESTS IMMUNOLOGIQUES

### 2.2.2.1 Principe

Les tests immunologiques destinés à caractériser les bactéries présentes au sein de la plaque dentaire sont basés sur les réactions antigènes-anticorps. Ils permettent l'identification de micro-organismes spécifiques et déterminent des niveaux d'anticorps spécifiques face aux agents pathogènes. Cette analyse met en évidence la présence probable des bactéries qui les ont suscités au niveau du parodonte.

Les techniques immunologiques peuvent permettre la détection des antigènes bactériens (détection directe de la bactérie) ou d'immunoglobulines de type IgG ou IgM (détection de la réaction immunitaire humorale de l'hôte dirigée contre la bactérie recherchée). Ces antigènes peuvent être retrouvés au niveau d'un échantillon de plaque ou du sérum.

Ces anticorps vont se fixer sélectivement sur des antigènes bactériens, et seront détectés, soit directement par l'utilisation d'un anticorps primaire ayant un marqueur fluorescent (immunofluorescence directe), soit par l'utilisation d'un deuxième anticorps marqué qui reconnaîtra spécifiquement le premier (immunofluorescence indirecte) (SAUVETRE, 1994)

On dispose d'une grande variété de tests pour effectuer cette évaluation immunologique :

- la microscopie à immunofluorescence
- l'immunoabsorption pour le test ELISA (Enzyme Linked Absorbent Assay)
- les réactions d'agglutination au latex
- la cytométrie de flux

Il existe deux types d'anticorps pour réaliser ces différents tests :

- les anticorps monoclonaux : ils réagissent exclusivement avec une configuration moléculaire déterminée : la bactérie-cible. Ainsi, seules les espèces dont on possède un anticorps spécifique seront identifiées.
- les anticorps polyclonaux : ils reconnaissent des structures moins spécifiques et réagissent ainsi souvent de façon croisée avec plusieurs espèces bactériennes.

La première étape consiste à prélever un échantillon de plaque dentaire chez le patient ; les techniques de prélèvement et le choix du site de prélèvement ont déjà été abordés.

La réalisation de ce type de test ne requiert pas d'échantillon aseptique, ni la viabilité des organismes testés (SLOTS, 1997).

#### **2.2.2.1.1 Microscopie à immuno-fluorescence**

La détection des bactéries se fait en exposant les antigènes à des anticorps marqués à la fluorescéine qui donne une fluorescence verte. Les bactéries placées sur leur support en verre se fixent par l'intermédiaire de leurs antigènes de surface spécifiques (structures telles que les pili, fimbriae...) aux anticorps spécifiques fournis qui deviennent visibles à la lumière ultraviolette. Ainsi, observés au microscope, les complexes antigènes anticorps-fluorescéine apparaissent luisants, d'où une identification facile.

#### **2.2.2.1.2 Immunoabsorption enzymatique, ELISA**

##### **2.2.2.1.2.1 Principe**

Les tests ELISA (Enzyme Linked Absorbant Assay) sont basés sur l'agglutination des antigènes bactériens avec des anticorps.

Dans cette technique, les anticorps correspondant aux bactéries que l'on recherche sont fixés à des cupules en plastique ou en polystyrène. Le sérum ou le fluide gingival provenant des patients est mis en contact avec les anticorps. Les antigènes bactériens circulants reconnaissent les anticorps et s'y fixent spécifiquement (figure 11). Après rinçage, on applique un anticorps anti-anticorps, couplé à une enzyme, habituellement de la peroxydase ou de la phosphatase alcaline. Si le complexe se forme, on obtient une réaction colorimétrique facilement détectable (SAUVETRE, 1994). L'intensité de la réaction permet une semi-quantification. A l'inverse, si le sérum ne contient pas les antigènes, il n'y aura pas de fixation donc pas de formation de complexe. Après rinçage, en l'absence de l'enzyme, il n'y aura pas de réaction colorée.

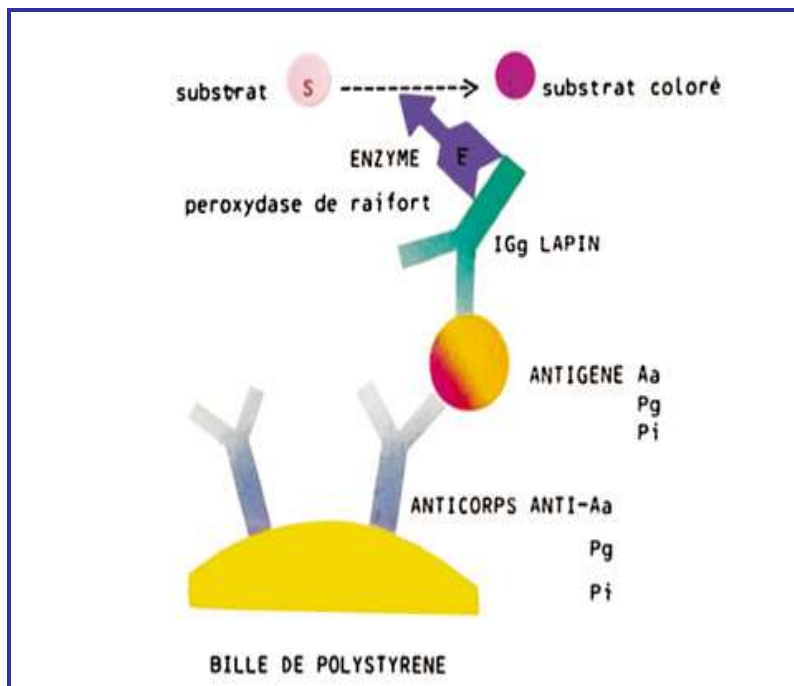


Figure 11. Mécanismes immuno-enzymatiques du test Evalusite®.

#### 2.2.2.1.2.2 Présentation du kit EVALUSITE

La société Eastman Kodak (USA) a mis au point dans les années 90 le test Evalusite® pour la détection de Aa, Pg et Pi. Ce test n'est plus commercialisé à l'heure actuelle mais son principe de fonctionnement mérite d'être décrit du fait notamment de sa simplicité d'utilisation. Le kit Evalusite® comprend 10 cellules tests (deux puits réactionnels et un puit témoin dans chaque cellule) et cinq réactifs sont nécessaires ; les puits réactionnels correspondant à des membranes sur lesquelles sont fixés des anticorps spécifiques.

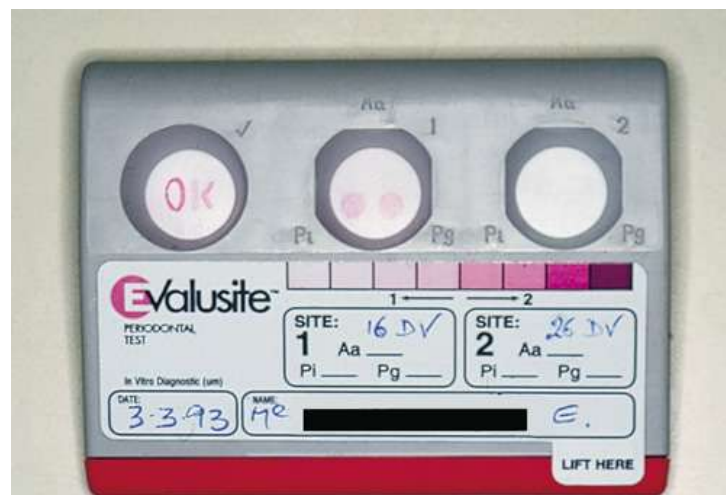
Les différentes étapes se déroulent ainsi :

- un prélèvement de plaque sous gingivale est effectué au niveau des sites choisis
- la pointe de papier est placée dans un tube dans lequel une solution (A) d'enzymes protéolytiques hydrolyse les liaisons peptidiques retenant les antigènes membranaires à la surface des bactéries.
- le liquide est ensuite versé dans un puit réactionnel de la cellule test contenant les anticorps anti-Aa, anti-Pg et anti-Pi : une réaction antigène-

anticorps peut se produire si les antigènes de ces micro-organismes sont présent dans l'échantillon.

- une solution de peroxydase de raifort conjuguée à des anticorps Ig G de lapin anti-Aa, anti-Pg et anti-Pi est ensuite ajoutée
- une solution de lavage tensioactive élimine des antigènes ou conjugués qui n'ont pas formé de complexe.
- une solution incolore virant au rose-rouge en présence de peroxydase si les complexes sont présents est ajoutée ; enfin une solution d'acide benzohydroxamique stoppe la coloration.

Ces réactions se déroulent en cinq minutes et la lecture des cellules doit être effectuée dans les quinze minutes. Les pastilles sur les membranes (figure 12) témoignent de la présence de bactéries ; l'intensité de la réaction révélée par l'intensité de la couleur permet l'évaluation du nombre relatif de bactéries (ZAMBON et COLL 1995).



**Figure 12. Résultat du test Evalusite® : la présence des bactéries est révélée par l'apparition d'une pastille dont la couleur permet une semi quantification.**

### 2.2.2.2 Avantages

Les tests immunologiques présentent un certain nombre d'avantages (HORZ, 2007 ; LOOMER, 2005 ; SIXOU, 2003). A la différence des techniques de culture bactérienne qui présentent un large spectre de détection bactérienne, les tests immunologiques sont capables d'identifier des bactéries hautement spécifiques, en particulier pour les tests utilisant des anticorps monoclonaux capables de réagir exclusivement avec une configuration moléculaire déterminée par la molécule cible.



Les techniques immunologiques ne requièrent pas la viabilité des organismes testés et se révèlent très précieuses pour détecter les bactéries et virus non cultivables *in vitro* ou pour lesquels les cultures ne permettent pas d'identification.

Le temps nécessaire à l'obtention des résultats peut aller de quelques minutes à quelques heures selon le type de test utilisé.

La microscopie à immunofluorescence possède des avantages sur les autres techniques immunologiques. WOLF et coll. (1991) ont développé cette technique en utilisant des cellules bactériennes comme phase solide avec différents anticorps monoclonaux, chacun étant spécifique des lipopolysaccharides des différentes espèces de pathogènes parodontaux. Le résultat pour cette technique montrait une sensibilité de 97 à 100% pour les espèces ciblées, une spécificité de 57 à 92% en fonction de l'espèce bactérienne recherchée. SLOTS et coll. (1985) ont testé la validité de la technique d'immunofluorescence indirecte pour évaluer la composition de la flore bactérienne de la plaque sous-gingivale en comparant les résultats obtenus avec culture. Dans 80% des cas les auteurs observent une concordance entre culture et immunofluorescence pour identifier les germes.

Pour ZAMBON et HARASZTHY (1995), la sensibilité de la technique pour identifier Aa et Pg comparée aux cultures atteint 80 à 100%. Ainsi cette méthode permet un test quantitatif rapide, mettant en évidence la présence d'espèces bactériennes recherchées grâce aux colorants fluorescents. La reconnaissance de bactéries fluorescentes isolées par leur morphologie caractéristique réduit la probabilité de résultats faussement positifs et procure une bonne spécificité ; ceci constitue un avantage certain sur les autres techniques immunologiques (SUCHETT-KAYE, 2001).

Les tests basés sur l'ELISA sont quant à eux, des tests d'utilisation simple, peu coûteux et standardisables ; ils peuvent être adaptés sous forme de kits utilisables en pratique courante.

### **2.2.2.3 Inconvénients**

Après avoir présenté les avantages des méthodes immunologiques, il convient d'insister sur les limites de ces techniques.

Ce sont des méthodes ciblées de recherche des micro-organismes ; on ne trouve que ce que l'on cherche et les espèces seront détectées uniquement si l'anticorps spécifique est disponible. La taille de l'échantillon prélevé doit être assez importante car la limite de détection reste encore élevée : de  $10^4$  à  $10^5$  bactéries détectées.

La spécificité est variable et dépend des réactifs utilisés ; on note une très haute spécificité avec les anticorps monoclonaux tandis qu'elle est médiocre dans le cas des anticorps polyclonaux. En effet les anticorps polyclonaux reconnaissant des structures moins spécifiques, ils réagissent souvent de façon croisée avec plusieurs espèces bactériennes entraînant un nombre important de faux positifs (GREENSTEIN, 1988). La quantification n'est souvent qu'une semi-quantification (approche approximative du nombre de bactéries présentes).

Un des inconvénients majeurs de la technique est qu'elle ne permet pas d'établir un antibiogramme et donc d'instaurer une thérapie antibiotique ciblée. De plus, la détection de bactéries mortes pose un problème pour l'évaluation de l'efficacité d'une antibiothérapie (SIXOU, 2003). Enfin les méthodes immunologiques n'autorisent pas une évaluation précise de l'activité de la maladie et l'on ne peut pas en prédire son évolution (GREENSTEIN, 1990).

La microscopie à immunofluorescence est essentiellement qualitative car il faut beaucoup de temps pour établir la proportion des différents organismes. Elle peut être pratiquée au cabinet dentaire, mais la nécessité de disposer de réactifs spécifiques et d'un microscope par immunofluorescence (microscope avec source de rayons ultraviolet) fait que ce genre de recherche est généralement effectué par un laboratoire spécialisé. La microscopie à immunofluorescence se révèle donc très coûteuse (SUCHETT-KAYE, 2001).

Pour TAROUNINE et coll.(1998), le test Evalusite® ne présentait pas les caractéristiques suffisantes recherchées dans un test d'identification bactérienne, par rapport aux techniques de références actuelles, représentées par les cultures et les sondes ADN. En effet, l'inconvénient majeur de ce kit est qu'il n'autorisait la détection que de 3 pathogènes parmi la douzaine impliquée dans les maladies parodontales. La commercialisation de ce test a donc été abandonnée depuis quelques années car la sensibilité trop faible était à l'origine de trop de faux négatifs.

En conclusion, les systèmes de détection des pathogènes du parodonte par des techniques immunologiques sont d'excellents outils de laboratoire destinés à la recherche, mais ils supportent mal l'adaptation à une présentation en kit qui, pour l'instant, est à l'origine d'une dégradation de la sensibilité et de la spécificité des résultats. Ces limites suggèrent la nécessité de développer des méthodes plus rapides et sensibles ; les progrès de la biologie moléculaire ont permis de développer des tests d'identification des micro-organismes basés sur le principe d'hybridation de l'ADN.

## **2.2.3 LES TESTS BASES SUR L'ANALYSE DES ACIDES NUCLEIQUES**

Il est largement reconnu qu'une grande proportion des microorganismes présents chez l'homme ne peut être cultivée dans les laboratoires d'analyse. Cette difficulté concerne notamment les pathogènes parodontaux. C'est pourquoi des techniques d'identification basées sur l'analyse de l'ADN des bactéries ont été développées.

Le diagnostic génétique repose sur les propriétés et la structure de la molécule d'ADN. La molécule d'ADN est composée de l'union de deux brins, enroulés en double hélice. Chaque brin est composé d'une longue chaîne de polydésoxyribonucléotides. Les deux chaînes d'ADN s'associent entre elles au niveau de leurs bases. Les bases sont au nombre de quatre et s'associent deux à deux : adénine-thymine et guanine-cytosine. Ces deux couples de bases sont dits complémentaires : les chaînes de nucléotides ont la propriété de s'apparier (s'hybrider) avec leur réplique complémentaire.

Les techniques génétiques offrent une diversité de tests et de moyens d'études très modernes, puissants et évolutifs. On distingue actuellement deux techniques de diagnostic biomoléculaire :

- le sondage moléculaire
- l'amplification en chaîne par la polymérase (PCR).

### **2.2.3.1 Les sondes nucléotidiques**

#### **2.2.3.1.1 Technique**

##### **2.2.3.1.1.1 Principe général**

Cette méthode diagnostique est fondée sur l'existence, pour tout micro-organisme, de parties spécifiques de son génome qui le distinguent de tout autre micro-organisme. Si l'on dispose d'une copie fidèle d'un gène, celle-ci pourra s'hybrider avec le gène dont elle est la copie. Cette copie pure porte le nom de sonde. Ces sondes peuvent être marquées avec un isotope radioactif ou non radioactif. Deux notions sont essentielles dans le concept de sonde : la spécificité, une sonde ne peut s'hybrider avec une forte affinité qu'avec le gène dont elle est la copie, et la sensibilité : le marquage permet le repérage et la quantification de la sonde et de son hybridation.

Une sonde est ainsi définie comme une séquence d'acides nucléiques d'au moins 20 nucléotides, complémentaire d'une séquence d'ADN ou d'ARN, avec laquelle elle s'hybride de manière stable et spécifique par réassociation de leur paires de bases (ANAES, 2002; INSERM, 1999).

Lorsque le double brin d'ADN est séparé (sous l'action de la chaleur ou d'un agent dénaturant), les paires de bases le sont aussi : c'est la dénaturation. Si le refroidissement se fait de façon progressive, l'hélice se reforme par appariement des deux brins : c'est l'hybridation ; cette hybridation ne peut se faire qu'entre deux séquences strictement complémentaires (KAPLAN et DELPECH, 1993).

### **2.2.3.1.1.2 Méthode**

#### **2.2.3.1.1.2.1 Obtention d'une sonde**

Pour préparer la sonde, on procède à la lyse de pathogènes spécifiques utilisés comme marqueurs.

La sonde constituée habituellement d'ADN peut être obtenue à partir de différents matériaux :

- la totalité ou un fragment du génome bactérien par des coupures sélectives et séparation par électrophorèse
- des gènes clonés par des plasmides.

Quatre étapes sont nécessaires pour l'obtention d'une sonde ADN :

- Isolement d'un fragment spécifique d'ADN chez une bactérie pathogène
- Introduction du fragment dans un vecteur (plasmide, bactériophage)
- Introduction du vecteur dans un organisme hôte (une autre bactérie, par exemple *Escherichia coli*)
- Sélection des clones ayant les propriétés désirées.

Plusieurs types de sondes génétiques existent, chacune présentant des caractéristiques différentes et n'étant pas utilisable pour le même usage. Les sondes à visée diagnostique doivent répondre à des impératifs de spécificité stricte limitant le plus possible les tests faussement positifs. Les principales catégories de sondes moléculaires sont les suivantes (SIXOU, 2003 ; INSERM, 1999 ; GMUR et GUGGENHEIM, 1994) :

- Les sondes génomiques globales : ce type de sonde utilise l'ensemble du génome bactérien marqué par des radioéléments ou par des éléments non radioactifs. La sonde est donc une macromolécule présentant des zones très spécifiques du micro-organisme cible

et des zones ubiquitaires, non spécifiques, qui seront à l'origine de nombreuses réactions d'hybridations croisées. Elles ont en effet l'inconvénient de se lier à des séquences d'ADN apparentées qui possèdent des caractéristiques communes et sont donc peu spécifiques. Elles ne conviennent pas pour des espèces comme Aa. Enfin le temps d'hybridation est long, 4 à 16 heures, par rapport aux sondes courtes (30 minutes).

- Les sondes génomiques par clonage aléatoire : la taille d'une sonde (nombre de paires de bases) est un critère important de qualité dans le choix d'une sonde à visée diagnostique. Trop courte, elle présentera une faible affinité pour sa cible. Cette faible affinité diminuera la sensibilité du test. Trop longue, la sonde présentera de nombreuses réactions croisées. Les sondes génomiques par clonage aléatoire ont une taille comprise entre 2 et 6 kb (kilobases). Cette fenêtre de taille semble être idéale pour favoriser une bonne hybridation et suffisamment courte pour sélectionner une séquence spécifique du microorganisme d'intérêt.
- Les sondes ADNc : ces sondes sont obtenues à partir d'ARN messenger purifié ou enrichi. Elles correspondent uniquement à des séquences exoniques. Elles sont principalement utilisées pour des diagnostics sur cellules eucaryotes.
- Les ribosondes : les ribosondes sont des séquences d'ARN simple brin. Elles sont obtenues par voie biologique en transcrivant *in vivo*, par une ARN polymérase un fragment d'ADNc ou d'ADN génomique inséré dans un vecteur possédant un promoteur fort. Ces sondes présentent l'avantage de pouvoir être radiomarquées de façon uniforme et de présenter une forte activité spécifique. Elles permettent de mettre en évidence des séquences très conservées chez les bactéries.
- Les oligosondes de synthèse : les oligosondes de synthèse sont de courtes séquences d'ADN monocaténaire, synthétisées *in vitro* par des automates. Elles dépassent rarement quelques dizaines de bases. Elles s'utilisent d'emblée en brin simple sans dénaturation préalable, mais sont plus difficiles à manier car facilement dégradées. Leur faible longueur est à l'origine d'une affinité faible nécessitant des conditions de lavage ou de posthybridation de faible stringence pour ne pas perdre le signal.

Ces différentes caractéristiques des sondes génétiques expliquent les divergences de résultats obtenus en diagnostic. Les sondes génomiques par clonage aléatoire semblent être très intéressantes pour le diagnostic. À l'inverse les sondes génomiques globales sont les moins adaptées. Les oligosondes peuvent être intéressantes si elles sont manipulées de façon adaptée.

#### **2.2.3.1.1.2.2 Hybridation**

La phase d'hybridation est l'opération qui consiste à réunir un brin d'ADN ou d'ARN avec un autre brin d'ADN ou d'ARN présentant une complémentarité de bases avec le premier (STRYER, 1997).

La réassociation entre deux séquences monocaténaïres se réalise lorsque les nucléotides complémentaires sont face à face. Ceci est un phénomène aléatoire conditionné par la fréquence de rencontre des molécules. Pour une température donnée, la probabilité de rencontre augmente avec la concentration de l'ADN ainsi qu'avec le temps. De même, certains facteurs comme la longueur des fragments, la complexité des séquences, la nature des acides nucléiques (ADN ou ARN) et la concentration ionique sont capables de modifier la vitesse de réassociation. Il existe différentes techniques d'hybridation de l'échantillon :

- hybridation en phase solide (Dot-blot)
- hybridation « sandwich »
- hybridation par transfert (Southern-blot)
- hybridation sur colonies
- hybridation en milieu liquide

La détection des sondes se fait ensuite sur des gels d'électrophorèse.

#### **2.2.3.1.1.2.3 Marquage des sondes**

Le marquage est le procédé qui permet d'identifier une séquence donnée parmi un ensemble de séquences. Ce marquage fait appel à différentes méthodes, radioactives ou non, et peut se faire sur la sonde même ou par le biais d'un relais immunologique (GUIRAUD, 1993) :

- le marquage radioactif : il se fait le plus souvent au niveau du phosphate, grâce à l'isotope  $P^{32}$  ; le marquage peut se faire directement, par « nick translation » ou par multi-amorçage aléatoirement. Cette méthode implique une logistique complexe et un coût d'utilisation élevé. En effet l'isotope  $P^{32}$  possède une demi-vie courte (15

jours), ce qui impose d'utiliser la sonde dans les jours qui suivent sa livraison au laboratoire, sous peine de voir décroître l'activité spécifique du marquage. Enfin, la manipulation d'éléments radioactifs nécessite un personnel qualifié et des locaux appropriés, ce qui rend illusoire l'utilisation du marquage radioactif en pratique courante pour la détection d'espèce bactérienne.

- le marquage non radioactif : ce sont des systèmes de marquage dits « froids » ; ils peuvent être enzymatiques, immunologiques ou chimiques, par action directe ou indirecte sur la sonde. Dans ce cas, la mise en évidence de l'hybridation sondable se fait par un signal couplé à la sonde par une coloration, une réaction enzymatique ou par luminescence. Les systèmes froids présentent le désavantage d'être peu sensibles par rapport aux systèmes radiomarqués mais ils sont plus faciles d'utilisation et moins coûteux.

#### **2.2.3.1.2 Kits commerciaux**

Il existe à l'heure actuelle de nombreux kits de détection des principaux pathogènes parodontaux utilisant les sondes ADN. Les plus courants sont les suivants :

- Affirm DP® Microprobe (USA) : sondes ADN pour Aa, Bf, Pi, Pg et Td
- BTd test ® BioTechnicaDiagnostic (USA) : sondes ADN pour Aa, Cr, Ec, Fn, Pi et Pg
- Omnigene® Omnigene (USA) : sondes ADN pour Aa, Pi, Pg, Ec, Fn, Td, Cr et Bf
- DMDx® / Pathotec (Suisse) : sondes ADN pour Aa, Pg, Pi, Ec, Bf, Cr, Td et Fn
- IAI Pado test® IAI (Suisse) : sondes ARN pour Aa, Pg, Bf et Td

Sur le marché américain, un appareil automatique basé sur les sondes ADN permet au praticien de ne pas déléguer à un laboratoire les analyses bactériennes. Le test Affirm DP® (MicroProbe Co.USA) est un test au fauteuil semi automatisé pour la détection de Pg, Aa, Bf, Pi et Td dans les échantillons de plaque. Le test peut être réalisé au cabinet dentaire en moins de 40 minutes. Les échantillons de plaque prélevés sont d'abord traités selon les instructions du fabricant et analysés par l' « Affirm processor ».

Les étapes sont :

- hybridation de l'ADN de la bactérie cible aux perles sur lesquelles sont fixées les sondes ADN
- hybridation d'une sonde sur le complexe formé
- formation du complexe enzyme-sonde : le substrat de l'enzyme est ensuite coloré en un produit bleu.

Les résultats positifs sont ainsi indiqués par une coloration bleue visible sur les perles, tandis que l'absence de coloration signe un niveau inférieur aux taux de détection fixés par le constructeur ; le test est donc négatif. Les résultats obtenus pour Bf et Pg sont comparables à ceux obtenus avec les cultures (SUCHETT-KAYE 2001).

Les autres tests utilisant les sondes ADN ne se font pas au cabinet dentaire. Les prélèvements de plaques sont envoyés à des laboratoires spécialisés. Le principal avantage par rapport au test au fauteuil est qu'un plus grand nombre de sondes et donc un plus grand nombre de pathogènes peut être détecté.

L'IAI Pado TEST® est commercialisé en France en collaboration avec la société Sunstar sous le nom Gum Periocheck®. Ce test repose sur l'utilisation de sondes ARN et donne une image précise et exacte du paysage bactérien de la poche. Il concerne les bactéries vivantes de la lésion uniquement. La quantification des bactéries concerne 4 des marqueurs principaux des lésions parodontales : Aa, Tf, Pg et Td. Les résultats individuels sont comparés à ceux d'une étude portant sur près de 2000 poches parodontales qui conclut que, du point de vue microbiologique, il existe cinq types de poches différents (BAENI, 1995). A chaque type de poche correspond une recommandation thérapeutique, communiquée avec les résultats au praticien :

- TYPE 1 : Flore parodontale en équilibre : contrôle de plaque.
- TYPE 2 : Risque d'aggravation peu élevé : traitement mécanique seul.
- TYPE 3 : Risque d'aggravation assez élevé : selon le profil du patient, l'antibiothérapie locale ou systémique peut compléter le traitement mécanique.
- TYPE 4 : Risque d'aggravation élevé : traitement mécanique associé à une antibiothérapie. Aa est fortement présent, voire domine. L'antibiothérapie complémentaire est justifiée.



- TYPE 5 : Risque d'aggravation élevé : traitement mécanique associé à une antibiothérapie. Tf, Pg, Td dominant, Aa peut également être présent. L'antibiothérapie complémentaire est justifiée.

La figure 13 montre un exemple de rapport d'examen concernant quatre sites distincts :

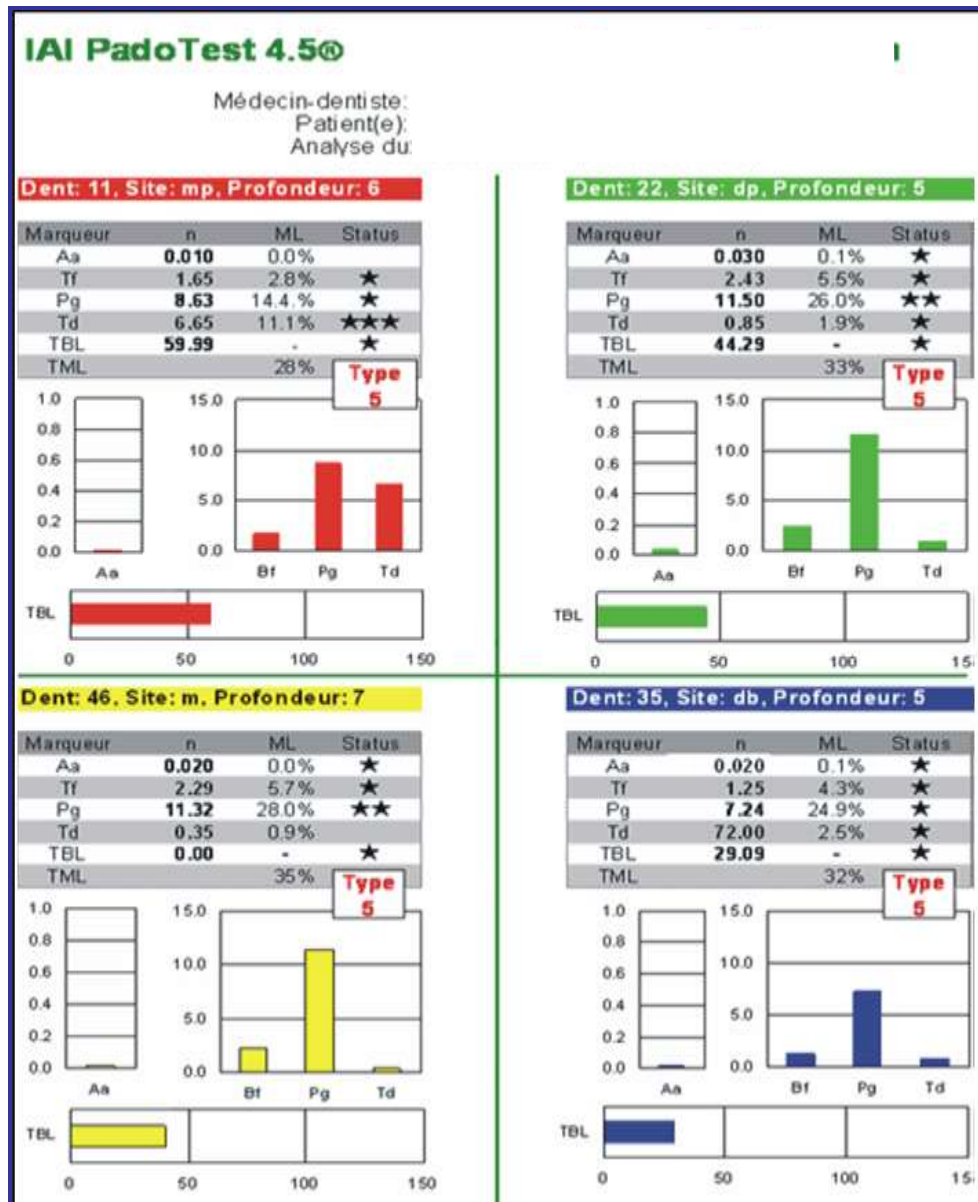


Figure 13. Rapport d'examen d'un IAI Pado test®

Cet examen met en évidence :

▪ des paramètres quantitatifs :

- **n** : nombre de bactéries en millions
- **ML** : « maker load » : charge du marqueur en pourcentage. Part en % des marqueurs par rapport au nombre total de bactéries.
- **étoiles** : permettent la comparaison par rapport à l'étude statistique évoquée précédemment ; plus il y a d'étoiles, plus le résultat s'éloigne de la moyenne observée dans l'étude. Le degré de variation constitue une indication quant à la gravité de la parodontite.
- **TML** : « total marker load » ; c'est la charge total des marqueurs, en %
- **TBL** : « total bacterial load » ; total des bactéries pathogènes ou non.

▪ des paramètres qualitatifs :

détermination du type de poche parodontale sur la base de leur colonisation microbiologique ; cette détermination du type permet d'associer la complexité des résultats microbiologiques à un chiffre de référence et d'identifier la signification clinique des résultats.

### 2.2.3.1.3 Intérêts

Les sondes ADN sont actuellement en plein essor et se présentent comme une alternative intéressante aux différents tests microbiologiques.

Les recherches actuelles sur cette technique tendent à augmenter l'importance de la bibliothèque ADN et à rendre cette technique la plus pratique et la plus courante possible.

Les procédés de prélèvement sont simples et rapides (CHARON, 1993 ; HORZ, 2007). Les résultats peuvent être obtenus en quelques jours (1 à 7 jours) contre 3 à 4 semaines pour les cultures bactériennes. La rapidité des résultats constitue en effet un avantage considérable pour les praticiens, souvent découragés par la lenteur des cultures.

Les sondes ADN sont sensibles et spécifiques. Ainsi une sonde nucléotidique synthétique développée pour l'identification de *Tannerella forsythia* présente une sensibilité et une spécificité de 100% par rapport à la détection de ce même germe en utilisant les techniques de culture (MONCLA, 1993).

La spécificité d'une sonde peut être définie comme son aptitude à reconnaître sa cible ADN avec le moins possible de réactions croisées avec l'ADN d'autres espèces bactériennes (faux positifs).

La sensibilité d'une sonde peut être définie comme la limite de détectabilité de la cible. Le type de marquage de la sonde conditionne la sensibilité : le radio-marquage est plus efficace que le marquage « froid », même si ce mode de marquage a considérablement progressé ces dernières années (SIXOU, 2003).

D'autre part le seuil de détection est relativement faible :

- $10^2$ - $10^3$  micro-organismes pour les sondes génomiques globales
- $10^5$ - $10^6$  micro-organismes pour les sondes génomiques par clonage
- $10^3$ - $10^4$  micro-organismes pour les sondes oligosondes de synthèse

On rappellera que le seuil de détection pour les techniques de culture est de  $10^3$  à  $10^5$  micro-organismes et de  $10^4$  à  $10^5$  pour les tests immunologiques.

Les résultats sont lus de façon objective par un lecteur automatique, sans intervention d'un technicien de laboratoire. Cela limite les biais manipulateur dépendant. Les procédures et réactifs utilisés sont tout à fait appropriés pour une standardisation.

Cette technique ne nécessite pas le prélèvement d'échantillon contenant des bactéries viables. En effet elles utilisent le génome bactérien issu de bactéries vivantes ou non, pourvu que l'ADN soit en bon état.

Les sondes ADN permettent la détection de bactéries non cultivables ou difficilement cultivables, et ainsi la détection de pathogènes peu communs et de pathogènes nouveaux. Elles permettent d'étudier et peut-être d'impliquer des germes qui n'étaient pas soupçonnés d'être parodonto-pathogènes. Cette capacité à détecter des pathogènes parodontaux particuliers est extrêmement intéressante pour le traitement des parodontes réfractaires.

Ce test se révèle donc très utile pour :

- l'évaluation de zones ne réagissant pas au traitement
- l'examen de patients atteints de parodontite agressive
- l'estimation de l'efficacité thérapeutique.

#### 2.2.3.1.4 Limites

Il existe certaines limites à l'utilisation des sondes chromosomiques.

L'utilisation des sondes nucléiques nécessite un investissement financier de départ assez élevé pour les laboratoires, même si une fois cet investissement réalisé le coût est relativement inférieur par rapport à la culture bactérienne. Cette technique est donc relativement coûteuse.

Un des inconvénients des sondes nucléiques est le problème des hybridations croisées. Ces hybridations croisées qui se font avec des espèces proches entraînent des faux-positifs par similarité de génome.

Pour diminuer ce risque et améliorer l'approche globale du prélèvement, GUNARATNAM et coll. (1992) proposent de combiner Dot-blot et culture : c'est l'hybridation sur colonies. Même si elle est plus longue que la technique de Dot-blot seule, elle reste moins longue que la culture seule. HAFFAJEE et coll. (1992) ont souligné la rapidité, l'exactitude et l'amplification de petits échantillons par la culture et la possibilité de conserver la caractérisation phénotypique. Cependant cette technique ne détecte que les bactéries cultivables.

Les sondes nucléiques ne permettent pas de déterminer la sensibilité d'une espèce donnée à un antibiotique particulier. Il s'agit de l'un des principaux inconvénients de la technique. Seuls des plasmides résistants parfaitement identifiés peuvent être révélés par une sonde moléculaire. Or, l'antibiogramme est un examen de laboratoire particulièrement important pour le praticien qui peut ainsi préférer la culture, malgré ses inconvénients.

La technique de sondage moléculaire est ciblée pour la recherche de bactéries spécifiques. L'utilisation de sondes est ainsi une démarche orientée : on ne trouve que ce qu'on cherche (SIXOU 2003).

Ce test ne permet de détecter que des organismes ciblés : seuls les organismes pour lesquels il existe des sondes spécifiques peuvent être identifiés. Le praticien doit être conscient de cette limite et doit garder à l'esprit que d'autres microbes ou combinaisons microbiennes peuvent être responsable de l'activité pathologique, d'une virulence particulière de la maladie.

La quantification des bactéries est également un paramètre à prendre en compte dans l'évaluation des tests. Les techniques moléculaires utilisant des sondes ne permettent qu'une semi-quantification, basées sur l'intensité de la réaction observée, comparée à des standards. Les techniques plus récentes de PCR permettent une quantification précise des micro-organismes.

## **2.2.3.2 L'amplification en chaîne par la polymérase (PCR)**

La PCR utilise les sondes moléculaires décrites précédemment. A la différence des techniques d'hybridation classique, l'utilisation de la PCR permet d'amplifier des séquences d'acides nucléiques sélectionnés. Ceci permet d'abaisser considérablement le seuil de détection de l'espèce recherchée.

### **2.2.3.2.1 Technique**

#### **2.2.3.2.1.1 Principe**

L'amplification en chaîne par la polymérase est une technique relativement récente, décrite et mise au point dans les années 80 par KARY MULLIS, et qui lui a valu le Prix Nobel de chimie en 1993.

La PCR (polymérase chain reaction) réalise une amplification en chaîne du génome ou d'une portion de celui-ci en utilisant une polymérase.

Elle se déroule en trois étapes pour multiplier sélectivement un fragment donné :

- un ADN chauffé au-dessus de sa température de fusion se sépare en deux brins : c'est la dénaturation.
- après dénaturation thermique, un refroidissement lent permet une nouvelle hybridation entre séquences complémentaires.
- les ADN polymérases sont des enzymes qui peuvent synthétiser un nouveau brin complémentaire à partir d'un fragment préalablement hybride : c'est l'élongation.

La séquence à amplifier va être dénaturée par chauffage au-dessus de sa température de fusion, puis on va former des «amorce» nucléotidiques pour qu'une ADN polymérase reforme l'ensemble du brin complémentaire. Le nombre de copies de la séquence choisie est doublé à chaque cycle, son augmentation se fait de façon exponentielle. La spécificité d'amplification d'une séquence donnée est directement liée à celle des amorces choisies.

La technique de PCR permet de détecter un organisme unique et possède donc pour cela le niveau de sensibilité le plus élevé de tous les tests microbiologiques.

### 2.2.3.2.1.2 Protocole

Le choix des amorces est déterminant car elles sélectionnent la région d'ADN à amplifier et donc conditionnent la qualité de l'amplification.

Les séquences encadrant le secteur à amplifier doivent être de très haute spécificité pour ne pas permettre d'hybridation parasite entre les chaînes ou amorces. Les amorces ne doivent pas être très différentes l'une de l'autre, ni correspondre à des séquences génomiques répétées.

La première étape est donc l'extraction de l'ADN par des moyens techniques, chimiques ou enzymatiques. Il existe des kits (par ex. DNA Capture Reagent® de Gibco) qui se chargent de l'extraction, ou des techniques combinant lyse et extraction comme le Chelex 100 qui est une résine chélatrice. Des programmes informatiques existent pour optimiser le choix des amorces. Le plus souvent ces amorces sont des chaînes oligonucléotidiques de 18 à 25 bases.

Les autres composants de l'incubation sont :

- les nucléotides dont la concentration de chacun doit être équilibrée.
- la polymérase nécessaire au rassemblement des nucléotides ; depuis l'essor de la PCR les laboratoires commercialisent des polymérases thermorésistantes (*Bst* issue de *Bacillus stearothermophilus* de la société Biorad, *Tth* issue de *Thermus thermophilus* de United States Biochemica) (LAMBALLERIE et coll., 1994).

La technique se déroule en trois étapes chacune constituant un cycle au cours duquel la quantité d'ADN va être doublée (figure 14) :

- La première étape est celle de la dénaturation.  
Les amorces sont additionnés à une solution contenant un double brin d'ADN issu d'un échantillon de plaque du patient. Le mélange est chauffé au-delà de la température de fusion ; quand il atteint la température de 90-95°C, le double brin est dénaturé en un mélange de simples brins.
- La deuxième étape est celle de l'hybridation.  
La température de dénaturation est maintenue pendant 30 secondes à une minute, puis le mélange est refroidi lentement à une température de 40-65°C, ce qui permet aux amorces d'hybrider les localisations spécifiques du simple brin d'ADN.

- La dernière étape est celle de l'élongation.  
La température d'hybridation est maintenue pendant 30 secondes à une minute, puis l'élévation progressive de la température aux alentours de 70-75°C permet l'action de la polymérase thermo-résistante qui amplifie la séquence choisie.

Un nouveau cycle est alors mis en route. Ces cycles répétés de dénaturation-hybridation-élongation produisent ainsi de nombreuses copies du fragment d'ADN initial.

L'amplification d'une séquence d'ADN unique et originale en un large nombre de séquences identiques autorise leur détection grâce à par l'utilisation de sondes spécifiques à la séquence cible et aux techniques d'hybridations classiques.

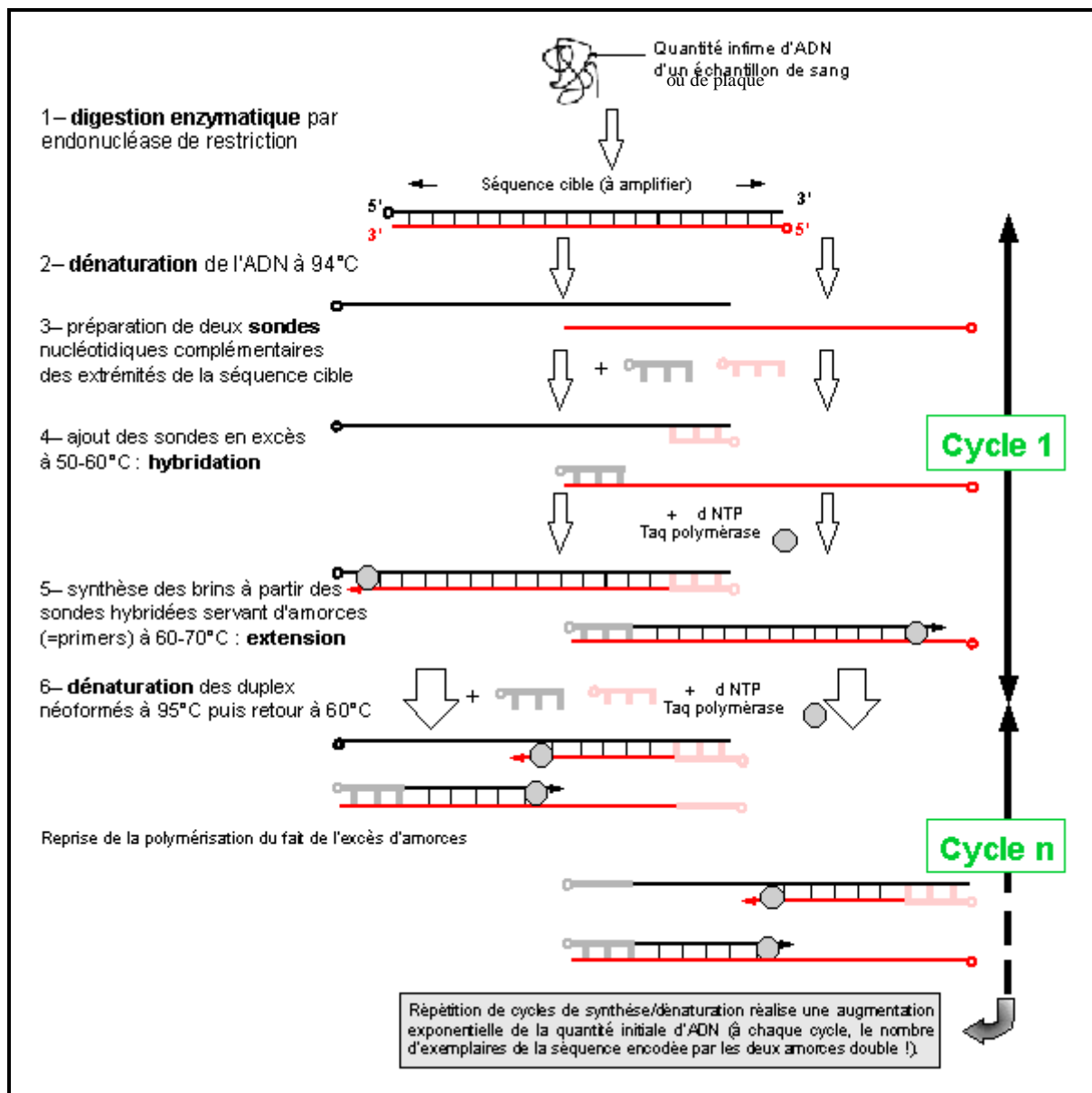


Figure 14. Différentes étapes de la PCR (source : <http://www.inrp.fr>).

L'amplification des séquences d'ARN est possible, notamment lors de l'étude concernant les ARN ribosomiaux bactériens. Dans ce cas l'ARN cible est d'abord recopié en une chaîne d'ADN complémentaire par une «transcriptase reverse», puis la PCR classique est appliquée. GRIFFEN et coll. en 1992 ont appliqué cette méthode pour la détection de Aa.

La PCR classique permet de mettre en évidence les plus petites quantités d'ADN par amplification. Le résultat de la réaction peut être rendu visible par d'autres étapes de laboratoire. Elle livre une détermination des bactéries, la quantification fiable des bactéries présentes dans l'échantillon de départ n'étant pas possible.

#### **2.2.3.2.2 La PCR en temps réel (PCR RT)**

L'évolution de la technique de la PCR a permis le développement de la PCR en temps réel. A l'inverse de la PCR classique, la PCR en temps réel est un processus entièrement automatique et validé qui permet une quantification exacte de la séquence cible.

L'obtention de la cinétique complète de la réaction de polymérisation permet d'obtenir une quantification absolue de la quantité initiale d'ADN cible, ce qui était très difficile à obtenir dans la PCR classique. D'un point de vue enzymatique il n'y a aucune différence théorique entre les deux types de PCR.

Grâce à un intercalant fluorescent de l'ADN ou à une sonde interne marquée, il est possible de mesurer, en temps réel, la quantité de produit s'accumulant tout au long des cycles d'amplification. L'augmentation du signal fluorescent est directement proportionnelle à la quantité de copies générées durant la réaction de PCR. Un système de lecture de la fluorescence relié à un dispositif informatique permet de tracer les courbes d'amplification PCR et l'analyse de ces courbes conduit à la quantification précise de chaque microorganisme.

La PCR en temps réel présente des avantages majeurs par rapport à la PCR conventionnelle :

- Analyse quantitative des résultats
- Reproductibilité
- Automatisation de l'analyse



### 2.2.3.2.3 Kits utilisant la PCR en temps réel

Plusieurs sociétés commercialisent des kits d'identification reposant sur le principe de la PCR RT :

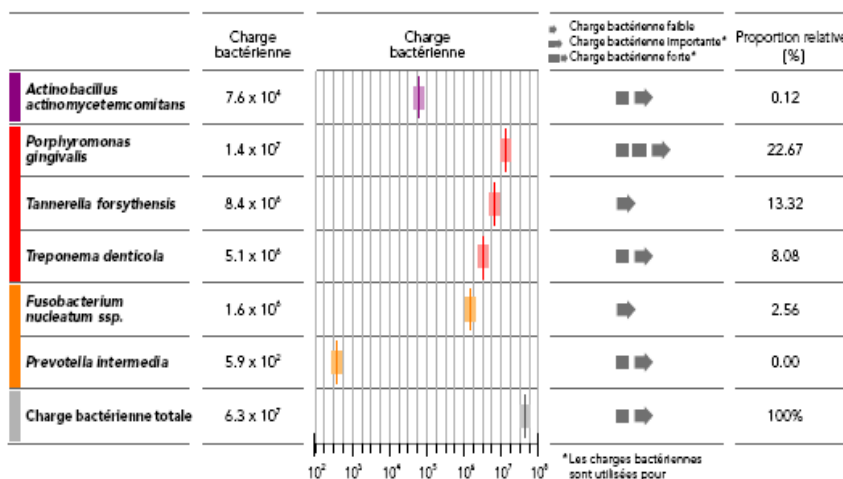
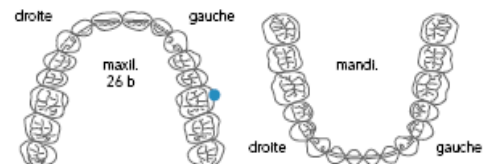
- Meridol Perio Diagnostics® (GABA, Suisse)
- Perio-analyse® (Pierre Fabre, Oral Care, France)
- microDent® (HainLifeScience, Allemagne)

- Le test Meridol Perio Diagnostics® (GABA, Suisse) est un test diagnostique qui permet la détermination quantitative des six principaux germes marqueurs de la parodontite et de la péri-implantite ainsi que du nombre total de germes (figure 15). Meridol Perio Diagnostics® utilise la technologie de la PCR temps réel et permet d'identifier la présence des germes suivants : Aa, Pg, Tf, Td, Fn et Pi.

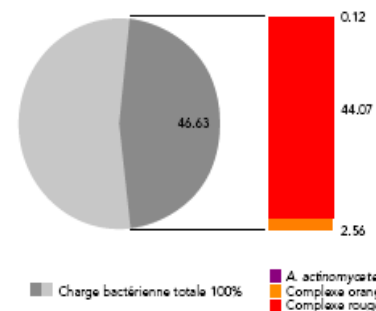
#### Résultats d'analyses

Nom du Patient: _____	Prélèvement reçu le: _____
Date: _____	Numéro du prélèvement: _____
Sexe: _____	Date de l'analyse: _____
Date du Prélèvement: _____	
Coordonnées du Praticien: _____	
_____	

Dent 26 Site b Profondeur de poche 7 mm BoP   Pus



Proportion relative des pathogènes en fonction de la charge bactérienne totale [%]



Microbial complexes according to: Socransky SS et coll. J Clin Periodontol 25 (1998), 134-144



Figure 15. Résultats d'analyse du kit Meridol Perio Diagnostic®

- Le test microDent® (Hain Lifescience GmbH, Allemagne) permet la détection de Aa, Pg, Tf, Pi et Td. La version microDent® plus permet de détecter, en plus des pathogènes cités précédemment, 6 autres bactéries : Pm, Fn, Cr, Eubacterium, Ec et Capnocytophaga. Les signaux obtenus sont facilement et rapidement interprétés à l'aide d'une matrice fournie avec chaque kit (figure 16).

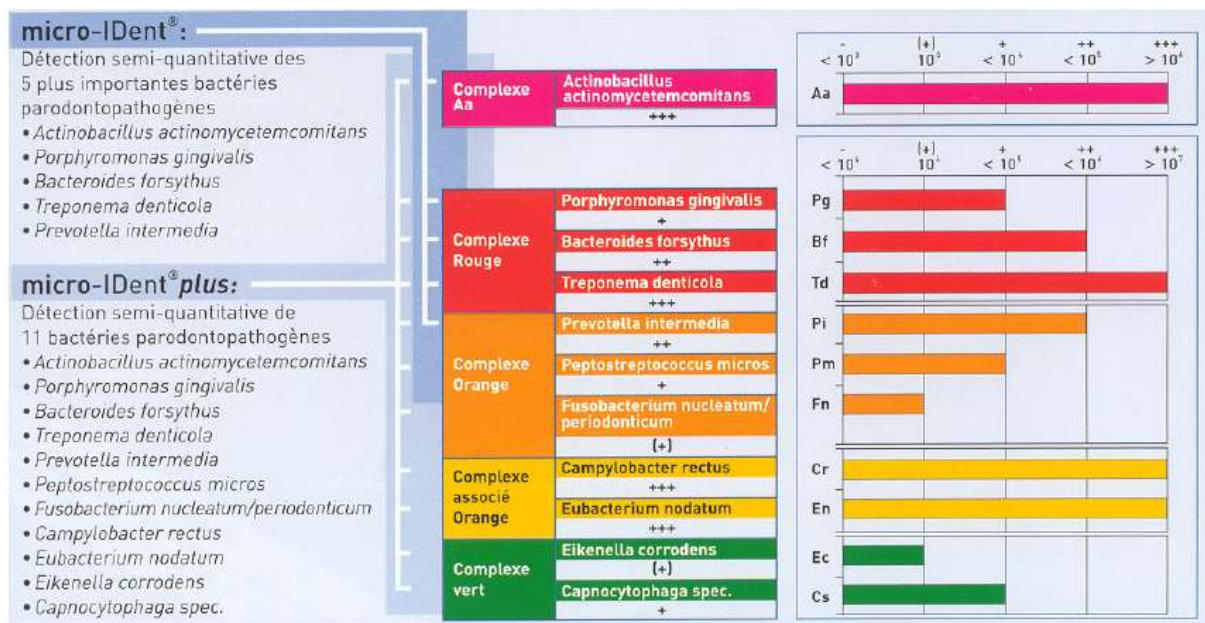


Figure 16. Résultats d'analyse des tests micro-IDent® et micro-IDent® plus.

Après réception des résultats, le praticien instaure une thérapeutique en fonction des données cliniques et des bactéries en présence. Une approche thérapeutique basée sur les recommandations de l'AFSSAPS est proposée par le fabricant du test pour guider le praticien dans le choix d'une éventuelle antibiothérapie (figure 17).

	micro-IDent®					micro-IDent® plus					
	Aa	Pg	Bf	Td	Pi	Pm	Fn	Cr	En	Ec	Cs
	Complexe Aa#	Complexe Rouge			Complexe Orange			Complexe Orange-associé		Complexe Vert	
Pathogénicité*	I	I			II			IV		III	
Métronidazole	⊖	✓			✓ <sup>8</sup>					⊖	
Clindamycine	⊖	✓			✓					⊖	
Combinaison Métronidazole + Amoxicilline		✓ <sup>7</sup>			✓ <sup>6</sup>						
Amoxicilline	✓ <sup>4</sup>									✓ <sup>1,2</sup>	
Ciprofloxacine	✓ <sup>3</sup>									✓ <sup>1,2,3</sup>	
Doxycycline	✓ <sup>5</sup>	✓ <sup>5</sup>			✓ <sup>5</sup>			✓ <sup>2,5,9</sup>		✓ <sup>1,2,5</sup>	
Traitement mécanique/surfaçage	✓	✓			✓			✓		✓	

Figure 17. Proposition thérapeutique suite aux résultats d'un test micro-IDent®.

- Le kit Perio-analyse® (Pierre Fabre, Oral Care, France) analyse la présence de 9 bactéries : Aa, Tf, Cr, Td, Ec, Pi, Pm, Pg et Fn. Une fois le rapport d'analyses obtenu (figure 18), dans le cas où une antibiothérapie est nécessaire, le praticien dispose d'une plaquette (figure 19) remise par le fabricant où figurent les sensibilités aux antibiotiques des différentes espèces bactériennes (données de l'ANAES, 2002).

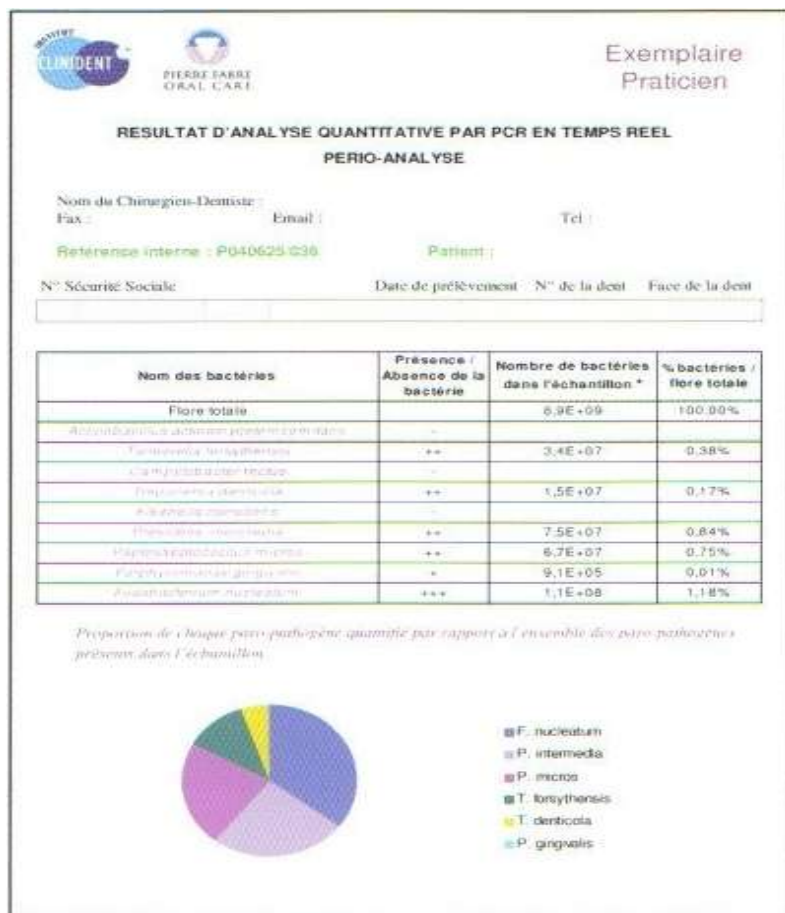


Figure 18. Rapport d'analyse du kit Perio-analyse® (Pierre Fabre, Oral Care, France).

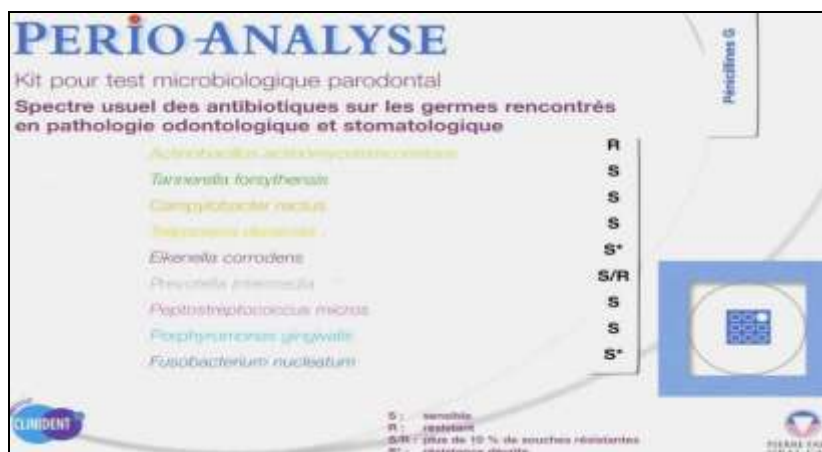


Figure 19. Plaquette résumant les sensibilités aux antibiotiques des différentes bactéries testées.

#### 2.2.3.2.4 Intérêts

L'amplification moléculaire ainsi que les techniques qui s'en inspirent représentent un progrès significatif en terme de diagnostic microbiologique.

Ce sont des méthodes rapides puisque les résultats du test peuvent être obtenus en quelques heures (2 à 4 heures) après prélèvement de l'échantillon. Elles permettent d'étudier également plus rapidement, plus confortablement, à moindre coût et moins laborieusement par rapport aux techniques de culture plusieurs échantillons de plaque. La technique de PCR en temps réel permet ainsi d'obtenir en quelques heures les bactéries en présence avec une quantification précise de la flore prélevée.

Cette technique est très spécifique et très sensible (BOUTAGA et coll., 2005 ; LAU, 2004). Du fait du principe même de la technique, elle permet de détecter un germe unique et particulier. Ceci fait de l'amplification en chaîne le test le plus sensible de tous les tests. La PCR est également capable de détecter un faible nombre de pathogènes parodontaux, avec le meilleur degré d'exactitude. Le seuil de détection est très bas, entre 10 et 100 organismes, c'est le seuil de détection le plus bas de tous les tests.

La PCR est basée sur l'étude du génome bactérien et ne nécessite pas le prélèvement d'organismes viables. Le grand avantage est encore une fois de pouvoir détecter des germes non viables ou difficilement cultivables, ce qui permet de découvrir des pathogènes nouveaux.

Ainsi une étude utilisant la PCR pour détecter 8 des pathogènes parodontaux dans les formes sévères de parodontites a non seulement confirmé toutes les cultures positives, mais également permis de mettre en évidence certains autres spécimens non révélés par les cultures (ASHIMOTO et coll., 1996). La capacité de la PCR à détecter des bactéries mortes permet de souligner l'histoire bactérienne de la poche (VERNER, 2006).

La PCR permet d'étudier et peut être d'impliquer des micro-organismes qui n'étaient pas alors soupçonnés d'être parodontopathogènes comme les virus (PARRA et SLOTS, 1996). La technique de la PCR a en effet été appliquée aux virus (CONTRERAS et SLOTS, 1996). Une association entre le cytomégalovirus et le virus d'EPSTEIN-BARR a ainsi été mise en évidence dans certains cas de parodontites sévères.

La PCR permet également d'étudier la détection de séquences codantes pour un facteur de virulence. Ceci a le double avantage de dépister des bactéries et de participer à l'étude de la pathogénie de la maladie. Ainsi GONCHAROFF et coll. en 1993 ont étudié la possibilité de détection de Aa par le biais de

l'amplification d'une leucotoxine, *IikA* de 262 pb, spécifique de l'espèce. Cette technique se démontre rapide et spécifique. Détecter une bactérie pathogène par un facteur de virulence permet de mieux comprendre la pathogénie des maladies. Les différentes formes cliniques pourraient alors être causées par la différence de virulence des souches bactériennes au sein d'une même espèce. De nouvelles voies de recherche sont donc générées pour mieux comprendre la pathogénie des maladies parodontales.

HAUBEK et coll. (2008) ont utilisé la PCR pour distinguer deux clones de Aa dans les échantillons de plaque d'une population d'adolescents marocains atteints de parodontite agressive : le clone JP 2 et le non- JP2. Le type Aa JP2 produit en quantité très élevée une leucotoxine responsable d'une destruction des tissus parodontaux. Les auteurs concluent que la perte d'attache rencontrée chez les sujets porteurs du clone JP2 est plus rapide et significativement plus élevée que chez les sujets non porteurs de ce clone de Aa. Cette étude démontre l'intérêt de la PCR dans la distinction de différents clones bactériens responsables de différentes formes cliniques de parodontites.

Dans le même esprit, la technique de PCR permet de découvrir des gènes de résistance aux antibiotiques, en particulier des gènes de résistance aux tétracyclines (pour LACROIX et WALKER en 1996 en raison de leur usage intensif dans le traitement de diverses parodontopathies, plus de la moitié des bactéries cultivables provenant de la plaque dentaire peuvent être résistantes aux tétracyclines).

Enfin l'étude du génome bactérien se révèle d'une très grande utilité lors des études épidémiologiques de la maladie parodontale.

Au regard des nombreux avantages de la PCR (rapidité, grande fréquence de détection, faible moindre coût, fiabilité, faible seuil de détection, confort d'utilisation ...), RIGGIO et ses collaborateurs (1996) proposent de considérer l'amplification en chaîne par la polymérase comme le nouveau «Gold Standard » pour la détection des pathogènes parodontaux. VERNER et coll. (2006) considèrent que la PCR en temps réel est la technique la plus appropriée pour la détection et la quantification des pathogènes persistants, pendant les phases de maintenance et de réévaluation du traitement parodontal.

#### **2.2.3.2.5 Limites**

Bien que la technique d'amplification en chaîne par la polymérase laisse entrevoir des perspectives particulièrement intéressantes dans le domaine de la prévention, du diagnostic et du traitement de la maladie parodontale, certains problèmes en rapport avec le caractère récent de la technique limitent aujourd'hui son utilisation en pratique courante.

La technique de la PCR reste coûteuse et nécessite l'acquisition d'une instrumentation sophistiquée par les laboratoires d'analyse.

Il existe également des limites d'ordre technique au sein du laboratoire :

- la contamination : elle résulte des produits des amplifications précédentes ; un tube contenant des séquences qui ont été amplifiées contient plusieurs milliers de copies. Lors de l'ouverture de celui-ci les turbulences engendrées projettent dans la pièce de la vapeur d'eau qui contient l'ADN en solution, ainsi, l'air, le matériel et les vêtements sont contaminés par la séquence cible. Ceci entraîne des amplifications artéfactuelles et un certain nombre de faux-positifs (tube ne contenant pas d'ADN mais dans lesquels une amplification est cependant observée). Tout ceci implique la mise en place de mesures de prévention spécifiques à la PCR pour limiter au maximum les risques de contamination.
- le manque de fidélité de la Taq polymérase : cette enzyme ne possède pas d'activité de correction. Il faut donc tenir compte des possibilités d'erreurs liées aux amplifications parasites qui apparaissent au fur à mesure de chaque cycle et qui sont imprévisibles. C'est pourquoi, si en théorie l'amplification est exponentielle, en pratique le rendement est plus faible.

Même si les chercheurs s'intéressent aux gènes codant les résistances aux tétracyclines, il n'existe pas encore d'application clinique. La technique ne permet pas la réalisation d'un antibiogramme.

La très grande sensibilité de la technique est également une des limites de ces tests. Le seuil de détection extrêmement bas nécessite de définir des niveaux au-delà desquels un résultat positif a une utilité clinique, au risque de surestimer la quantité de bactéries présentes (SUCHETT KAYE, 2001). Cette remarque concerne les tests n'utilisant la PCR en temps réel. Les tests proposés aujourd'hui aux praticiens ne permettent pas de distinguer les différents clones de Aa (type JP2 et non JP2) alors que cette information permettrait de préciser le pronostic de la maladie en fonction du clone identifié.

En conclusion, les techniques génétiques connaissent actuellement un plein développement et offrent des perspectives d'avenir impressionnantes. Elles sont particulièrement indiquées au stade de la prévention en présence de parodontites particulièrement évolutives et agressives dans l'entourage d'un patient atteint, et au stade du diagnostic pour détecter dans des délais très courts, d'une manière sensible et spécifique une espèce bactérienne donnée.

## 2.2.4 LES TESTS ENZYMATIQUES

Le principe des tests enzymatiques repose sur la recherche de la présence d'une enzyme spécifique d'une ou plusieurs bactéries. De nombreuses études ont mis en évidence une corrélation entre la maladie parodontale et le taux d'enzymes présents dans le fluide gingival et la salive en comparant des situations de santé et de maladie parodontale. Les enzymes bactériennes produites par chaque espèce ont été mesurées dans la salive. La salive des patients atteints de maladie parodontale présente un taux plus élevé d'enzymes que les sujets sains.

### 2.2.4.1 Principe

Une enzyme ayant une activité de type trypsine est produite par quelques pathogènes parodontaux de la flore sous gingivale appartenant au complexe rouge (WOLF, 2005) : Tf, Pg, Td et *Capnocytophaga*. Cette peptidase peut dégrader un substrat synthétique le BANA ; BANA est l'acronyme de N-benzoyl-DL-arginine-2-naphtylamide. L'un de ses produits de dégradation est la  $\beta$ -naphtylamide qui peut être visualisée par une réaction colorimétrique et ainsi utilisée pour la mise en évidence de ces germes.

#### 2.2.4.1.1 Technique

Les tests commerciaux suivants sont disponibles :

- Perioscan® (Oral B Laboratories, USA)
- Dentocheck® (Butler, USA)

Le protocole d'utilisation du Dentocheck® (figure 20) est le suivant :

Le site est choisi, nettoyé et isolé. Des échantillons de plaque sont prélevés à l'aide de trois pointes papier stériles par site puis mis en place dans des tubes contenant les réactifs.

L'ensemble est ensuite incubé dans une chambre de culture à 37°C pendant 15 minutes, la durée de la réaction doit être scrupuleusement respectée.

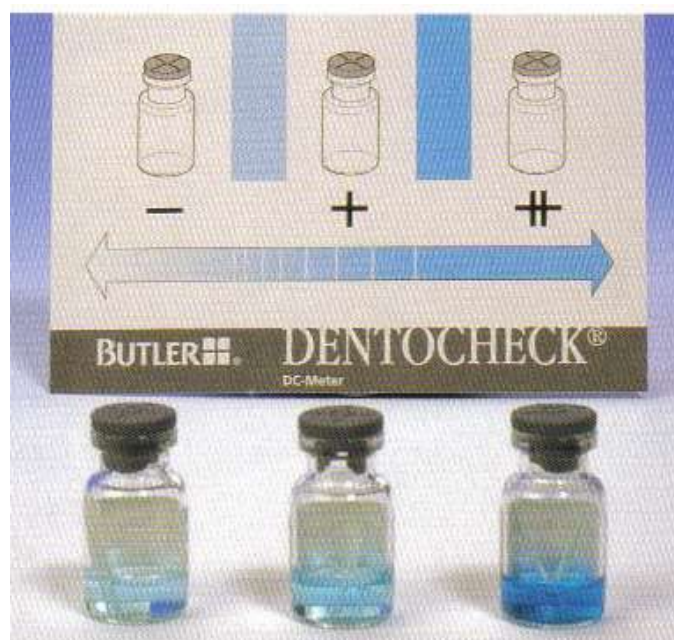
Après incubation, les tubes sont observés et on examine l'absence (test négatif) ou la présence (test positif) d'une coloration bleue. La quantité des germes positifs à la BANA peut être évaluée à partir de l'échelle de couleurs.





**Figure 20. Kit Dentocheck® (Butler Heliodent).**

Le Perioscan® (figure 21) repose sur le même principe mais ce test utilise des bandelettes de papier pour la réaction colorimétrique ; les résultats sont comparables mais ce conditionnement présente l'avantage de pouvoir être stocké dans le dossier du patient (LOESCHE et coll., 1990).



**Figure 21. Résultats possibles du Dentocheck®; la présence et la quantité des germes positifs au BANA peuvent être évalués à partie de l'échelle de couleurs (DC Meter).**



#### **2.2.4.1.2 Intérêts**

Ce type de test présente quelques avantages.

C'est un test peu coûteux et rapide, le résultat pouvant être obtenu en une quinzaine de minutes.

Il est confortable d'utilisation car le résultat est analysé par la simple lecture de la réaction colorimétrique.

Ce test ne requiert pas la viabilité des organismes recherchés et permet de détecter la présence d'un groupe bactérien spécifique à savoir Tf, Pg et Td. LOESCHE et coll. (1992) ont montré une sensibilité comprise entre 90 et 96% et une spécificité entre 83 et 92%.

#### **2.2.4.1.3 Limites**

Les limites au test BANA sont nombreuses.

Le seuil de détection est assez élevé,  $10^4$  microorganismes.

Il ne permet pas de dépister une bactérie spécifique mais la présence d'un groupe de 4 bactéries ; il est donc assez peu précis car incapable d'identifier la présence relative de chacune des bactéries.

Aa, pourtant l'une des bactéries les plus pathogènes, ne produit pas l'enzyme trypsine like. Ce test ne peut donc pas l'identifier, ce qui pose un problème majeur.

La réalisation d'un antibiogramme est impossible. De plus cette méthode ne permet pas d'identifier les bactéries chez les sujets très jeunes (ZUZA et coll., 2006).

Pour LEMAÎTRE et coll. (1999), la limitation des bactéries détectées et l'absence d'étude sur le rapport avec l'activité de la maladie ne permettent pas de tirer des conclusions sur l'utilité de ce test.

HEMMINGS et coll. (1997) concluent que la probabilité que ce test soit en accord avec le diagnostic clinique après traitement est de seulement 52%. Ils en concluent que ce système ne reflète pas de manière sûre l'état clinique de la maladie parodontale, ni le résultat après traitement.

## **2.2.5 LA MICROSCOPIE A FOND NOIR, A CONTRASTE DE PHASE**

### **2.2.5.1 Technique**

Depuis 30 ans, l'examen de la flore bactérienne par la microscopie à fond noir ou à contraste de phase est largement répandu dans le diagnostic des maladies parodontales (SLOTS, 1997). Cette technique permet d'étudier la plaque bactérienne vitale immédiatement après prélèvement (LEMAÏTRE, 1999).

Les études en microscopie directe permettent de déterminer le comptage total des bactéries et le comptage des proportions de différents morphotypes bactériens caractéristiques. Le microscope à fond noir possède comme principe d'exagérer les différences d'indice de réfraction, ce qui provoque l'introduction de défauts dans la précision de l'image tandis que le microscope à contraste de phase affiche une meilleure résolution.

#### **2.2.5.1.1 Matériel**

L'observation de la plaque bactérienne peut être réalisée grâce à deux types de microscopes : le microscope à fond noir ou le microscope à contraste de phase. Ils permettent l'observation directe sur un écran vidéo par l'intermédiaire d'une caméra fixée sur le statif. Le recours à une coloration n'est pas nécessaire.

Les détails des objets à examiner ne doivent pas être épais, les surfaces optiques de la préparation et du microscope doivent être propres et la source lumineuse doit être la plus intense possible.

Les prélèvements sont analysés de façon groupée (échantillons mélangés) ou individuelle (site par site). Ils sont dispersés dans une goutte d'eau stérile ou de sérum physiologique. Ils peuvent être dilués avec du formol à 10% pour réduire la mobilité des germes, avec de la gélatine ou avec du fixateur de Karnovsky (LISTGARTEN et HILLDEN, 1978).

On dépose une goutte de suspension obtenue sur une lame que l'on recouvre d'une lamelle. L'excès de solution est éliminé en retournant la lame sur une surface plane et en réalisant une pression modérée. De la paraffine est ensuite ajoutée en périphérie afin d'éviter les courants qui fausseraient l'interprétation.

L'observation doit être réalisée dans l'heure qui suit le prélèvement afin de minimiser tout phénomène d'agglutination et de perte de mobilité des bactéries.

### 2.2.5.1.2 Analyse

LISTGARDEN et HELLDEN (1978) distinguent les neuf morphotypes bactériens suivants :

- cocci
- bacilles droits
- bacilles courbes
- bacilles mobiles
- filaments
- fusiformes
- petits spirochètes
- spirochètes intermédiaires
- grands spirochètes.

Le comptage bactérien s'effectue toujours en pourcentage et obéit aux impératifs suivants :

- distinction entre mobilité cellulaire et mouvement brownien
- comptage des cellules mobiles uniquement dans la zone explorée
- tout organisme traversant plusieurs fois le champ n'est compté qu'une fois
- en cas de division, tout cellule fille complètement fermée sera comptée de façon individuelle
- si le nombre de cellules observées dans le champ de vision est inférieur à 100, le comptage ne pourra être réalisé
- les bacilles mobiles sont comptés les premiers car leur mobilité disparaît rapidement.

" Par les indices d'observation microscopique, l'analyse microscopique permet :

- d'identifier des morphotypes microbiens :
  - germes non mobiles : cocci, filaments et bacilles non mobiles
  - germes mobiles : spirochètes, bacilles mobiles
- d'apprécier la densité microbienne moyenne et la mobilité globale de la plaque
- de quantifier les morphotypes en établissant des rapport entre les morphotypes bactériens (par exemple entre germes mobiles et germes totaux) " (LEMAÏTRE, 1999).

### 2.2.5.1.3 Interprétation des résultats

L'image au microscope de la flore bactérienne au niveau des sites sains et des sites malades est sensiblement différente. Alors que l'on retrouve principalement au niveau des sites sains des cocci et des bacilles non mobiles, la plaque des sites atteints de parodontite contient essentiellement des bactéries mobiles avec une forte proportion de spirochètes (HORZ, 2005).

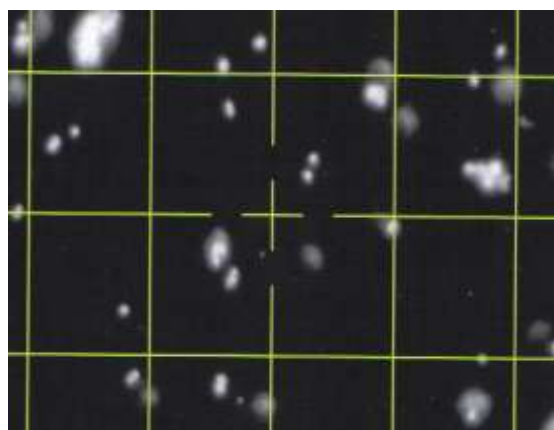
D'après l'étude de LISTGARTEN et HELLDEN (1978), les sites sains sont caractérisés par :

- une prédominance des cocci qui représentent 75% de la flore bactérienne ; associés aux bacilles droits, ils forment 90% de la flore
- une rareté des spirochètes qui sont présents dans une proportion de 1,8%.

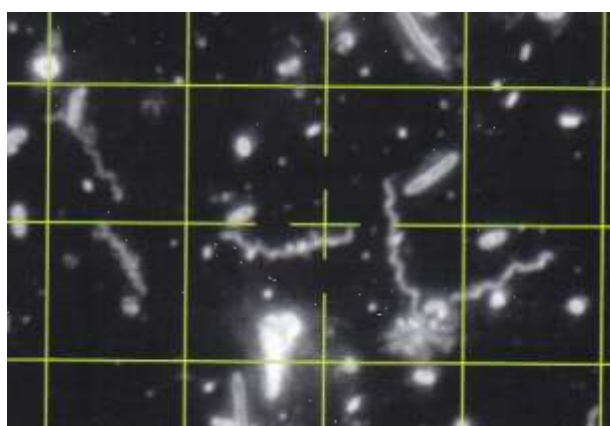
Les résultats sont différents au niveau des sites atteints de parodontite :

- les cocci représentent 20% de la flore ; associés aux bacilles droits ils forment 40% de cette flore
- les spirochètes sont présents chez tous les patients examinés, et leur pourcentage varie suivant les individus de 25 à 58%.

Pour WOLF (2005), si l'on observe principalement des cocci et des bacilles sédentaires, ceux-ci indiquent une flore pathogène peu active ; en revanche, la prédominance de bactéries mobiles démontre d'une activité destructrice au sein de la poche. La figure 22 compare les images obtenues au niveau d'une poche active et d'une poche inactive :



**Figure 22a. Bactéries d'une poche inactive; nombre réduit de coques**



**Figure 22b. Bactéries d'une poche active ; bacilles et spirochètes dominant.**

Au niveau de la poche active, les bacilles et spirochètes dominent. Par rapport à la poche inactive, il s'est produit une modification de cocci à des bacilles et spirochètes et de bactéries sédentaires à des bactéries mobiles.

### **2.2.5.2 Intérêts**

Les avantages de l'examen de la flore bactérienne par la microscopie directe reposent sur la facilité et la rapidité d'emploi (quelques minutes au fauteuil) (LEMAÎTRE, 1999). C'est une technique non invasive et peu coûteuse.

La microscopie peut détecter des modifications dans la morphologie et la motilité des bactéries de la plaque observées dans les parodontites. Des corrélations positives ont été mises en évidence entre les filaments mobiles et l'inflammation gingivale et entre les spirochètes et les profondeurs de poche. (LISTGARTEN LEVIN, 1988)

Selon certains auteurs, ce procédé constituerait un excellent moyen de motivation pour nos patients (WOLF, 2005), tout au long de la phase thérapeutique, lors des étapes de réévaluation et lors de la phase de maintenance. Elle permettrait aux praticiens de suivre l'évolution de la flore sous gingivale et surtout d'informer les patients en leur faisant observer eux-mêmes leur flore bactérienne.

En comparant des échantillons de plaque à toutes les étapes du traitement, on commentera avec eux les modifications de la morphologie et de la mobilité des bactéries ; on suscitera ainsi plus facilement leur participation active au traitement. Ceci permet de souligner l'importance des bactéries comme composante essentielle des maladies parodontales et la nécessité d'améliorer leur hygiène bucco-dentaire et /ou maintenir les efforts réalisés. Elle aurait ainsi un impact sur l'éducation du patient.

Le fait de savoir rapidement si la poche est colonisée par une flore susceptible de déclencher des destructions tissulaires (LEMAITRE, 1999), permettra au praticien d'évaluer l'efficacité du traitement mis en œuvre, démontré par les modifications de la flore malade vers une flore associée à la santé parodontale (LOOMER, 2005).

### **2.2.5.3 Limites**

Les limites de la microscopie directe sont nombreuses.

" La microscopie à contraste de phase continue d'être employée alors qu'il a été démontré qu'elle ne constitue pas un outil diagnostique fiable et que l'académie américaine de parodontologie (AAP) déconseille son utilisation depuis 1989 " (BIDAULT, 2006). En effet, si l'examen microscopique autorise la détermination des morphotypes bactériens, il ne permet toutefois pas de distinguer les espèces ayant le même morphotype. De plus, les bactéries les plus impliquées dans la maladie parodontale ne sont pas toutes mobiles.

L'incapacité à désigner des espèces bactériennes spécifiques empêche son utilisation pour la sélection d'un agent antibiotique quand celui-ci est nécessaire dans la thérapeutique mise en place.

L'augmentation du nombre de spirochètes et/ou de formes mobiles a été suggérée pour identifier l'activité des sites (WOLF, 2005) mais cette hypothèse n'a pas été confirmée. Au contraire, selon HUYNH et coll. (1987), le comptage des morphotypes cellulaires ne permet pas d'évaluer l'activité d'un site. La microscopie directe ne permet donc pas de diagnostiquer l'activité de la maladie, ni d'ailleurs de prédire le risque de récurrence de la maladie au niveau d'un site donné (LOOMER, 2005).

" Elle n'apporte aucun bénéfice diagnostique dans la mesure où elle ne permet que l'évaluation de la maturité de la plaque au même titre que les techniques conventionnelles de suivi des patients " (BIDAULT, 2006).

Quant à sa capacité à servir d'outil de motivation, cet avantage n'a pas réussi à être vérifié à ce jour.

En conclusion, la microscopie directe ne constitue pas une technique fiable dans l'analyse microbiologique ; elle n'a aucune valeur diagnostique ni pronostique (LEMAITRE, 1999). C'est un mode d'observation relativement peu précis et un paramètre diagnostique très discutable (GREENSTEIN et POLSON, 1985) de part l'incapacité à mettre une étiquette précise sur chaque germe (ZAMBON et HARASZTHY, 1995).

Les différents tests proposés peuvent aider les praticiens à différents niveaux :

- Diagnostic et pronostic
- Vérification de l'efficacité du traitement
- Indication d'une antibiothérapie et choix de la molécule appropriée

Actuellement, les cultures et les tests utilisant la PCR RT sont de loin les plus utilisés.

Ce sont les besoins du clinicien qui déterminent le choix entre ces deux techniques. Connaître leurs limites permet de choisir le test le plus approprié en fonction des paramètres cliniques. La richesse des informations apportées par les cultures sur la sensibilité aux antibiotiques et l'aspect non ciblé de la méthode en font une technique de choix pour le diagnostic des parodontites. En revanche l'excellente sensibilité et la rapidité des tests utilisant la PCR RT en font des outils très intéressants, en particulier lors des phases de contrôle et de maintenance.

Le tableau 12 résume les caractéristiques des différents tests identifiant les pathogènes parodontaux :

Tests	Avantages	Inconvénients	Limite de détection	Viabilité des organismes	Délai d'obtention des résultats
<b>Culture</b>	Technique de référence Antiblogramme Technique non ciblée	Coût Durée du protocole Lourdeur protocolaire Vitalité du prélèvement Pas de standardisation Personnel compétent Bactéries non cultivables	Milieu . non sélectif $10^4$ - $10^5$  sélectif $10^3$	non	1 à 5 semaines
<b>Sondes</b>	Technique rapide Standardisation possible Peu coûteuse Détection des bactéries non cultivables Prélèvements non vitaux	Technique ciblée Pas d'antiblogramme Hybridation croisées	$10^2$ à $10^6$ En fonction de la sonde utilisée.	oui	De 1 à 30H
<b>PCR</b>	Technique très rapide, sensible et spécifique proposée comme nouveau « Gold Standard » Standardisation possible Peu coûteuse Prélèvements non vitaux Détection de bactéries non cultivables	Technique ciblée Instrumentation coûteuse Pas d'antiblogramme Quantification précise (PCR RT)	10	oui	De 2 à 4H

<b>Microscopie</b>	<p>Détection de la forme, taille et mobilité des bactéries</p> <p>Détection des flores associées à la santé ou à la maladie parodontale</p> <p>Peu coûteux</p> <p>Intérêt dans la motivation des patients</p>	Ne distingue pas les différentes espèces bactériennes	-	-	-
<b>Immunologiques</b>	<p>Rapidité</p> <p>Standardisation possible</p> <p>Prélèvements non vitaux</p>	<p>Technique ciblée</p> <p>Hybridations croisées</p> <p>Pas d'antibiogramme</p>	$10^3-10^4$	Oui	De quelques minutes à quelques heures
<b>Enzymatiques</b>	<p>Rapidité</p> <p>Standardisation</p> <p>Coût</p>	<p>Technique ciblant un groupe d'espèces sans les distinguer</p> <p>Pas d'antibiogramme</p>	$10^4$	Non	Environ 15 minutes

Tableau 12. Comparaison des différents tests bactériens (d'après Van Winkelhoff 2003).

## 2.3 L' EVALUATION DES REPONSES DE L'HÔTE

L'évaluation des défenses de l'hôte se fait essentiellement grâce aux produits de dégradation tissulaire et aux enzymes présents dans le fluide gingival et éventuellement dans la salive. Les réactions enzymatiques provoquées par l'agression bactérienne entraînent une augmentation mesurable de la concentration en molécules enzymatiques dans le fluide.

De même, la destruction tissulaire qui se produit au cours de la maladie parodontale se traduit par la formation de débris tissulaires déversés dans le fluide gingival. Enfin certains médiateurs de l'inflammation, Interleukine 1- $\beta$ , Tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ), prostaglandines E2 se retrouvent en quantité augmentée dans le fluide gingival lors de l'activité de la maladie.



### 2.3.1 Généralités sur le fluide gingival

Le fluide gingival a pour origine l'inflammation des structures parodontales (ALFANO, 1974). Il contient une grande variété de composants qui reflètent l'état métabolique des tissus parodontaux. Ces facteurs pourraient être considérés comme des marqueurs diagnostiques, voire pronostiques, de santé ou de maladie parodontale.

" On y retrouve des substances dérivées du fluide interstitiel (facteurs produits localement par les tissus traversés), du plasma et des bactéries de la plaque accumulées dans le sillon gingivo dentaire. La proportion de ces trois types de constituants dépend du caractère qualitatif et quantitatif de la plaque dentaire, du renouvellement du tissu conjonctif, de la perméabilité de l'épithélium et de la membrane basale, et du degré d'inflammation. Sa composition reflète donc assez bien l'activité biochimique au niveau des tissus sous-jacents " (INSERM, 1999).

Un marqueur biologique de maladie parodontale devra présenter des garanties indéniables de l'origine tissulaire. D'autre part, il devra être corrélé avec l'activité réelle de la lésion et être relativement stable et aisément quantifiable. De nombreuses substances ont été étudiées dans cette perspective. Il est possible de les classer en trois groupes (DOUGLASS et FOX, 1991 ; ARMITAGE, 2004) :

- médiateurs de l'inflammation (médiateurs du catabolisme et de l'anabolisme lié à la réparation)
- enzymes qui s'expriment hors de la cellule et qui dégradent les structures tissulaires
- produits du catabolisme tissulaire.

Il est très important que les prélèvements de fluide gingival soient pratiqués selon un protocole rigoureux, afin de limiter les contaminations salivaires, sériques et bactériennes, mais aussi afin d'éviter les agressions gingivales génératrices d'un « débit » artificiellement accru.

Le but de toutes ces analyses est de discriminer les patients à risque évolutif. De telles investigations pourraient également se révéler fort utiles pour les patients présentant des parodontites réfractaires. Enfin, elles pourraient permettre de prédire la fin d'une phase inactive, la maladie parodontale évoluant selon un mode épisodique et irrégulier. Reste à savoir si le rapport coût/aide à la décision est rentable, et si cette aide est effective.

La détection des marqueurs de la maladie parodontale dans le fluide gingival fait appel à des techniques de laboratoires souvent lourdes et onéreuses. La présence d'enzymes protéolytiques est souvent mesurée par des techniques immunologiques comme l'ELISA (INGMAN, 1996) et l'immunofluorescence (SORSA, 2004 ; KIILI, 2002). L'immunofluorescence est une méthode sensible pour la détection d'une enzyme spécifique mais n'est pas fiable pour une analyse quantitative. L'ELISA peut en revanche tester plusieurs marqueurs et réaliser une semi quantification au sein de l'échantillon. Ces méthodes sont sensibles et spécifiques mais demandent beaucoup de temps et ne sont pas adaptées à un usage en pratique quotidienne.

Pour pallier à ce problème, un certain nombre de kits à utiliser au fauteuil ont été développés pour être commercialisés ; toutefois, la plupart de ces tests ne sont plus disponibles ou n'ont pas dépassé le stade de prototype.

Nous allons donc passer en revue les différents marqueurs biologiques susceptibles de nous renseigner sur la phase de la maladie, envisager les potentialités, les limites et les inconvénients de chacun d'entre eux, ceci dans la perspective d'une éventuelle application clinique fiable et assez simple à mettre en oeuvre.

## **2.3.2 Marqueurs de l'inflammation gingivale**

### **2.3.2.1 Interleukines**

L'interleukine-1  $\beta$  (IL1  $\beta$ ) est une cytokine synthétisée par les macrophages ayant interagi avec un antigène bactérien. Elle induit la résorption osseuse et la sécrétion de certaines protéases. IL1  $\beta$  augmente avec l'inflammation gingivale et précède ses manifestations cliniques (PREISSET et coll., 1994). Les concentrations élevées de IL-1 dans le fluide gingival sont associées à la présence de bactéries pathogènes au sein de la plaque sous gingivale (BARSKY, 2007).

Chez des patients réfractaires, les résultats sont corrélés avec la présence dans la plaque sous gingivale de Aa, Pg et Ec. Lorsque l'on compare les sites produisant le plus de cytokines dans le fluide gingival, les sites des patients réfractaires produisent davantage d'IL-6 (NIBALI et coll., 2008).

Des études récentes démontrent l'implication d'autres interleukines (IL8, IL10, IL12 et IL18) dans la progression des parodontites (CULLIGAN et coll. 2008, OROZCO et coll. 2008, FIGUEREDO et coll. 2008).

L'IL4 en revanche semble inhiber la production de certaines cytokines parmi lesquelles IL1, IL6, IL 8 et le TNF-  $\alpha$ . Son taux décroît chez les patients atteints de parodontite. Il semble qu'il y ait une corrélation entre une augmentation de l'IL4 et l'amélioration de la santé parodontale (PRADEEP et coll., 2008).

Le dosage de ces interleukines est complexe et coûteux car il requiert des anticorps monoclonaux, dans le cadre d'une analyse par ELISA.

### **2.3.2.2 TNF- $\alpha$**

TNF- $\alpha$  est produit par les lymphocytes activés et les monocytes. C'est un puissant immunorégulateur capable, entre autres fonctions biologiques, de stimuler les fibroblastes et la résorption osseuse. Il est retrouvé en quantité variable dans le fluide gingival.

Des taux élevés de TNF- $\alpha$  sont retrouvés chez des patients atteints de parodontite, chronique ou agressive, en comparaison avec des sujets sains (KURTIS et coll., 2005 ;NILSON et KOPP, 2008).

Des recherches sont en cours pour évaluer l'efficacité des anti TNF- $\alpha$ , utilisés notamment en rhumatologie, sur les parodontites (PERS et coll., 2008).

### **2.3.2.3 Prostaglandine E2**

L'augmentation de la prostaglandine E2 (PGE2) est révélatrice d'une perte d'attache gingivale. PGE2 serait libérée localement par les leucocytes polynucléaires neutrophiles et les macrophages, avec une demi-vie biologiquement courte car elle est métabolisée sur place. Son activité est limitée aux territoires directement adjacents. On observe une augmentation des taux de PGE2 au niveau des sites atteints, ce qui participe à la destruction osseuse (LAMSTER, 2007 ; AIRILA-MANSON et coll., 2006).

## **2.3.3 Enzymes dégradant les structures tissulaires**

Les enzymes seront distinguées selon la nature de leur substrat. Les enzymes protéolytiques forment un groupe particulier, compte tenu de la très grande diversité des substrats protéiques concernés. Il est admis aujourd'hui que la spécificité d'une protéase repose en partie sur l'identité des quelques acides aminés présents sur le site de clivage du substrat.

### 2.3.3.1 Collagénase

L'activité de la collagénase a été détectée dans le fluide gingival, avec une intensité proportionnelle à la profondeur des poches et au degré d'inflammation gingivale.

L'intérêt clinique de la mesure de l'activité collagénolytique repose sur plusieurs observations. Le collagène type I est particulièrement bien représenté au sein des tissus parodontaux sains, mais disparaît en partie lors des gingivites, ce qui suppose une dégradation enzymatique importante.

Parmi les collagénases, la métallo protéinase matricielle 8 (MMP-8) est celle qui semble jouer un rôle majeur dans la parodontite chronique puisqu'elle représente 90 à 95% des collagénases du fluide gingival (LEE et coll., 1995; INGMAN et coll., 1996; GOLUB et coll., 1997). L'activité de la MMP-8 est également associée à l'inflammation retrouvée dans les gingivites (SORSA, 2004).

Des taux élevés de collagénases sont détectés chez les patients présentant une destruction progressive des tissus parodontaux en comparaison avec les taux relevés chez des patients dont la maladie parodontale est stable ou chez des patients présentant seulement une gingivite (ROMANELLI et coll., 1999 ; POZO et coll., 2005). Une baisse significative des niveaux de MMP-8 est observée après traitement parodontal (KIILI et coll., 2002 ; FIGUEREDO et coll., 2004).

### 2.3.3.2 Élastase

L'élastase est une endopeptidase issue des leucocytes polynucléaires neutrophiles, active contre divers substrats protéiques (élastine, collagène, protéoglycannes). Sa présence dans le fluide gingival est le reflet de l'activité leucocytaire, donc du processus inflammatoire en cours au sein des structures parodontales.

L'augmentation du taux d'élastase est en corrélation avec l'augmentation des signes de l'inflammation, les suppurations et les gingivorragies, représentatives de l'activité de la maladie (LEMAITRE, 1999).

Si ARMITAGE et coll. (1994) concluent en signalant que les sites à forte activité élastasique sont des sites à risque plus élevé pour une perte osseuse progressive, SMITH et coll. (1995) ont montré que, dans une population placée dans un système d'organisation de santé, les hauts niveaux d'élastase n'étaient pas associés à la perte d'attache. JIN et coll. (1995) estiment que le suivi de l'activité élastasique pourrait servir de marqueur de la stabilité parodontale avec pour autre paramètre l'absence

de saignement au sondage. Le même groupe a montré sur une population à parodontite réfractaire que la stabilité des niveaux élevés d'élastase signalait la parodontite réfractaire.

### **2.3.4 Produits du catabolisme tissulaire**

L'hydrolyse des structures macromoléculaires conjonctives accompagnant l'inflammation gingivale libère des produits de dégradation assez caractéristiques.

#### **2.3.4.1 Peptides et acides aminés**

La destruction du collagène génère des peptides et des acides aminés, dont certains comme l'hydroxyproline sont spécifiques et d'autres conservent certaines liaisons croisées. La collagénolyse associée à une parodontite a pu être suivie à l'aide de ces produits de dégradation, mais la méthodologie est complexe (COX et coll., 2006).

#### **2.3.4.2 Glycosaminoglycannes**

Plusieurs glycosaminoglycannes (GAG) issus du catabolisme des protéoglycannes conjonctifs apparaissent dans le fluide gingival (visualisés en électrophorèse sur acétate de cellulose). Ils semblent assez bien refléter le processus destructeur sous-jacent (BALDWIN et coll., 1999).

La plupart de ces GAG sont des constituants de l'os, du ciment, de la gencive, du ligament et des tissus conjonctifs en général et sont caractéristiques des parodontites aiguës ou chroniques, du mouvement orthodontique, des blessures d'extraction.

### **2.3.5 Enzymes cytoplasmiques issues de lyse cellulaire**

Toute nécrose tissulaire s'accompagne d'une augmentation brutale de la concentration d'un certain nombre d'enzymes strictement endocellulaires. Ce phénomène s'observe lors de l'infarctus du myocarde ou lors d'hépatites aiguës, mais aussi à l'occasion de poussées inflammatoires. C'est ce qui a incité quelques auteurs à suivre l'évolution de certaines enzymes intracellulaires dans le fluide gingival.

### **2.3.5.1 Lacticodéshydrogénase**

La lacticodéshydrogénase (LDH) est présente au sein du fluide gingival. Son activité est corrélée avec le nombre de Pg. Des taux de LDH en hausse, en particulier les isoenzymes LDH4 et LDH5, sont associés à une augmentation de la profondeur de poche (NOMURA et coll., 2006). C'est une voie à approfondir.

### **2.3.5.2 Aspartate aminotransférase**

L'aspartate aminotransférase (AST) est une enzyme très répandue qui participe à la chaîne de transfert des groupes aminés issus des acides aminés. Elle est normalement confinée dans le cytoplasme et constitue un indicateur de dommage tissulaire (nécrose tissulaire et mort cellulaire) couramment utilisé, par exemple, pour le diagnostic ou le suivi des nécroses myocardiques ou des hépatites aiguës.

L'AST uniquement présente dans les cellules est libérée lors de la mort de celles-ci et doit donc être corrélée avec l'étendue de la destruction du tissu (WOLF, 2005).

Il a été montré que l'activité AST du fluide gingival était corrélée avec l'intensité de la parodontite et de la gingivite. Il semble aussi que l'expression de cette enzyme reflète bien les phases actives de la maladie parodontale, matérialisées par les cinétiques de perte d'attache (PERSSON et coll., 1992 ; SHIMADA, 2000 ; BARBOSA, 2003). Des niveaux élevés d'AST sont à mettre en relation avec les signes de destruction parodontale tels que les poches parodontales, le saignement gingival et les suppurations (CESCO et coll., 2003).

Pour SHIMADA et coll. (2000), le taux d'AST du fluide gingival peut être un complément utile lors de l'évaluation de la thérapeutique puisque qu'il diminue quand l'état parodontal s'améliore.

Ce marqueur semble donc digne d'intérêt, malgré les interférences toujours possibles avec des pathologies nécrosantes.

### **2.3.6 La température sous gingivale**

Il existe une corrélation entre l'élévation de la température sous gingivale et la gravité de la maladie (HAFFAJEE et coll., 1992). Une sonde thermique automatique est commercialisée au États Unis Periotemp® Abiodent, USA (figure 23). La température peut être mesurée à l'aide d'une sonde de

température fine, graduée et stérile qui est insérée avec soin jusque dans le fond de la poche. Une échelle de couleur sur laquelle figurent les 32 dents passe du vert au rouge lorsque la température sous gingivale moyenne de 35,5°C est dépassée. Les valeurs mesurées peuvent être imprimées.

Cette sonde permettrait de dépister, essentiellement en maintenance, les sites actifs. La faible sensibilité (31 %) de ce test ne permet pas une fiabilité diagnostique importante (LEMAITRE, 1999), il y a trop de faux négatifs. Pour d'autres auteurs, si la mesure de la température sous gingivale permet de conclure à une inflammation, elle ne peut pas prédire l'évolution de celle-ci (FEDI et KILLOY, 1992).



Figure 23. Système Periotemp®

En conclusion, ces tests devraient idéalement compléter les analyses microbiologiques, permettre l'identification des phases d'activité de la maladie, et évaluer l'effet thérapeutique. Ils constituent d'excellents outils de recherche. Néanmoins, si les données scientifiques sont prometteuses, ce type de test peine à s'imposer dans le pratique courante car l'adaptation en kit utilisable au fauteuil n'est pas encore aboutie.

## 2.4 TEST GENETIQUE ET APPRECIATION DU RISQUE A L'INFLAMMATION PARODONTALE

### 2.4.1 Polymorphisme du gène IL-1

Les polymorphismes sont des variations stables de séquences nucléotidiques de gènes, par opposition aux mutations. Ils sont à l'origine de variations dans l'expression génétique restant dans les limites de ce qui est considéré comme la normalité.

Des médiateurs cellulaires solubles (les cytokines) ont été associées à la destruction parodontale s'ils sont produits en quantité excessive et/ou continue dans les tissus inflammatoires.

L'interleukine 1 (IL-1) est une famille de protéines parmi lesquelles IL1  $\alpha$  et IL1  $\beta$  jouent un rôle clé dans la réaction inflammatoire. L'IL-1  $\alpha$  de multiples propriétés dont la principale est la stimulation par les fibroblastes de métallo protéinases (MMP) qui dégradent le collagène dans les tissus inflammatoires. D'autre part, l'IL-1 exerce des effets ostéolytiques par le biais de deux mécanismes différents :

- direct : stimulation directe des ostéoclastes
- indirect : stimulation de la sécrétion des prostaglandines qui agissent à leur tour sur les ostéoclastes.

Les gènes IL-1A et IL-1B codent les protéines IL1  $\alpha$  et IL1  $\beta$ . Deux polymorphismes touchant la partie régulatrice de ces gènes ont été associés à des variations quantitatives de leur expression (figure 24). L'allèle le plus représenté dans la population est, par définition, l'allèle 1, l'allèle 2 étant le variant.

Chaque individu possède deux allèles de chacun de ses gènes, un allèle paternel et un allèle maternel. Pour les gènes IL-1A et IL-1B, le génotype peut donc être [1,1], [1,2], ou [2,2]. Dans le cas du gène IL-1 la mutation n'affecte qu'une seule paire de base on parle de « single nucleotide polymorphism » (SNP, polymorphisme d'un seul nucléotide) (WOLF, 2005).



La présence de l'allèle IL-1A2 augmente la sécrétion d' IL1  $\alpha$  qui serait majorée de 4 fois chez des patients atteints parodontite sévère (SHIRODARIA 2000).

De même, la présence de l'allèle IL-1B2 augmente la sécrétion d' IL1  $\beta$ , in vitro par rapport à un individu porteur de deux allèles 1 (IL1B1,1) ; en effet la sécrétion d'IL1  $\beta$  serait doublée en présence d'un allèle 2 hétérozygote (IL-1B1,2) , et quadruplée chez un sujet homozygote (IL-B2,2) (POCIOT 1992).

Pour KORNMAN et coll. (1997), cette propension accrue à l'inflammation du génotype IL-1 positif n'a généralement pas d'effet immédiat sur le parodonte, à condition qu'il n'existe aucun autre risque tel que le tabagisme, une hygiène buccale inadaptée, ou une maladie systémique comme le diabète sucré, etc. En revanche, si des risques sont présents à long terme, alors le polymorphisme IL-1 positif renforce et accélère considérablement une parodontite.

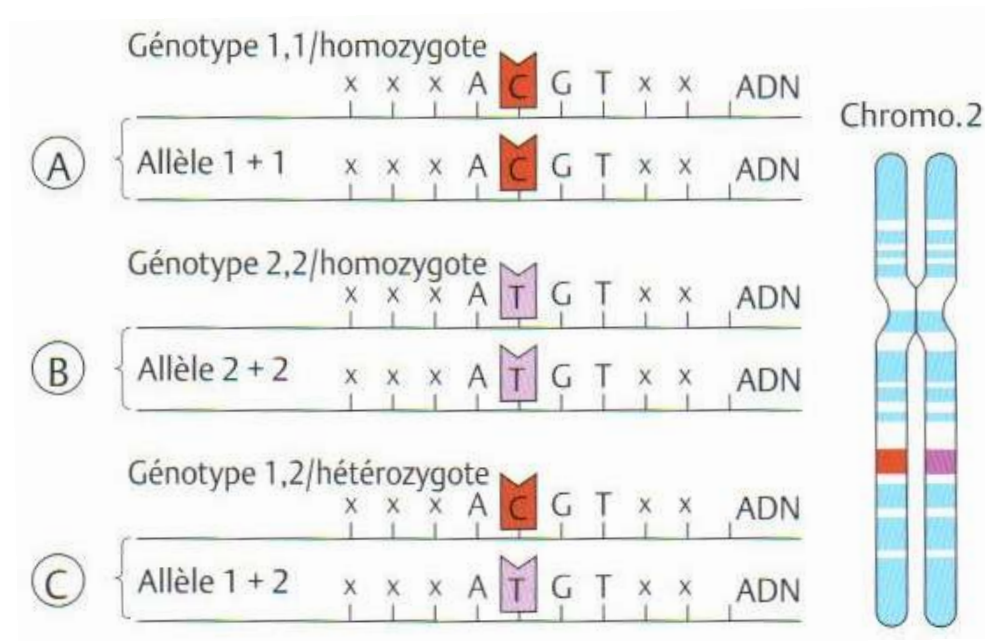


Figure 24. Polymorphisme et génotype; en cas de SNP, trois variantes sont possibles (WOLF, 2005).

## 2.4.2 Présentation du test

Les tests génétiques de l'interleukine 1 proposés par plusieurs laboratoires spécialisés mesurent les SNP de l'IL-1a sur le locus (position) +4845 ou -889 et de l'IL-1b sur le locus +3954.

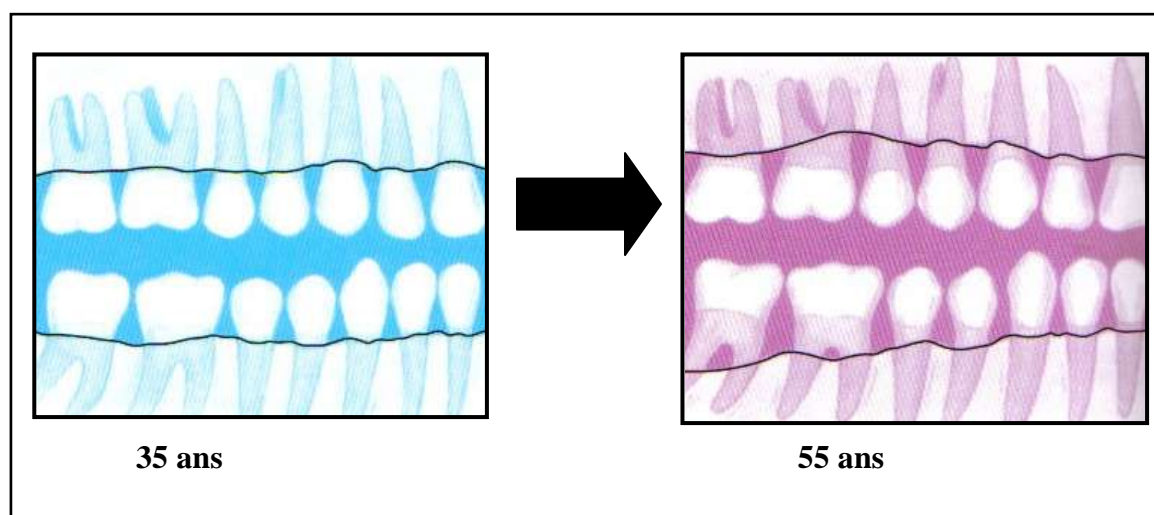
Ces tests ADN simples nécessitent des cellules de l'hôte prélevées dans le sang, la salive ou la muqueuse jugale. L'ADN, en faible quantité doit être amplifié par la PCR avant l'évaluation. Le test est considéré positif s'il révèle au moins une copie de l'allèle 2 pour IL-1A et IL-1B.

Les différents tests disponibles sur le marché sont :

- PST®, Interleukin Genetics
- GenoType PRT®, Hain
- ParoGenTest®, IAI.

Les illustrations suivantes montrent les conséquences d'un polymorphisme génétique IL-1 positif :

Dans le premier cas (figure 25), le patient âgé de 35 ans présente une perte osseuse de 10% en raison d'une parodontite chronique débutante. Avec une très bonne hygiène buccale, un suivi régulier et sans autre facteur de risque, ce patient a de grandes chances de conserver toutes ces dents 20 ans plus tard. En revanche, la perte osseuse progressera au niveau de plusieurs sites.



**Figure 25 . Evolution de la perte osseuse chez un patient IL-1 positif avec une très bonne hygiène buccale (WOLF 2005)**

Chez un patient du même âge, dans les mêmes conditions, une hygiène buccale moyenne au mieux, risque d'entraîner en 20 ans une perte osseuse importante ainsi qu'un édentement plus ou moins étendu (figure 26); le génotype IL-1 positif est un facteur de sévérité et accroît la perte d'attache et d'os.

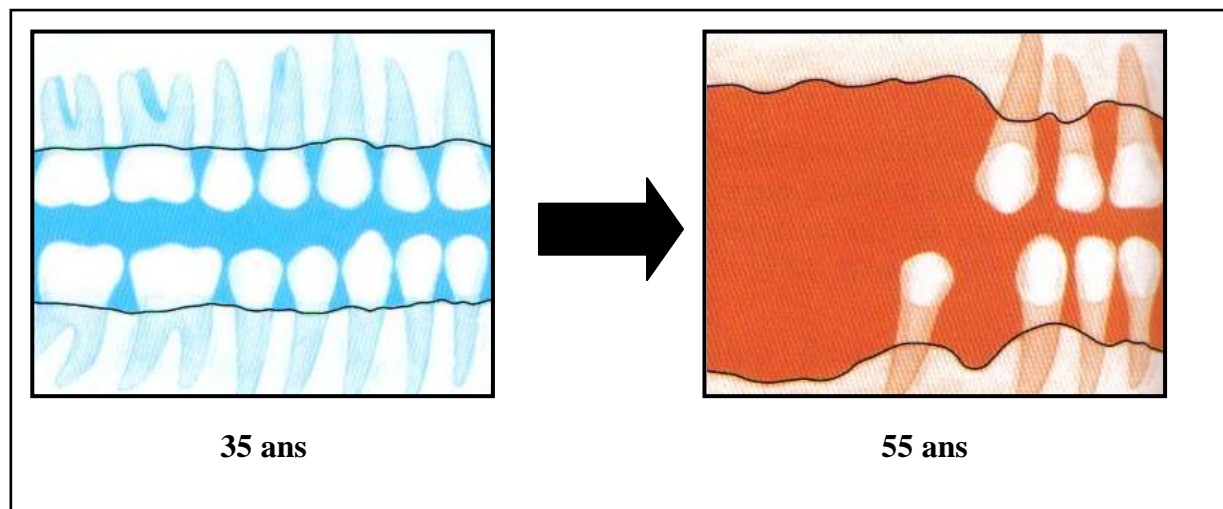


Figure 26. Evolution du niveau osseux chez un patient IL-1 positif avec une hygiène buccale moyenne (WOLF 2005).

### 2.4.3 Intérêts cliniques

KORNMAN et coll. (1997) ont montré chez les adultes, non-fumeurs, une augmentation de la prévalence des parodontites avancées chez les patients génotype positif; ces sujets ont un risque de développer une parodontite sévère 6,8 à 18,9 fois supérieurs, en fonction de la tranche d'âge étudiée.

Cette étude initiale a été confirmée par d'autres travaux :

- sur une population de 90 patients non-fumeurs et anciens fumeurs, MAC DEVITT et coll. (2000) trouvent un risque relatif de présenter une parodontite chronique modérée à sévère augmenté de 5,3 chez des patients génotypes positif non-fumeurs ou ayant fumé moins de 5 cigarettes par jour; chez les patients génotypes négatifs ayant fumé 5 à 10 cigarettes par jour, ce risque est de 7,4.
- le tabac serait un facteur de risque important lorsqu'il est associé au génotype positif. Sur un groupe de patients ayant suivi une thérapeutique parodontale de soutien de 14 ans, MC GUIRE et NUNN (1999) observent chez 16 sujets génotype positif un risque de perte dentaire augmentée de 2,9 fois, et de 7,7 fois chez les sujets à la fois fumeurs et génotypes positifs.

- pour SOCRANSKY et coll. (2000) les patients génotype positif présenteraient de plus forte concentration de bactéries des complexes bactériens à risque (complexes rouge et orange dans les poches parodontales supérieures à 6mm).

Chez les patients génotype positif, si le contrôle de plaque du patient est performant et si son environnement parodontal le permet (suppression chirurgicale des poches), le pronostic à long terme est favorable, car la flore parodontale sera efficacement modifiée (MOMBELLI et coll., 1995) et le facteur génétique défavorable ne pourra s'exprimer.

Pour LANG et coll. (2000), parmi des sujets n'ayant jamais fumé, les patients génotypes positifs présentent, après correction pour le taux de plaque, significativement plus de saignement au sondage (en prévalence et en incidence). Les patients génotypes négatifs présenteraient 50% moins de chance d'avoir du saignement au sondage. Ainsi certains individus ont génétiquement une réponse inflammatoire accrue des tissus parodontaux et donc un risque accru de progression/ récurrence de la maladie.

Un résultat moins favorable pour les génotypes positifs serait aussi constaté en chirurgie muco-gingivale : recouvrement de 40% contre 76% chez les génotypes négatifs (CAFFESSE et coll., 2001). Pour les patients génotype positif et fumeurs le risque de perte osseuse et de complications serait augmenté lors des traitements implantaires (GRUICA, 2004 ; LANG et coll., 2000).

En conclusion, chez l'adulte atteint de parodontite chronique (modérée à sévère), le test est préconisé dans les situations suivantes (ETIENNE et coll., 2003) :

- traitement orthodontique
- traitement prothétique important
- décalage clinique entre des dépôts de plaque superficiels et une lyse osseuse avancée
- thérapeutique de régénération
- patients fumeurs
- évaluation du risque d'aggravation après une thérapeutique non chirurgicale
- aide à la décision chirurgicale
- risque de maladie cardio-vasculaire, femme enceinte
- antécédents familiaux de parodontite.

#### 2.4.4 Limites

Actuellement, la connaissance du facteur génétique est incomplète et l'intérêt clinique de ce test serait à revoir car il présente une sensibilité et une spécificité limitée. Il-1 est la plus ubiquitaire des interleukines. Elle est produite au moindre signe d'infection. Le polymorphisme de cette interleukine n'aurait finalement que peu de lien avec la maladie parodontale. Il n'y aurait pas de corrélation entre une infection avec Aa et Pg ni de plus grande susceptibilité à la perte d'attache en relation avec ce polymorphisme (EHKME et coll., 1999).

Pour l'instant ce test n'a qu'une valeur prédictive moyenne, de plus, il n'a pas été évalué chez toutes les populations (GREENSTEIN et HART, 2002).

Pour MARK et al. (2000), en présence de bactéries parodonto-pathogènes et d'espèces associées à la santé parodontale, la quantité d'IL1b, sécrétée par les monocytes de patients génotype positif et négatif est très variable selon le stimulant et cela sans différence significative.

Dans les parodontites agressives, le génotype positif ne s'est pas révélé être un marqueur efficace de la maladie sur une population caucasienne et afro-américaine. La prévalence du génotype [IL-1B1,1] serait même accrue .

D'autres allèles, différents des polymorphismes explorés par le test PST®, pourraient être responsables de la régulation de la sécrétion d'IL-1 par les monocytes. Il est aussi probable que des polymorphismes concernant d'autres cytokines seraient à prendre en compte en tant que facteur de risque.

Ainsi, des travaux sur le codage du fragment Fc des cellules phagocytaires, sur le polymorphisme des Ig-G2 et sur la prostaglandine E2 sont en cours avec des résultats prometteurs (NARES, 2003).

### **3 PLACE DES TESTS BIOLOGIQUES DANS LE TRAITEMENT PARODONTAL**

Depuis une quinzaine d'années, le développement des tests biologiques a connu un véritable essor. Il est reconnu que ces tests peuvent être utilisées chez tous les patients, mais certains sont plus indiqués que d'autres en fonction de l'étape du plan de traitement et du but recherché.

#### **3.1 DEPISTAGE DES SUJETS A RISQUE**

##### **3.1.1 Généralités**

Les maladies parodontales destructrices (c'est-à-dire celle qui s'accompagnent de pertes d'attache sévères généralisées) n'atteignent qu'un pourcentage relativement faible d'individus.

" Pour des raisons évidentes d'ordre moral, éthique, économique, social, humain et professionnel, il est crucial que nous soyons capables de dépister les sujets à risque de développer une parodontite sévère afin de prévenir l'apparition d'un édentement total ou partiel mal vécu par les patients.

L'approche dominante de la prévention des maladies parodontales a été très longtemps de contrôler toutes les gingivites par l'installation d'une hygiène dentaire stricte. Tous les patients sont donc encouragés à «nettoyer» très rigoureusement leurs dents trois fois par jour pendant trois minutes et à consulter régulièrement un dentiste pour un détartrage-polissage. Cependant, l'hygiène seule n'empêche pas l'apparition de certaines formes de parodontites dans le groupe des patients à haut risque. Notre objectif sera donc de concentrer notre énergie et nos moyens au profit des patients à risque de développer des maladies parodontales sévères " (CHARON et coll., 1998).

Les tests microbiologiques sont indiqués dans ce cas pour identifier les patients à haut risque parodontal. Ils doivent être hautement sensibles et modérément spécifiques.

### 3.1.2 Entretien clinique

L'entretien clinique constitue la première étape du dépistage. Un individu à risque est un sujet qui, en l'absence de manœuvres préventives adéquates, souffrira, avant l'âge de 50 ans, d'une édentation partielle ou totale invalidante, conséquence de la maladie parodontale.

Le dépistage du risque parodontal s'effectue sur des sujets indemnes de perte d'attache mais risquant de ne pas le rester. Ce risque devra donc être réévalué régulièrement tous les ans.

La plupart des informations permettant de dépister un sujet à risque peuvent être recueillies relativement facilement au cours d'un entretien mené dans un climat de confiance entre le praticien et son patient.

Les sujets à haut risque de déclencher une parodontite sévère présentent une ou plusieurs des cinq grandes caractéristiques suivantes (tableau 13) (CHARON, 1998) :

- antécédents familiaux de parodontite sévère : 100% des patients présentant des parodontites agressives possèdent des antécédents familiaux
- réponse défavorable au stress psychologique :
  - stress professionnel : profession à risque, surcharge de travail, secteur menacé, conflit au sein de l'entreprise, climat relationnel difficile
  - stress familial : deuil, divorce, maladie d'un proche, drogue
- situations médicales : tabac, éthyliisme, ulcère gastro-duodéal, bruxisme, maladies dermatologiques associées au stress comme le psoriasis, la dépression
- susceptibilité aux infections
- susceptibilité à la carie dentaire : une grande partie des individus à haut risque parodontal présente une résistance relative ou totale à la carie dentaire
- historique de gingivite ulcéro-nécrotique (GUN).

CARACTERISTIQUES	RISQUE ELEVE	RISQUE FAIBLE
Antécédents familiaux	100%	12%
Signes du stress	84%	52%
Passé médical	80%	44%
Sensibilité à la carie	32%	67%
Antécédents de GUN	32%	4%

Tableau 13. Caractéristiques des patients à risque ( d'après CHARON et coll. 1998).

Enfin les caractéristiques des sujets à risque qui développent une maladie parodontale sévère sont les mêmes que ceux qui récidivent après traitement. Par conséquent, si une des caractéristiques est retrouvée chez un patient déjà atteint de parodontite, le traitement et la maintenance devront être encore plus rigoureux (AXTELIUS et coll. 1997).

Cet entretien est ensuite suivi d'un examen clinique minutieux qui évaluera :

- l'inflammation des tissus superficiels
- la qualité du contrôle de plaque
- la mobilité des dents

Le sondage permettra d'apprécier :

- la profondeur de poche
- la partie d'attache
- les récessions
- le saignement au sondage

### **3.1.3 Examens biologiques**

Une fois l'entretien et les examens cliniques réalisés, nous sommes en présence d'un patient qui présente une ou plusieurs caractéristiques du risque. On peut alors se trouver devant trois situations :

- le sujet à faible risque parodontal
- le sujet à risque parodontal moyen
- le sujet à haut risque parodontal

#### **3.1.3.1 Risque parodontal faible**

Si le patient présente peu ou pas de risque parodontal, les tests biologiques ne sont pas indiqués. Dans ce cas, il suffira de prescrire les méthodes d'hygiène dentaire classiques.

Cependant l'examen de dépistage doit s'accompagner d'explications claires pour que le patient comprenne l'intérêt du dépistage. Ces explications peuvent être étayées par le prélèvement et l'observation d'un échantillon de plaque de ce patient.



Cette observation doit être réalisée sans aucun but de pression psychologique sur le patient, le rôle du praticien est d'accompagner cette observation d'un discours adapté et choisi afin de ne pas déclencher chez le patient une « névrose bactériophobique ». Une amélioration importante de l'hygiène bucco-dentaire est observée chez les patients après observation sur écran des organismes présents dans la cavité buccale (TEDSCO et coll., 1985). La clé du succès est une triade information-motivation-coopération et celle-ci peut être améliorée grâce à la microscopie directe (LINDHE et coll., 1982).

### **3.1.3.2 Risque parodontal élevé**

Le patient présente une ou plusieurs caractéristiques du risque parodontal. En dépit des limites exposées précédemment concernant l'examen au microscope, CHARON et coll. (1998) préconisent en première intention le prélèvement d'un échantillon de plaque sous gingivale sur un ou plusieurs sites suivi d'une observation au microscope à contraste de phase afin de déterminer si la flore est compatible ou non avec la santé parodontale.

#### **3.1.3.2.1 Flore compatible avec la santé parodontale**

Rappelons qu'une flore fixe, avec prédominance de cocci et bacilles droits peut être considérée comme compatible avec la santé parodontale. Nous nous servons de cet examen pour illustrer notre discours lors des explications fournies au patient afin d'accroître sa motivation.

Dans ce cas il faut mettre en place une méthode de contrôle de plaque adaptée afin que la flore reste compatible avec la santé parodontale.

#### **3.1.3.2.2 Flore incompatible avec la santé parodontale**

Rappelons qu'une augmentation du nombre d'organismes mobiles et de la proportion de spirochètes et de filaments est incompatible avec la santé parodontale.

On peut recourir en seconde intention à d'autres tests parodontaux. Ces tests doivent être hautement spécifiques afin de dépister de façon certaine les sujets à risque.

Le dépistage peut ainsi être amélioré grâce à l'utilisation de tests immunoenzymatiques, qui, s'ils se révèlent positifs peuvent alerter le praticien sur l'opportunité d'une thérapie préventive. Le test

Dentocheck® peut également être mis en œuvre, même s'il est moins spécifique. Ce test a l'avantage de pouvoir être réalisé au fauteuil, de façon rapide (en 15 min) et pour un moindre coût.

En revanche, malgré leur précision et leur fiabilité, les cultures bactériennes et techniques génétiques sont rarement prescrites à ce stade du traitement en raison du coût et du temps que nécessite leur mise en œuvre puisque les résultats sont différés de quelques jours à quelques semaines.

## **3.2 STADE DIAGNOSTIC ET THERAPEUTIQUE**

Nous avons largement évoqué dans la première partie le fait que :

- d'une part les maladies parodontales sont des maladies infectieuses spécifiques et qu'à chaque type de maladie parodontale correspond un profil bactérien particulier
- d'autre part les maladies parodontales évoluent de façon cyclique, alternant phases d'activité et périodes plus ou moins longues de rémission.

Le concept de spécificité bactérienne dans la parodontite a donc des implications thérapeutiques importantes. Les tests disponibles doivent permettre à ce stade diagnostic et thérapeutique de :

- confirmer le diagnostic clinique et le préciser en identifiant les germes en présence
- d'évaluer l'activité de la maladie et prédire son évolution
- d'optimiser l'efficacité de la thérapeutique anti-microbienne, grâce à une stratégie anti-infectieuse ciblée.

### **3.2.1 Diagnostic**

Un diagnostic précis de la maladie parodontale et de son activité s'avère indispensable pour évaluer son étendue chez un patient donné. Or, si le clinicien a besoin d'un test biologique qui facilite la détection de pathogènes parodontaux, il doit se poser la question de savoir ce qui est mesuré. En effet, les tests évaluent le taux de pathogènes parodontaux, mais ne mesurent pas forcément la sévérité de la maladie.

C'est ainsi que des bactéries pathogènes peuvent être présentes en nombre élevé sans qu'il y ait une perte d'attache ou de tissus osseux importante chez un patient peu sensible aux infections parodontales ; en revanche une augmentation de germes virulents chez un sujet à risque accroît le risque de perte d'attache.

Les tests microbiologiques ne sont donc pas en eux même des tests diagnostic de la maladie parodontale, mais font partie d'un ensemble de moyens à la disposition du praticien, avec les moyens cliniques et radiologiques, pour confirmer un diagnostic. Ces tests doivent donc être interprétés en fonction du contexte clinique dont ils sont indissociables.

### **3.2.1.1 Caractérisation du type de maladie**

Comme nous l'avons vu dans la première partie, il existe différentes formes de maladies parodontales. En général, un examen clinique bien mené permet de mettre en évidence le type de maladie dont est atteint le patient. Cependant les tests bactériens peuvent confirmer le diagnostic présumé en identifiant les bactéries en présence.

Les tests doivent permettre de caractériser le profil bactérien de la flore sous gingivale, et donc avoir une forte sensibilité et une spécificité modérée. Les tests les plus indiqués à ce stade sont :

- les cultures bactériennes : elles permettent de détecter le plus large spectre de bactéries présentes, et donc d'identifier les pathogènes les plus fréquents comme les plus inhabituels, ainsi que les associations microbiennes particulières. De plus, c'est la seule méthode qui permet, grâce à l'antibiogramme, de choisir le ou les associations d'antibiotiques les plus adaptés.
- les techniques moléculaires : elles autorisent de façon fiable la détection de bactéries non ou difficilement cultivables, ainsi que des pathogènes peu communs.

Les tests microbiologiques sont particulièrement recommandés dès la phase diagnostique dans les cas suivants (MASSON, 1994) :

- les parodontites agressives afin de déterminer les espèces prédominantes
- les anciennes parodontites juvéniles afin de vérifier le taux de Aa
- les parodontites associées à des maladies systémiques.

### **3.2.1.2 Evaluation de l'activité de la maladie**

Ces dernières années de nombreux travaux ont mis en évidence la nature cyclique de la maladie parodontale. Au concept de destruction progressive s'est substituée la notion d'activité cyclique de la maladie. Sa détermination est difficile, surtout pour les formes cliniques à destruction rapide. Il est cependant souhaitable pour le praticien de moduler ses thérapeutiques selon les épisodes de destruction osseuse, de déterminer les sites à risque ou plus simplement de distinguer les poches parodontales actives de celles qui ne le sont pas.

En ce qui concerne les tests identifiant les pathogènes parodontaux, il y a peu d'information indiquant que la détection des pathogènes laisse prévoir une activité pathologique future. Bien que cette extrapolation paraisse raisonnable, la capacité prédictive des informations apportées par la culture de germes ou les techniques moléculaires en matière de détérioration de l'état parodontal reste encore à clarifier.

L'évaluation immunologique, notamment par la technique ELISA permet une détection fiable de la réponse anticorps suscitée par une bactérie donnée. HAFFAJEE et coll. (2006) constatent que, quelques mois avant un épisode de perte d'attache, il existe localement des taux élevés d'anticorps anti-Aa. Aussi les dosages immunologiques associés à l'examen clinique peuvent être d'une grande utilité quant au diagnostic d'une activité éventuelle ou à venir et donc à l'instauration d'une surveillance plus étroite et d'un traitement préventif.

L'évaluation de l'activité de la maladie parodontale et de son évolution est encore assez difficile. Les tests aujourd'hui proposés cherchent à déterminer des marqueurs fiables de la maladie parodontale, mais n'autorisent pas encore une évaluation précise de son activité.

## **3.2.2 Thérapeutique**

### **3.2.2.1 Généralités**

La sévérité de la maladie parodontale est déterminée par la composition de la flore sous gingivale, la quantité totale de bactéries et la sensibilité de l'hôte. La spécificité microbienne dans les parodontites permet la mise en place d'une stratégie thérapeutique anti-infectieuse qui vise à supprimer ou éliminer les pathogènes parodontaux (VAN WINKELHOFF, 2003).

Comme nous l'avons vu, l'importance des espèces bactériennes sous gingivales spécifiques a été clairement démontrée par la corrélation entre la présence d'espèces bactériennes et l'aspect clinique de certaines formes de parodontites.

Les formes précoces de parodontites sont étroitement associées à la présence de Aa et Pi ; les parodontites chroniques présentent essentiellement des anaérobies strictes, Pg semblant jouer un rôle primordial.

La microbiologie clinique peut chez certains patients contribuer à rendre plus efficace la thérapeutique conventionnelle, en guidant le choix de l'antibiothérapie adjuvante. Dans ce cas le but du test bactériologique sera d'identifier les espèces microbiennes en présence pour déterminer l'antibiotique ou l'association d'antibiotiques les plus adaptés pour combattre l'infection.

Actuellement, seule la culture bactérienne permet la réalisation d'un antibiogramme ; les techniques génétiques peuvent mettre en évidence des gènes de résistance aux antibiotiques, mais il n'existe pas encore d'application clinique.

### **3.2.2.2 Protocole thérapeutique**

Un protocole thérapeutique est proposé dans la figure 27 (VAN WINKELHOFF et WINKEL, 2005).

La première étape est l'établissement d'un diagnostic précis.

La deuxième étape est le traitement mécanique conventionnel :

- il repose sur l'accès aux surfaces radiculaires afin d'éliminer le tartre, le ciment infiltré par les dépôts bactériens, et la mise en place d'un contrôle de plaque efficace pour éviter la recolonisation bactérienne.
- l'efficacité du traitement mécanique varie en fonction des pathogènes parodontaux. Certains micro-organismes sous gingivaux ne sont pas éliminés en raison de leur localisation dans des zones non atteintes par l'instrumentation, telles que les lésions interradiculaires profondes. Les troubles systémiques et le stress peuvent favoriser la persistance de taux élevés de Pi et Fusobactérium. Aa est particulièrement résistant au traitement mécanique, sans doute en raison de sa capacité à envahir les tissus gingivaux.

- même si le traitement mécanique ne permet pas d'éliminer tous les pathogènes, il entraîne une réduction du nombre total de bactéries et supprime le tartre et le ciment infiltré. La réduction du nombre total de bactéries est nécessaire avant d'instaurer une antibiothérapie.

La troisième étape est l'examen microbiologique qui permet de choisir la molécule la plus adaptée ; la culture bactérienne est la seule technique permettant de déterminer la susceptibilité microbienne à un antibiotique donné.

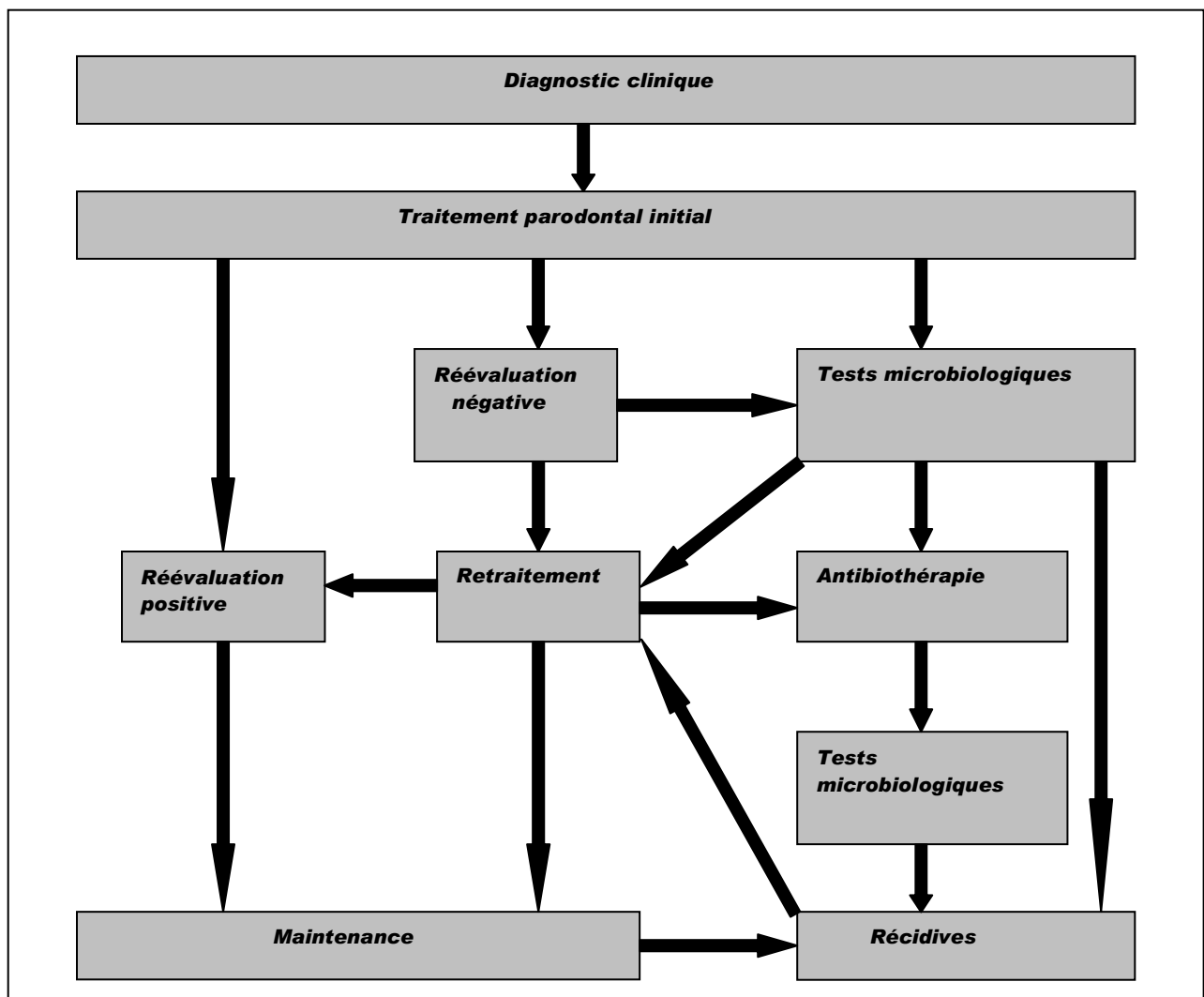


Figure 27. Place des tests biologiques et utilisation des antibiotiques dans le traitement parodontal (d'après Van Winkelhoff et Winkel 2005).

### **3.2.2.3 Antibiothérapie**

#### **3.2.2.3.1 Généralités**

L'antibiothérapie curative a pour but de raccourcir l'évènement clinique dans les situations d'infection bactérienne documentée ou non en accord avec les recommandations thérapeutiques (AFSSAPS, 2001).

"L'utilisation des antibiotiques peut se faire sous deux formes dans les cabinets dentaires : une forme probabiliste ou une forme documentée. La forme probabiliste ne doit pas être réalisée en aveugle mais justifiée par le praticien pour que l'antibiothérapie soit la plus adaptée aux bactéries supposées être impliquées. La prescription documentée sera réalisée après prélèvement bactérien et la réalisation d'un antibiogramme. Dans le cas des analyses moléculaires, le praticien va se trouver dans une situation intermédiaire, avec un profil bactérien mais sans test de sensibilité" (VERNER 2007).

#### **3.2.2.3.2 Molécules (SIXOU 2005)**

Les principales familles utilisées en odontologie sont au nombre de cinq : les  $\beta$ -lactamines, les macrolides, les macrolides apparentés, les tétracyclines et les imidazoles.

##### **3.2.2.3.2.1 Les $\beta$ -lactamines**

Elles sont les plus utilisées en première intention, en odontologie, notamment en ce qui concerne l'amoxicilline et l'ampicilline. Elles ont un spectre incluant les cocci à Gram positif et négatif, les bacilles à Gram positif, les anaérobies à gram positif et Fn, les spirochètes, Pg et Pi de façon variable.

Il est constaté des résistances vis-à-vis des anaérobies ; les aminopénicillines sélectionnent les bactéries productrices de  $\beta$ -lactamases, enzymes capables de les dégrader par hydrolyse. C'est pourquoi on peut utiliser un inhibiteur de ces enzymes, l'acide clavulanique (forme combinée amoxicilline-acide clavulanique).

La posologie pour un adulte de 70kg est de 2 g/jour pendant 7 jours au minimum, aucun consensus sur la durée n'existant. Leur demi-vie est d'environ une heure.

### **3.2.2.3.2.2 Les macrolides**

Les macrolides ne sont pas des antibiotiques de premier choix pour traiter les maladies parodontales car le spectre d'activité est efficace sur les bactéries à Gram positif aéro-anaérobies mais peu ou pas actifs sur les bactéries Gram négatifs, c'est-à-dire les bactéries impliquées dans les maladies parodontales. De plus ils présentent de nombreuses interactions avec d'autres médicaments.

### **3.2.2.3.2.3 Les macrolides apparentés**

Leur mode d'action est très proche des macrolides mais avec un spectre d'activité élargi. On retrouve les lincosamides (clindamycine et lincomycine) et les streptogramines (pristinamycine).

Pour les lincosamides, le spectre d'action est élargi aux cocci et bacille à Gram positif et anaérobies à Gram positif et négatif. Mais si ce spectre est adapté aux infections parodontales, ils ne sont pas des molécules de choix, compte tenu des problèmes digestifs rencontrés.

Pour les streptogramines, l'action semble meilleure que les macrolides sur les bactéries anaérobies, mais avec un mode de fonctionnement très proche. Peu de résistances bactériennes ont été décrites. La pristinamycine constitue un antibiotique de choix en cas d'allergie aux  $\beta$ -lactamines, en prophylaxie ou en antibiothérapie. La posologie est la même que pour les  $\beta$ -lactamines : 2g/j chez un adulte de 70kg en deux à trois prises.

### **3.2.2.3.2.4 Les imidazoles**

Les nitro-imidazolés sont très présents dans les prescriptions odontologiques et notamment le métronidazole. Il a une action bactéricide sur les bactéries anaérobies strictes. Des sensibilités différentes sont rapportées ces dernières années. La posologie pour un adulte de 70kg est de 1,5g/jour en trois prises.

### **3.2.2.3.2.5 Les tétracyclines**

La deuxième génération de tétracyclines a fait apparaître la doxycycline et la minocycline qui ont augmenté l'efficacité et diminué les effets secondaires. Elles ont un spectre de moins en moins large compte tenu des résistances, mais très sélectif et efficace sur les *Aggregatibacter sp.* Cette spécificité est très précieuse dans les formes agressives de parodontites. La posologie recommandée pour les parodontites agressives localisées est de 100mg/j pendant 15 à 20 jours.



### 3.2.2.3.3 Indications

Une antibiothérapie systémique est recommandée dans les cas suivants (AFSSAPS, 2001):

- patients présentant une parodontite agressive
- patients continuant à présenter des destructions en dépit d'un traitement conventionnel classique (parodontite réfractaire)
- patients ayant une infection parodontale aigüe ou sévère (GUNA, PUNA)
- patients présentant une pathologie médicale prédisposant aux parodontites (leucémie et diabète).

Dans le cadre du traitement de la parodontite chronique, la prescription d'antibiotiques en curatif n'est pas recommandée en première intention, sauf en cas de présence de signes généraux. En effet, l'efficacité d'un traitement parodontal se traduit par la disparition de la symptomatologie clinique, la réduction du nombre ou la disparition des principaux germes pathogènes impliqués dans cette pathologie et le retour à l'état normal de la flore commensale.

Le traitement mécanique (détartrage et surfaçage radiculaire) peut produire à lui seul une amélioration clinique et une élimination durable des bactéries. D'autre part, il est connu que l'usage prolongé ou répété d'antibiotiques augmente les risques de résistance bactérienne.

Par conséquent, le traitement de première intention reste toujours le traitement mécanique et/ou chirurgical. Un traitement antibiotique, de préférence en monothérapie, pourra être prescrit en deuxième intention, en traitement adjuvant au traitement mécanique. La discussion de la date d'un éventuel traitement antibiotique peut se faire au moment du traitement mécanique.

Le traitement peut reposer sur une monothérapie ou des associations médicamenteuses ; la monothérapie repose essentiellement sur les molécules suivantes :

- le métronidazole (250 à 500 mg 3 fois par jour pendant 10 jours) :
- les tétracyclines (exemple : doxycycline dose initiale de 200mg puis 100 mg par jour pendant 21 jours)
- l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique (1g 3 fois par jour) :  
Elle a été proposée dans les cas de parodontite réfractaire présentant des taux élevés de *Peptostreptococcus micros*.

Les associations microbiennes sont justifiées par la présence fréquente en sous gingival de plusieurs pathogènes ayant des sensibilités différentes aux antibiotiques.

Elles permettent d'élargir le spectre antimicrobien de chaque molécule pour mieux atteindre les pathogènes anaérobies stricts et facultatifs. Cela permet également de réduire l'émergence de souches résistantes en utilisant des agents ayant des spectres antimicrobiens qui se regroupent, et de prescrire des doses plus faibles de chaque substance en exploitant la synergie d'action possible des deux agents vis-à-vis des pathogènes ciblés. L'association médicamenteuse la plus fréquemment utilisée est :

- métronidazole + amoxicilline (250mg et 500mg 3 fois par jour pendant 7 jours) : c'est l'association qui semble la plus efficace dans les formes de parodontites agressives généralisées et les formes associées à Aa (HORZ, 2005 ; VAN WINKELHOFF, 2003).

#### **3.2.2.3.4 Intérêts et limites**

L'antibiothérapie présente plusieurs avantages.

Elle permet dans la plupart des cas de réduire la quantité de pathogènes plus efficacement que le débridement mécanique seul ; elle augmente l'efficacité du traitement dans les anciennes parodontites juvéniles localisées et les parodontites ne répondant pas au traitement mécanique. Elle peut également réduire la durée, l'investissement, l'inconfort et le coût du traitement.

Les problèmes potentiels de l'antibiothérapie comprennent la sélection de certaines souches résistantes et le risque de réactions secondaires comme l'hypersensibilité aux pénicillines ou la cytotoxicité de certains antibiotiques. Enfin, la cause essentielle de l'échec de l'antibiothérapie est la non observance du traitement par le patient (LOESCHE, 1993).

Pour VERNER (2007), " seules les cultures seraient, malgré leurs limitations, indiquées pour orienter une prescription d'antibiotiques adaptées aux sensibilités bactériennes de chaque patient.

En effet, il existe une grande différence de choix lorsque les prescriptions d'un antibiotique sont réalisées après utilisation d'un test de sensibilité aux antibiotiques par rapport au choix, en fonction des recommandations de l'AFSSAPS (2001) après analyse par PCR. La PCR en temps réel s'appuie sur les données de la littérature pour établir les prescriptions des antibiotiques en fonction des bactéries pathogènes retrouvées. La prescription est donc basée sur une moyenne de sensibilité des antibiotiques face à des bactéries pathogènes dans une population ; elle n'est pas adaptée aux sensibilités des

bactéries de chaque patient. La différence observée est due à des variations de sensibilité aux antibiotiques par rapport aux recommandations de l'AFSSAPS. Ces résultats orientent à réévaluer les recommandations des prescriptions d'antibiotiques en fonction des bactéries pathogènes rencontrés pour permettre une utilisation plus rationnelle de la PCR en temps réel.

En conclusion, les antibiotiques doivent être choisis prudemment en fonction de la pathologie, du profil bactérien, de l'état général du patient et des médications éventuelles associées ".

### **3.3 STADE DE REEVALUATION**

#### **3.3.1 Généralités**

La réévaluation permet de juger de l'efficacité du geste thérapeutique. Elle se fait à chaque étape du plan de traitement et permettra d'envisager ou non un traitement complémentaire, c'est-à-dire :

- après apprentissage du contrôle de plaque
- après détartrage supra et sous gingival et élimination des facteurs de rétention de plaque, associé ou non à une antibiothérapie systémique
- après surfaçage à l'aveugle, associé ou non à une antibiothérapie systémique
- après les thérapeutiques complémentaires (chirurgie, orthodontie, prothèses)

Lors de cette réévaluation, les tests bactériologiques doivent permettre de détecter des pathogènes résiduels non éliminés par le traitement. Ces tests doivent être hautement sensibles et hautement spécifiques. Les méthodes d'amplification en chaîne sont très utiles pour s'assurer de l'éradication des pathogènes parodontaux ; les cultures bactériennes sont elles utilisées pour diagnostiquer une surinfection après thérapie parodontale.

#### **3.3.2 Modalités**

##### **3.3.2.1 Examen clinique**

L'examen clinique doit évaluer :

- l'inflammation des tissus superficiels
- la qualité du contrôle de plaque
- la mobilité des dents
- l'évolution des diastèmes

### **3.3.2.2 Sondage**

Le sondage doit évaluer :

- la profondeur de poche
- la perte d'attache
- les récessions
- le saignement au sondage

### **3.3.2.3 Examen radiographique**

L'examen radiologique doit évaluer :

- la présence ou l'absence de lamina dura
- la largeur de l'espace parodontal
- la hauteur et la forme de la crête alvéolaire inter-dentaire
- la largeur et la forme des racines
- l'aspect de l'os périapical et les relations de proximité des racines
- les caries
- les surplombs marginaux des restaurations
- les contacts interproximaux défectueux
- le tartre interproximal
- l'aspect des zones de furcation

Il permet aussi :

- d'apprécier la profondeur de poche
- de visualiser une fistule
- de juger du degré d'atteinte d'une furcation

Les résultats d'un traitement peuvent être appréciés par comparaison de clichés pris avant et après traitement.

### **3.3.2.4 Tests biologiques**

Les examens bactériologiques sont particulièrement intéressants pour préciser l'efficacité du traitement parodontal. L'observation d'un échantillon de plaque au microscope peut permettre d'évaluer la composition de la flore et l'efficacité de chaque étape du traitement, en particulier l'efficacité du contrôle de plaque et la diminution du nombre total de bactéries après traitement mécanique.

Cependant ce test ne permet pas l'évaluation qualitative des bactéries espèce par espèce et reste un outil diagnostique très discutable.

Les cultures bactériennes sont intéressantes mais le protocole d'étude est délicat, l'identification des germes est longue et les chances de prélèvement au cours d'une phase de rémission sont grandes, ce qui fausserait le résultat (SAVITT, 1984). Néanmoins, elles sont très utiles pour mettre en évidence une surinfection après traitement parodontal, et pour choisir l'antibiotique le plus adapté.

Les tests reposant sur la PCR en temps réel sont particulièrement indiqués ; ils permettent d'identifier rapidement certains pathogènes parodontaux comme Aa ou Pg. Si ceux-ci sont présents à des taux élevés, il est recommandé d'entreprendre leur réduction. Dans ce cadre, leur seuil de détection très bas ainsi que leur capacité à détecter des bactéries mortes constituent leurs principaux avantages.

## **3.4 STADE DE MAINTENANCE**

### **3.4.1 Généralités**

La maintenance ou soins parodontaux de soutien consiste à maintenir les résultats cliniques obtenus par la thérapie.

Elle est délivrée à intervalles réguliers et comprend :

- une incitation à la pratique des soins d'hygiène
- l'élimination du tartre et autres facteurs de rétention de plaque
- le nettoyage professionnel des dents.

La maintenance avec l'examen clinique et le diagnostic sont les trois étapes obligatoires de tout traitement parodontal de la gingivite à la parodontite complexe. Cette thérapeutique de maintenance débute immédiatement après la fin du traitement actif.

Les objectifs de la maintenance sont donc :

- l'élimination optimale de la plaque
- le maintien des résultats acquis après le traitement actif, c'est-à-dire les résultats concernant la profondeur de poche et le niveau d'attache de la gencive.

Il existe ainsi deux phases dans cette étape du traitement :

- une phase diagnostic : elle consiste à détecter les récurrences dues à la plaque supra gingivale, ou à la réapparition de pathogènes de la plaque sous gingivale
- une phase thérapeutique : c'est le traitement d'entretien et/ou des récurrences.

Lors de cette phase du traitement, les tests bactériologiques seront essentiellement utilisés pour gérer la réapparition de pathogènes parodontaux. Le test adéquat devra donc être aussi sensible que spécifique. Ainsi, des analyses par PCR ou par des tests immuno-enzymatiques sont particulièrement indiquées.

### **3.4.2 Diagnostic des récurrences**

#### **3.4.2.1 Examen clinique**

L'examen clinique permet une réévaluation des tissus parodontaux par comparaison aux données cliniques antérieures qui auront été soigneusement enregistrées à chaque étape du traitement.

On évaluera :

- la qualité du contrôle de plaque
- l'inflammation gingivale
- la mobilité (diagnostic différentiel avec un éventuel traumatisme occlusal)
- les modifications tissulaires

Le praticien devra s'alerter en présence des signes suivants :

- inflammation gingivale
- suppuration
- apparition d'un abcès

#### **3.4.2.2 Sondage**

L'objectif du sondage parodontal est de localiser les cellules les plus apicales de l'épithélium dento-gingival et de mesurer la distance les séparant de la ligne de jonction émail-cément, afin d'apprécier le degré de perte d'attache. Le sondage n'est valable que s'il est comparé à un charting parodontal de fin de traitement. Il permet de :

- chercher de nouvelles poches
- surveiller les poches résiduelles
- évaluer l'activité des sites en mesurant le saignement au sondage.

La précision quantitative du sondage parodontal est cependant limitée car elle est influencée par divers paramètres dont il faut tenir compte :

- l'examineur : il doit être entraîné à standardiser le point de sondage, l'axe d'insertion, la force exercée
- l'état du parodonte et de la dent sondée
- l'instrument utilisé.

La détermination de la profondeur d'une seule poche ne reflète pas nécessairement une activité pathologique. Elle mesure une destruction parodontale passée. La destruction des sites en voie de détérioration nécessite des sondages répétés en différents points, à différents moments, dans des conditions standard, de façon à mettre en évidence une progression de la profondeur des poches ou de la perte d'attache clinique.

Le sondage à lui seul ne peut donc pas être considéré comme un indice témoignant de l'activité de la maladie parodontale au niveau des sites sondés, et ne peut encore pas avoir une valeur pronostique.

### **3.4.2.3 Examen radiographique**

La radiographie permet d'apprécier la hauteur d'os alvéolaire et le contour de la crête osseuse. Le bilan radiographique comprend un bilan rétro-alvéolaire et une radiographie panoramique, il doit être réalisé tous les 1 à 3 ans.

Cet examen, complément indispensable de l'examen clinique, doit être accompli avec rigueur afin de tirer un profit maximum des renseignements qu'il est susceptible de nous fournir. Cependant, les lésions parodontales au stade initial ne peuvent être diagnostiquées par la radiographie car il existe un décalage entre l'existence histologique d'une lésion et son image radiologique. En effet, les changements précoces au niveau des crêtes alvéolaires ne sont pas révélés avec exactitude et la perte d'attache précède de 6 à 8 mois la perte d'os alvéolaire (GOODSON, 1984).

### **3.4.2.4 Tests biologiques**

Les tests microbiologiques ont pour but d'affiner le traitement parodontal et la maintenance en fonction des cas individuels. Ces tests peuvent pallier aux insuffisances des données actuelles lorsque notre sens clinique nous laisse supposer qu'il y a un risque parodontal accru. Ils doivent toujours être interprétés avec prudence, en corrélation avec les données cliniques.

Un test positif ne doit pas entraîner de surtraitement, celui-ci devra être justifié en fonction de chaque cas individuel.

Le prélèvement d'un échantillon et son observation au microscope peut être utilisée pour re-motiver le patient au contrôle de plaque et apprécier la qualité de la flore bactérienne. Cependant, ce test est très peu spécifique et peu sensible, et les morphotypes identifiés n'ont pas de valeur prédictive suffisante vis-à-vis de l'activité des lésions.

Les cultures bactériennes permettent le diagnostic infra clinique des récurrences de la maladie parodontale. Elles permettent également de choisir la meilleure stratégie anti-infectieuse pour le traitement des récurrences. Toutefois, ce test est long et coûteux, et peu réalisé à ce stade du traitement.

SLOTS et TINGS (1997) conseillent à ce stade du traitement le recours aux tests immunologiques et aux techniques moléculaires. Ces deux tests sont sensibles, spécifiques et ont un seuil de détection relativement bas ; de plus, les résultats sont obtenus assez rapidement. Une détection précoce de la présence des anticorps spécifiques par les techniques immunologiques pourrait servir de « sonnette d'alarme » quant à l'apparition d'une parodontite. Des soins parodontaux prophylactiques réguliers et le traitement des récurrences sont alors conseillés.



## CONCLUSION

Les praticiens ont accès à divers tests biologiques dans le cadre du diagnostic et du traitement des parodontopathies. Le développement de ces tests va dans le sens d'une meilleure compréhension de l'écologie microbienne sous gingivale et des interactions hôte-bactéries associées à la maladie parodontale.

Concernant les tests de réponse de l'hôte, ils ne sont pas à l'heure actuelle utilisables en pratique courante. La lourdeur du protocole à mettre en œuvre limite leur utilisation au domaine de la recherche. Ils offrent néanmoins des perspectives d'avenir pour mieux appréhender les mécanismes de pathogénicité des parodontopathies.

Le seul test génétique disponible évaluant le risque parodontal voit son intérêt remis en cause par de nombreux auteurs. En effet, ils ne concernent que l'analyse du seul gène codant pour l'il-1 ; or, il a été démontré qu'une dizaine d'interleukines au moins étaient impliquées dans la pathogénie des parodontites. Le développement d'autres tests génétiques est donc une voie à développer dans le but d'identifier les patients à risque avant l'apparition de la maladie, et d'instaurer des traitements préventifs chez ces personnes.

Les tests bactériens sont quant à eux les plus utilisés. Parmi ces tests, l'utilisation de la microscopie est déconseillée, et les tests enzymatiques ne présentent pas d'intérêt face aux cultures et aux techniques moléculaires. La culture bactérienne demeure la méthode de référence grâce à une identification précise des bactéries, la possibilité d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques et son caractère non ciblé. La PCR en temps réel est cependant considérée par de nombreux auteurs comme le nouveau Gold Standard de part sa simplicité d'utilisation, sa sensibilité et sa spécificité élevées. Il semble que la meilleure approche serait une utilisation complémentaire de ces deux techniques : la culture pour le diagnostic et l'instauration d'une antibiothérapie adaptée et la PCR RT lors des phases de maintenance et de réévaluation.

Malgré des progrès constants dans l'identification des profils bactériens, dans les faits, ces tests demeurent peu utilisés par la plupart des praticiens à cause d'un manque de connaissance de ces techniques, de la difficulté d'interprétation et des coûts additionnels qu'ils génèrent. En conclusion, à un diagnostic précis, correspond une thérapeutique ciblée. Un traitement adapté à un profil bactérien spécifique permet d'obtenir une réponse au traitement efficace et reproductible et conduit ainsi à une stabilité clinique à long terme.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

1. **AFSSAPS (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé).**  
Prescription des antibiotiques en odontologie et stomatologie.  
Juillet 2001.  
<http://afssaps.sante.fr>
2. **AIRILA-MÅNSSON S, SÖDER B, KARI K et MEURMAN JH.**  
Influence of combinations of bacteria on the levels of prostaglandin E2, interleukin-1beta, and granulocyte elastase in gingival crevicular fluid and on the severity of periodontal disease.  
J Periodontol. 2006;**77**:1025-31.
3. **ALFANO MC.**  
The origin of gingival fluid.  
J Theor Biol 1974;**47**:127-138.
4. **ANAES (Agence nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé).**  
Parodontopathies : diagnostic et traitement.  
Mai 2002.  
<http://www.has-sante.fr>
5. **AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY.**  
Diagnosis of periodontal disease.  
J Periodontol 2003;**74**:1237-1247.
6. **ARMITAGE GC.**  
Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions.  
Ann of Periodontology 1999;**4**:1-6.
7. **ARMITAGE GC.**  
Periodontal Diagnoses and classification of periodontal diseases.  
Periodontol 2000 2004a;**34**:9-21.
8. **ARMITAGE GC.**  
Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis.  
Periodontol 2000 2004b;**34**:109-119.
9. **ARMITAGE GC, JEFFCOAT MK, et CHADWICK DE.**  
Longitudinal evaluation of elastase as a marker for the progression of periodontitis.  
J Periodontol 1994;**65**:120-128.

10. **ATICI K, YAMALIK N, ERATALAY K et ETIKAN I.**  
Analysis of gingival crevicular fluid intracytoplasmic enzyme activity in patients with adult periodontitis and rapidly progressive periodontitis. A longitudinal study model with periodontal treatment.  
J Periodontol 1998;**69**:1155-1163.
  
11. **AXELSSON B et LINDHE J.**  
Effect on controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adult.  
J Clin Periodontol 1978;**3**:133-151.
  
12. **BAEHNI P.**  
Microbiological diagnosis in periodontics. Microbiological diagnosis in periodontics: why, how, when?  
Schweiz Monatsschr Zahnmed 1995;**105**:798-808.
  
13. **BALDWIN PD, PENDER N et LAST KS.**  
Effects on tooth movement of force delivery from nickel-titanium archwires.  
Eur J Orthod. 1999;**21**:481-489.
  
14. **BARKSBY HE, LEA SR, PRESHAW PM et TAYLOR JJ.**  
The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders.  
Clin Exp Immunol. 2007;**149**:217-225.
  
15. **BARBOSA E, SALVADOR S, FOGO J et MARCANTONIO ED.**  
Use of aspartate aminotransferase in diagnosing periodontal disease: a comparative study of clinical and microbiological parameters.  
J Oral Sci 2003;**45**:33-38.
  
16. **BARTLOD PM et NARAYANAN AS.**  
Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues.  
Periodontol 2000 2006;**40**:29-49.
  
17. **BIDAULT P et LACOSTE E.**  
Amibes, microscopes et antibiotiques en parodontologie ; le point sur la question.  
J Dent Quebec 2005;**42**:155-160.
  
18. **BURT AB.**  
The status of epidemiological data on periodontal disease.  
Periodontology today.  
Basel: Karger, 1988.

19. **CAFFESSE RG, DE LA ROSA RM, DE LA ROSA GM et WELTMAN R.**  
Effect of interleukin-1 gene polymorphism in a periodontally healthy Hispanic population treated with mucogingival surgery.  
J Clin Periodontol 2002;**29**:177-181.
20. **CESCO RT, ITO IY et ALBUQUERQUE RF.**  
Levels of aspartate aminotransferase (AST) in saliva of patients with different periodontal conditions.  
J Clin Periodontol 2003;**30**:752-755.
21. **CHAMPAGNE CM, BUCHANAN W, PREISSER JS et coll.**  
Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases.  
Periodontol 2000 2003;**31**:167-180.
22. **CHARON J, JOACHIM F, VERGISON N et PHILIPPE M.**  
Attitudes cliniques face au risque parodontal chez le sujet sain.  
J Parodontol 1998;**7**:219-242.
23. **CHAPPLE LC.**  
Periodontal disease diagnosis : current status and future developments.  
J Dent 1997;**25**:3-II.
24. **COX SW, ELEY BM, KIILI M et coll.**  
Collagen degradation by interleukin-1beta-stimulated gingival fibroblasts is accompanied by release and activation of multiple matrix metalloproteinases and cysteine proteinases.  
Oral Dis 2006;**12**:34-40.
25. **CULLINAN MP, WESTERMAN B, HAMLET SM et coll.**  
Progression of periodontal disease and interleukin-10 gene polymorphism.  
J Periodontal Res 2008;**43**:328-33.
26. **DARVEAU R, TANNER A et PAGE R.**  
The microbial challenge in periodontitis.  
Periodontol 2000 1997;**14**:12-32.
27. **DOUGLASS C et FOX CH.**  
Determining the value of a periodontal diagnostic test.  
J Periodontol 1991;**62**:721-730.
28. **DZINK JL, TANNER ACR, HAFFAJEE AD et SOCRANSKY SS.**  
Gram negative species associated with active periodontal lesions.  
J Clin Periodontol 1985;**12**:648-659.

29. **EHMKE B, KRESS W, KARCH H et coll.**  
Interleukin-1 haplotype and periodontal disease progression following therapy.  
J Clin Periodontol 1999;**26**:810-813.
30. **ETIENNE D, MATTOUT P et MATTOUT C.**  
Les thérapeutiques parodontales et implantaire.  
Paris : Quintessence International, 2003.
31. **FAVERI M, MAYER MP et FERES M.**  
Microbiological diversity of generalized aggressive periodontitis by 16S rRNA clonal analysis.  
Oral Microbiol Immunol 2008;**23**:112-118.
32. **FEDI PF et KILLOY WJ.**  
Temperature differences at periodontal sites in health and disease.  
J Periodontol 1992;**63**:24-27.
33. **FERRON A.**  
Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine.  
Paris : Edition C et R, 1984.
34. **FIGUEREDO CM, AREAS A, MIRANDA LA et coll.**  
The short-term effectiveness of non-surgical treatment in reducing protease activity in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients.  
J Clin Periodontol 2004;**31**:615-619.
35. **FIGUEREDO CM, RESCALA B, TELES RP et coll.**  
Increased interleukin-18 in gingival crevicular fluid from periodontitis patients.  
Oral Microbiol Immunol. 2008;**23**:173-176.
36. **FLEMMING TF.**  
Periodontitis.  
Ann Periodontol 1999;**4**:32-37.
37. **GMÜR R et GUGGENHEIM B.**  
Diagnostic parodontal microbiologique.  
Schweiz Monatsschr Zahnmed 1994;**104**:1104-1108.
38. **GOLUB LM, LEE HM, GREENWALD RA et coll.**  
A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis.  
Inflamm Res 1997;**46**:310-319.

39. **GONCHAROFF P, FIGURSSKI DH, STEVENS RH et FINE DH.**  
Identification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* : polymerase chain reaction amplification of *lktA*- specific sequences.  
*Oral Microbiol Immunol* 1993;**8**:105-110.
40. **GOODSON JM, TANNER ACR, HAFFAJEE AD et coll.**  
Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease.  
*J Clin Periodontol* 1982;**12**:472-481.
41. **GREENSTEIN G et POLSON A.**  
Microscopic monitoring associated with periodontal diseases. A review.  
*J Periodontol* 1985;**56**:740-747.
42. **GRIFFEN AL, LEYS EJ et FUERST PA.**  
Strain identification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* using the polymerase chain reaction.  
*Oral Microbiol Immunol* 1992;**7**:14-18.
43. **GRUICA B, WANG HY, LANG NP et BUSER D.**  
Impact of IL-1 genotype and smoking status on the prognosis of osseointegrated implants.  
*Clin Oral Implants Res* 2004;**15**:393-400.
44. **GUIRAUD JP.**  
Génétique bactérienne.  
Paris: Lavoisier, 1997.
45. **GUNARATNAM M, SMITH GLF, SOCRANSKY SS et coll.**  
Enumeration of subgingival species on primary isolation plates using colony lifts.  
*Oral Microbiol Immunol* 1992;**7**:14-18.
46. **HAFFAJEE AD, SOCRANSKY SS et GOODSON JM.**  
Subgingival temperature (I). Relation to baseline clinical parameters.  
*J Clin Periodontol* 1992;**19**:401-408.
47. **HAFFAJEE AD, SOCRANSKY SS et GOODSON JM.**  
Subgingival temperature (II). Relation to future periodontal attachment loss.  
*J Clin Periodontol* 1992;**19**:409-416.
48. **HAFFAJEE AD, TELES RP et SOCRANSKY SS.**  
The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota.  
*Periodontol* 2000 2006;**42**:219-256.

- 49. HAUBEK D, ENNIBI OK, POULSEN K et coll.**  
Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter* (*Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study. *Lancet* 2008;**371**:237-42.
- 50. HERRERA D, SANZ M, JEPSEN S et coll.**  
A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planning in periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2002;**29**:136-159.
- 51. HOLT S et EBERSOLE JL.**  
*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* the 'red complex', a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol* 2000 2005;**38**:72-122.
- 52. HORZ HP et CONRADS G.**  
Diagnosis and anti-infective therapy of periodontitis. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2007;**5**:703-715.
- 53. HUYNH CH, CHARON J, JOACHIM F et coll.**  
Les concepts actuels en parodontologie. *J Parodontol* 1987;**6**:311-324.
- 54. INGMAN T, TERVAHARTIALA T, DING Y et coll.**  
Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1996;**23**:1127-1132.
- 55. INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE.**  
Maladies parodontales. Thérapeutiques et prévention. Paris: INSERM, 1999.
- 56. JIN LJ, SODER PO, ASMAN B et BERGSTROOM K.**  
Granulocyte elastase in gingival crevicular fluid: improved monitoring of the site-specific response to treatment in patients with destructive periodontitis. *J Clin Periodontol* 1995;**22**:240-246.
- 57. JIN LJ, LEUNG WK, CORBET EF et SÖDER B.**  
Relationship of changes in interleukin-8 levels and granulocyte elastase activity in gingival crevicular fluid to subgingival periodontopathogens following non-surgical periodontal therapy in subjects with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002;**29**: 604-614.

- 58. KAMAGATE A, KONE D, BROU E et SIXOU M.**  
Etude comparative de différentes méthodes d'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries anaérobies strictes de la flore sous-gingivale.  
Odontol Stomatol Trop 2001;**95**:9-12.
- 59. KAMMA JJ, NAKOU M, GMUR R et BAEHNI PC.**  
Microbiological profile of early onset/aggressive periodontitis patients.  
Oral Microbial Immun 2004;**19**:314-321.
- 60. KAPLAN JC et DELPECH M.**  
Biologie moléculaire et médecine.  
Paris : Flammarion, 1993.
- 61. KIILI M, COX SW, CHEN HY et coll.**  
Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue.  
J Clin Periodontol 2002;**29**:224-232.
- 62. KORNMAN KS, CRANE A, WANG HY et coll.**  
The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease.  
J Clin Periodontol 1997;**24**:72-77.
- 63. KURTIŞ B, TÜTER G, SERDAR M et coll.**  
Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 and tumor necrosis factor-alpha in patients with chronic and aggressive periodontitis.  
J Periodontol 2005;**76**:1849-1855.
- 64. LACROIX JM et WALKER CB.**  
Detection and prevalence of the tetracycline resistant determinant T et Q in the microbiota associated with adult periodontitis.  
Oral Microbiol Immunol 1996;**1**:282-288.
- 65. De LAMBALLERIE X, BOLLET C et MICCO P.**  
PCR et méthodes d'amplification en bactériologie.  
In : FRENEY J, RENAUD et coll., eds. Manuel de bactériologie clinique. Vol 1. 2<sup>ème</sup> ed.  
Paris : Elsevier, 1994:337-361.
- 66. LAMSTER IB et AHLO JK.**  
Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases.  
Ann N Y Acad Sci. 2007;**1098**:216-229.



67. **LANG NP, TONETTI MS, SUTER J et coll.**  
Effect of interleukin-1 gene polymorphisms on gingival inflammation assessed by bleeding on probing in a periodontal maintenance population.  
J Periodont Res 2000;**35**:102-107.
68. **LEMAITRE P, GOUARD X, et MICHEL JF.**  
Interactions hotes bactéries : la réponse des tests proposés.  
Les cahiers de l' ADF 1999;**5**:28-35.
69. **LISTARGEN MA et HELLDEN L..**  
Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans.  
J Clin Periodontol 1978;**5**:115-132.
70. **LISTARGEN MA et LEVIN S.**  
Positive correlation between the proportions of subgingival spirochetes and motile bacteria and susceptibility of human subjects to periodontal deterioration.  
J Clin Periodontol 1988;**25**:122-138.
71. **LISTARGEN MA et SCHIFTER C.**  
Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally disease sites in humans.  
J Clin Periodontol 1978;**15**:115-132.
72. **LISTGARTEN MA, SCHIFTER CC, SULLIVAN P et GEORGE C.**  
Failure of microbial assay to reliably predict disease recurrence in a treated periodontitis population receiving regularly scheduled prophylaxes.  
J Clin Periodontol 1986;**13**:768-773.
73. **LOE H, THEILADE E et SILNESS B.**  
Experimental gingivitis in man.  
J Periodontol 1965;**36**:117-187.
74. **LOE H, ANERUD A, BOYSEN H et MORRISSON E.**  
Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age.  
J Clin Periodontol 1986;**13**:431-440.
75. **LOESCHE WJ, LOPATIN DE, GIORDANO J et coll.**  
Comparison of the BANA test, DNA probes and immunological reagents for ability to detect anaerobic periodontal infections due to Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola and Bacteroides forsythus.  
J Clin Microbiol 1992;**30**:427-433.

76. **MASSON WE .**  
Diagnostic bacteriologic tests in periodontal therapy.  
J Mich Dent Assoc 1994;**76**:40-59.
77. **MARK LL, HAFFAJEE AD, SOCRANSKY SS et coll.**  
Effect of the interleukin-1 genotype on monocyte IL-1beta expression in subjects with adult periodontitis.  
J Periodontal Res 2000;**35**:172-177.
78. **MCDEVITT MJ, WANG HY, KNOBELMAN C et coll.**  
Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice.  
J Periodontol 2000;**71**:156-163.
79. **MCGUIRE MK et NUNN ME.**  
Prognosis versus actual outcome. IV. The effectiveness of clinical parameters and IL-1 genotype in accurately predicting prognoses and tooth survival.  
J Periodontol 1999;**70**:49-56.
80. **MELLADO JR, FREEDMAN AL, SALKIN LM et coll.**  
Clinical relevance of microbiologic testing: A comparative analysis of microbiologic samples secured from the same sites and cultured in two independent laboratories.  
Int J Periodontics Restorative Dent 2001;**21**:233-239.
81. **MOL A.**  
Imaging methods in periodontology.  
Periodontol 2000 2004;**34**:34-48.
82. **MOMBELLI A, NYMAN S, BRÄGGER U et LANG NP.**  
Clinical and microbiological changes associated with an altered subgingival environment induced by periodontal pocket reduction.  
J Clin Periodontol 1995;**22**:780-792.
83. **MOMBELLI A, SCHMIDT B, RUTAR A et LANG NP.**  
Persistence patterns of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia and Actinobacillus Actinomycetemcomitans after mechanical therapy of periodontal disease.  
J Periodontol 2000;**71**:14-21.
84. **MONCLA BJ, MOTLEY ST, BRAHAM P et coll.**  
Use of synthetic oligonucleotide DNA probes for identification and direct detection of Bactéroide forsythus in plaque samples.  
J Clin Microbiol 1991;**29**:2158-2162.

85. **MOORE WEC .**  
The bacteria of periodontal diseases  
Periodontol 2000 1994;5:66-77.
86. **MOUTON C et ROBERT J-C.**  
Pathologies buccales d'origine bactérienne.  
Paris : Masson, 1994.
87. **NIBALI L, GRIFFITHS GS, DONOS N et coll.**  
Association between interleukin-6 promoter haplotypes and aggressive periodontitis.  
J Clin Periodontol 2008;35:193-198.
88. **NILSSON M et KOPP S.**  
Gingivitis and periodontitis are related to repeated high levels of circulating tumor necrosis factor-alpha in patients with rheumatoid arthritis.  
J Periodontol 2008;79:1689-1696
89. **NISHIHARA T et KOSEKI T.**  
Microbial etiology of periodontitis  
Periodontol 2000 2004;36:14-26.
90. **NOMURA Y, TAMAKI Y, TANAKA M et coll.**  
Screening of periodontitis with salivary enzyme tests.  
J Oral Sci 2006;48:177-183.
91. **NORSKOV-LAURITSEN N et KILIAN M.**  
Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. Nov., comb. Nov., *Aggregatibacter aphrophilus* comb. Nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. Nov. and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor-dependent and V factor-independent isolates.  
Int J Syst Evol Microbiol 2006;56:2135-2146.
92. **OROZCO A, GEMMELL E, BICKEL M et SEYMOUR GJ.**  
Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis.  
Oral Microbiol Immunol 2006;21:256-260.
93. **PAGE RC, OFFENBACHER S, SCHROEDER HE et coll.**  
Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions.  
Periodontol 2000 1997;14:216-248.

- 94. PARRA B et SLOTS J.**  
Detection of human viruses in periodontal pockets using polymerase chain reaction.  
Oral Microbiol Immunol 1996;**5**:289-293.
- 95. PELLAT B.**  
Marqueurs biologiques de la maladie parodontale.  
J Parodontol 1991;**52**:33-41.
- 96. PERS JO, SARAUX A, PIERRE R et YOUINOU P.**  
Anti-TNF-alpha immunotherapy is associated with increased gingival inflammation without clinical attachment loss in subjects with rheumatoid arthritis.  
J Periodontol 2008;**79**:1645-1651.
- 97. PERSSON GR et PAGE RC.**  
Diagnostic characteristics of crevicular fluid aspartate amino transferase (AST) levels associated with periodontal disease activity.  
J Clin Periodontol 1992;**19**:43-48.
- 98. POCIOT F, MØLVIG J, WOGENSEN L et NERUP J.**  
A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro.  
Eur J Clin Invest 1992;**22**:396-402.
- 99. POULET PP, LODTER J-PH et DUFFAUT-LAGARRIGUE D.**  
Étude comparative entre trois techniques de prélèvement de fluide gingival.  
J Parodontol 1996;**15**:69-75.
- 100. POZO P, VALENZUELA MA, MELEJ C et coll.**  
Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and clinical parameters in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients.  
J Periodont Res 2005;**40**:199-207.
- 101. PREISS DS, MEYLE J.**  
Interleukin-1 b concentration of gingival crevicular fluid.  
J Periodontol 1994;**65**:423-428.
- 102. RIGGIO MP, MACFARLANE TW, MACKENZIE D et coll.**  
Comparison of polymerase chain reaction and culture methods for detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in subgingival plaque samples.  
J Periodont Res 1996;**31**:496-501

- 103. ROMANELLI R, MANCINI S, LASCHINGER C et coll.**  
Activation of neutrophil collagenase in periodontitis.  
Infect Immun 1999;**67**:2319-2326.
- 104. SALKIN LM, FREEDMAN AL, MELLADO JM et coll.**  
The clinical relevance of microbiologic testing. Part 2: a comparative analysis of microbiologic samples secured simultaneously from the same sites and cultured in the same laboratory.  
Int J Periodontics Restorative Dent 2003;**21**:123–127.
- 105. SAUVETRE E.**  
Tests microbiologiques dans le diagnostic de la maladie parodontale.  
Schweiz Monatsschr Zahnmed 1994;**2**:18-25.
- 106. SAVITT ED, DARACK AP, KILLOY WJ et LIEBERMAN MG.**  
Site selection criteria for microbiological testing of periodontal micro-organisms.  
J Periodontol 1991;**62**:558-561.
- 107. SAVITT ED, STRZEMPKO MN et VACCARO KK .**  
Comparison of cultural methods and DNA probe analyses for the detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bactéridie gingivalis*, and *Bactéridie intermedius* in subgingival plaque samples.  
J Periodontol 1988;**56**:431-438.
- 108. SEBALD M et PETIT JC.**  
Méthodes de laboratoire : bactéries anaérobies et leur identification.  
Paris : Institut Pasteur, 1994.
- 109. SHIRODARIA S, SMITH J, MCKAY IJ et HUGHES FJ.**  
Polymorphisms in the IL-1A gene are correlated with levels of interleukin-1alpha protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease.  
J Dent Res 2000;**79**:1864-1869.
- 110. SIXOU M.**  
Diagnostic testing as a supportive measure of treatment strategy.  
Oral Dis 2003;**9**(suppl. 1): 54-62.
- 111. SIXOU M.**  
Prescrire en odontologie.  
Paris: Editions CdP, 2005.
- 112. SLOTS J.**  
Selective medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.  
J Clin Microbiol 1982;**15**:606-609.

- 113. SLOTS J.**  
Relationship between some subgingival bacteria and periodontal pocket depth and gain or loss of periodontal attachment after treatment of adult periodontitis.  
J Clin Periodontol 1985;**12**:540-552.
- 114. SLOTS J.**  
Bacterial specificity in adult periodontitis.  
J Clin Periodontol 1986;**13**:912-917.
- 115. SLOTS J.**  
Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in periodontal disease introduction.  
Periodontol 2000 1999;**20**:7-13.
- 116. SLOTS J, HAFSTROM C, ROSLING B et DAHLEN G.**  
Detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Bacteroides gingivalis in subgingival smears by the indirect fluorescent-antibody technique.  
J Periodont Res 1985;**20**:613-620.
- 117. SLOTS J et TING M.**  
Microbiological diagnostics in periodontics.  
Compend Contin Educ Dent 1977;**18**:861-876.
- 118. SMITH QT, HARRIMAN L, STOLTENBERG JB et coll.**  
Neutrophil elastase in crevicular fluid: comparison of a middle-aged general population with healthy and periodontis groups.  
J Clin Periodontol 1995;**22**:935-941.
- 119. SOCRANSKY SS et HAFFAJEE AD.**  
Frequency distribution of periodontal attachment. Computer stimulation.  
J Clin Periodontol 1986;**56**:617-624.
- 120. SOCRANSKY SS et HAFFAJEE AD.**  
The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts.  
J Periodontol 1992;**63**:322-331.
- 121. SOCRANSKY SS et HAFFAJEE AD.**  
Periodontal microbial ecology.  
Periodontol 2000 2005;**38**:135-187.
- 122. SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD, GOODSON JM et LINDHE J.**  
New concepts of destructive periodontal disease.  
J Clin Periodontol 1984;**9**:21-32.

- 123. SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD, CUGINI MA et SMITH C.**  
Microbial complexes in subgingival plaque.  
J Clin Periodontol 1998;**25**:134-144.
- 124. SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD, SMITH C et DUFF GW.**  
Microbiological parameters associated with IL-1 gene polymorphisms in periodontitis patients.  
J Clin Periodontol 2000;**27**:810-817.
- 125. SORSA T, TJADERHANE L et SALO T.**  
Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases.  
Oral Dis 2004;**10**:311-318.
- 126. STRUILLOU X.**  
Classification des maladies parodontales.  
J Parodontol Implantol Oral 2003;**22**:23-28.
- 127. STRYER.**  
La biochimie.  
Paris : Flammarion,1997.
- 128. SUCHETT-KAYE G, MORRIER JJ, et BARSOTTI O.**  
Clinical usefulness of microbiological diagnostic tools in the management of periodontal disease.  
Res Microbiol 2001;**152**:631-639.
- 129. SUZUKI J et CHARON J.**  
Classification actuelle des maladies parodontales.  
J Parodontol 1989;**20**:31-51.
- 130. TAROUNINE M, ETIENNE D, SLONIM C et OUHAYOUN J.P.**  
Évaluation de trois tests de détection bactérienne dans les parodontites avancées du jeune adulte.  
J Parodontol Implantol Orale 1998;**17**:15-22.
- 131. TONETTI MS et MOMBELLI A.**  
Early-onset periodontitis.  
Ann Periodontol 1999;**4**:39-52.
- 132. TUAN MC, NOWSARI H et SLOTS J.**  
Clinical and microbiological study of periodontal surgery by means of apically positioned flaps with and without osseous recontouring.  
Int J Periodontics Restorative Dent 2005;**20**:468-475.

- 133. VAN WINKELHOFF AJ.**  
Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases.  
Int J Dent Hygiene 2003;1:131-137.
- 134. VAN WINKELHOFF AJ et WINKEL EG.**  
Microbiological diagnostics in periodontics: biological significance and clinical validity.  
Periodontol 2000 2005;39:40-52.
- 135. VERNER C.**  
Utilisation des prélèvements bactériens lors de la prise en charge des maladies parodontales.  
Thèse pour le Doctorat d'Université, Nantes 2007.
- 136. VERNER C, LEMAITRE P, DANIEL A et coll.**  
Carpegen real-time polymerase chain reaction vs. anaerobic culture for periodontal pathogen identification.  
Oral Microbiol Immunol 2006; 21: 341–346.
- 137. WALKER CB, RATLIFF D, MULLER D et SOCRANSKY SS.**  
Medium for selective isolation of Fusobacterium nucleatum from human periodontal pockets.  
J Clin Microbiol 1979;10:844-849.
- 138. WELSH J et Mc CLELLAND M.**  
Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers.  
Nucleic Acids Res 1990;18:7213-7218.
- 139. WENNSTRÔM JL, DAHLEN G, SVENSSON J et NYMAN S.**  
Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bactéroïdes gingivalis, and Bacteroïde Intermedius :  
predictors of attachment loss ?  
Oral Microbiol Immunol 1989;2:158-163.
- 140. WOLF HF.**  
Parodontologie.  
Paris : Masson, 2005.
- 141. WOLFF LF, ANDERSON L, SANDBERG GP et coll.**  
A fluorescence immunoassay (BCFIA) for the detection of periodontal pathogens in plaque.  
J Clin Periodontol 1991;29:1645-1651.
- 142. XIMENEZ LA, HAFFAJEE AD et SOCRANSKY SS.**  
Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis.  
J Clin Periodontol 2000;27:648-657.



- 143. YÜCEL OO, BERKER E, GARIBOĞLU S et OTLU H.**  
Interleukin-11, interleukin-1beta, interleukin-12 and the pathogenesis of inflammatory periodontal diseases.  
J Clin Periodontol 2008;**35**:365-370.
- 144. ZAMBON JJ, GENCO RJ et NEIDERS ME.**  
Rapid identification of periodontal pathogens in subgingival plaque: comparison of indirect immunofluorescence microscopy with bacterial culture for detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans.  
J Dent Res 1985;**64**:793-803.
- 145. ZAMBON JJ et HARASZTHY.**  
The laboratory diagnosis of periodontal infection.  
Periodontol 2000 1995;**7**:69-82.
- 146. ZAMBON JJ, REYNOLDS HS, CHEN P et GENCO RJ.**  
Rapid identification of periodontal pathogens in subgingival dental plaque. Comparison of indirect immunofluorescence microscopy with bacterial culture for detection of Bacteroides gingivalis.  
J Periodontol 1985;**56**(11 Suppl):32-40.
- 147. ZAMBON JJ, UMEMOTI T, NARDIN E et coll.**  
Actinobacillus Actinomycetemcomitans in the pathogenesis of human periodontal disease.  
Adv Dent Res 1988;**2**:269-274.
- 148. ZUZA EP et DE SALIS AM.**  
Relationship between gingival clinical parameters and the reactivity of the BANA test in subgingival samples from children.  
J Int Acad Periodontol 2006;**8**:78-82.

## INDEX DES ILLUSTRATIONS

Figure 1. Les différents types d'infections parodontales (d'après VAN WINKELHOFF et WINKEL, 2005).....	13
Figure 2. Représentation schématique des rapports des espèces dans les complexes microbiens et entre les complexes microbiens (d'après Socransky et Haffajee ,2005) .....	14
Figure 3. Relation entre profondeur de poche d'un site donné et le nombre de bactéries spécifiques (Socransky 2005).....	15
Figure 4. Relations entre saignement au sondage et complexes bactériens chez des sujets atteints de parodontite. (Socransky 2005) .....	16
Figure 5. Mécanismes de pathogénicité des maladies parodontales (d'après PAGE, 1997). .....	21
Figure 6. Prélèvement par pointe de papier stérile (document société GUM).....	45
Figure 7. Culture de bactéries anaérobies sur des milieux de gélose au sang (WOLF 2005). .....	52
Figure 8. Colonie de Porphyromonas gingivalis.....	55
Figure 9. Colonie d' Agregatibacter actinomycetemcomitans .....	53
Figure 10. Antibioگرامme déterminé par la méthode des disques sur gélose (WOLF 2005).....	56
Figure 11. Mécanismes immuno-enzymatiques du test Evalusite®. .....	63
Figure 12. Résultat du test Evalusite®. .....	64
Figure 13. Rapport d'examen d'un IAI Pado test®.....	73
Figure 14. Différentes étapes de la PCR (source : <a href="http://www.inrp.fr">http://www.inrp.fr</a> ). .....	79
Figure 15. Résultats d'analyse du kit Meridol Perio Diagnostic® .....	81
Figure 16. Résultats d'analyse des tests micro-IDent® et micro-IDent® plus. ....	82
Figure 17. Proposition thérapeutique suite aux résultats d'un test micro-IDent®. ....	82
Figure 18. Rapport d'analyse du kit Perio-analyse® (Pierre Fabre, Oral Care, France). ....	83
Figure 19. Plaquette résumant les sensibilités aux antibiotiques des différentes bactéries testées. ....	83
Figure 20. Kit Dentocheck® (Butler Heliodent).....	88
Figure 21. Résultats possibles du Dentocheck®.....	88
Figure 22a. Bactéries d'une poche inactive; Figure 22b. Bactéries d'une poche active.....	92
Figure 23. Système Periotemp® .....	103
Figure 24. Polymorphisme et génotype; en cas de SNP, trois variantes sont possibles. ....	105
Figure 27. Place des tests biologiques et utilisation des antibiotiques dans le traitement parodontal (d'après Van Winkelhoff et Winkel 2005). .....	118

## INDEX DES TABLEAUX

Tableau 14. Bactéries fréquemment isolées dans la cavité buccale.....	8
Tableau 15. Postulats de Koch révisés par SOCRANSKY et HAFFAJEE (1992).....	9
Tableau 16. Classification des maladies parodontales (ARMITAGE, 1999).....	22
Tableau 17. Composition de la flore sous gingivale en fonction de l'état de santé parodontale (DARVEAU, 1997).....	24
Tableau 18. Bactéries de la flore présente dans les parodontites chroniques (AFSSAPS, 2001).....	27
Tableau 19. Espèces prédominantes dans les sites actifs et les sites inactifs (d'après MOORE et coll. 1991 et DZINK et coll. 1988).....	27
Tableau 20. Bactéries de la flore présente dans les parodontites agressives (d'après l'AFSSAPS, 2001).....	31
Tableau 21. Bactéries de la flore présente dans les parodontites ulcéro- nécrotiques (d'après l'AFSSAPS, 2001).....	33
Tableau 22. Résultats possibles d'un test diagnostique (d'après l'American Academy of Periodontology, 2003).....	38
Tableau 23. Matrice de définition pour la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positive et négative d'un test (d'après l'American Academy of Periodontology, 2003).....	40
Tableau 24. Analyse comparative des différentes techniques de prélèvement du fluide gingival (POULET 1995).....	46
Tableau 25. Comparaison des différents tests bactériens (d'après VAN WINKELHOFF, 2003).....	93
Tableau 13. Caractéristiques des patients à risque (d'après CHARON et coll., 1998) .....	109

OLANIE (Florian).- Les tests biologiques en parodontologie.  
-145 f, 27 ill., 13 tabl., 30cm.  
-Thèse ; Chir. dent. ; Nantes ; 2008  
- N° :

---

### **Résumé de la thèse :**

L'évolution des connaissances sur l'étiopathogénie des maladies parodontales est à l'origine du développement de nouveaux moyens de diagnostic de ces maladies. Les tests bactériens permettent l'identification de bactéries parodontopathogènes qui composent la flore microbienne sous gingivale. D'autres tests se basent sur l'analyse des constituants du fluide gingival, tandis que des tests génétiques mesurent la susceptibilité à la maladie parodontale. L'utilisation de certains de ces tests peut ainsi apporter une aide précieuse dans la prise en charge de leurs patients, en déterminant la nature des agents infectieux en cause, le niveau d'activité de la maladie et le risque pour un individu de développer une parodontite. Ils contribuent ainsi à assurer la pérennité des traitements, notamment lors des phases de maintenance.

---

**Rubrique de classement :** PARODONTOLOGIE

---

**Mots clés :** DIAGNOSTIC  
MICROBIOLOGIE  
MALADIE PARODONTALE

---

**MESH :** DIAGNOSTIC / DIAGNOSIS  
PARODONTOPATHIE / PARODONTOPATHY  
MICROBIOLOGIE / MICROBIOLOGY

---

**JURY :** Président : Pr Alain JEAN  
Directeur : Dr Gilles AMADOR DEL VALLE  
Assesseur : Dr Assem SOUEIDAN  
Co-Directeur : Dr Christian VERNER

---

**Adresse de l'auteur :** Florian OLANIE  
19, rue Kervégan 44000 Nantes