

UNIVERSITE DE NANTES
UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

Année : 2012

N° 009

**INTERÊT DES PROBIOTIQUES EN
PARODONTOLOGIE**

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

*Présentée
et soutenue publiquement par*

LUCAS-SOTO Marion

Née le 22 Novembre 1984

Le 19 janvier 2012 devant le jury ci-dessous

Président: Monsieur le Professeur Assem SOUEIDAN

Directeur : Monsieur le Docteur Christian VERNER

Assesseur : Monsieur le Docteur Gilles AMADOR DEL VALLE

Assesseur : Monsieur le Docteur Zahi BADRAN

Sommaire

INTRODUCTION 3

PARTIE I : LES THERAPEUTIQUES PARODONTALES ET LEURS BUTS MICROBIOLOGIQUES 4

I.1- Les espèces cibles 4

I.2- Les différentes thérapeutiques et leurs effets sur la flore sous-gingivale 7

I.2.1- Suppression de la plaque supra-gingivale (par le patient et par le professionnel) 7

I.2.2- Détartrage, surfaçage sous-gingivaux et débridement mécanique 7

I.2.3- La chirurgie parodontale 8

I.2.4- Les antibiotiques par voie systémique 9

II.2.4.1- L'amoxicilline 9

II.2.4.2- Les macrolides 10

II.2.4.2.1- La clindamycine 10

II.2.4.2.2- L'azithromycine 11

II.2.4.3- Le métronidazole 11

II.2.4.4- Les tétracyclines 12

II.2.4.5- L'association de l'amoxicilline et du métronidazole 12

II.2.4.5- Les recommandations de l'AFSSAPS [1] 14

I.3- Limites de ces thérapeutiques ou comment en venir aux probiotiques ? 16

I.3.1- Recolonisation des poches parodontales après thérapeutiques 16

I.3.1.1- Etude de Magnusson et al [42] 16

I.3.1.2- Etude de Sbordone et al [58] 17

I.3.2- Résistance bactérienne aux antibiotiques 18

I.4- Pourquoi ne pas essayer de rééquilibrer la flore ? Le concept de bactériothérapie. 20

PARTIE II : LES PROBIOTIQUES 21

II.1- Généralités 21

[II.1.1- Définition, historique \[83\]](#) 21

22

[II.1.2-Pré-requis ou exigences pour qu'une souche bactérienne puisse recevoir l'appellation de probiotiques \[16\], \[21\]](#) 23

II.1.2.1- Identification de la souche 23

II.1.2.2- Accord de sécurité 23

II.1.2.3- Caractérisation fonctionnelle 24

II.1.2.4- Etudes in vivo sur les animaux et sur les humains 24

II.1.2.5- Allégations de santé 25

[II.1.3- Les deux grands groupes de probiotiques](#) 25

[II.1.4- Mécanismes d'action](#) 26

[II.1.5- Domaines d'intérêt en santé générale \[46\] \[51\] \[53\]](#) 26

[II.2- En santé buccale](#) 27

[II.2.1- Propriétés idéales des probiotiques destinés aux affections buccales](#) 27

[II.2.2- Le groupe lactobacillus](#) 28

II.2.2.1- Caractérisation des lactobacilles comme probiotiques oraux [31] 28

II.2.2.2- Présence en plus grande quantité chez des patients sains et propriétés antagonistes envers les pathogènes parodontaux 30

II.2.2.3- Meilleure adhérence aux surfaces buccales [28] 32

II.2.2.3- Une colonisation temporaire 33

[II.2.3- Action sur l'halitose : souches testées et intérêts](#) 34

II.2.3.1- Weissella cibaria [29] 34

II.2.3.2- S.salivarius [8] 35

[II.2.4- Actions théoriques des probiotiques sur la santé parodontale \[72\]](#) 36

[II.2.5- Les études menées sur l'efficacité des probiotiques en parodontologie](#) 36

II.2.5.1- Ishikawa et al en 2003 [28] 36

- II.2.5.2- Krasse et al en 2005 [33] 38
- II.2.5.3- Riccia et al en 2007 [55] 40
- II.2.5.4- Shimauchi et al 2008 [61] 42
- II.2.5.5- Twetman et Al en 2009 [86] 45
- II.2.5.6- Tsubura et Al en 2009 [84] 46
- II.2.5.7- Mayanagi et al en 2009 [45] 48
- II.2.5.8- Staab et al en 2009 [71] 51
- II.2.5.9- Zahradnik et al en 2009 [94] 52
- II.2.5.10- Zhu et al en 2010 [95] 53

II.2.6- La thérapeutique de remplacement 54

- II.2.6.1- Concept 54
- II.2.6.2- Différence avec la thérapeutique via les probiotiques [83] 55
- II.2.6.3- Efficacité 55
 - II.2.6.3.1- Études de Teughels en 2007 55
 - II.2.6.3.2- Etude de Nackaerts en 2008 [47] 57

II.3- Mise en pratique : l'exemple de GUM® Périobalance™ 58

- II.3.1- Présentation [34] 58
- II.3.2- Rôles [34] 58
- II.3.3- Indications [34] 59
- II.3.4- Produit commercial et posologie [34] 59
- II.3.5- Lactobacillus reuteri 60
 - II.3.5.1- Description [34] 60
 - II.3.5.2- La reuterine [76] [77] 60
- II.3.6- Apports de la littérature 60

III : CRITIQUE 62

[III.1- Pertinence des études](#) 62

[III.2- Quel avenir pour les probiotiques au cabinet dentaire ?](#) 69

[CONCLUSION](#) 70

[SIGLES ET ABREVIATIONS](#) 71

[TABLE DES ILLUSTRATIONS](#) 72

[BIBLIOGRAPHIE](#) 74

INTRODUCTION

Les maladies parodontales sont des maladies inflammatoires d'origine infectieuse. Celles-ci sont modulées par des facteurs immunologiques de l'hôte qui en déterminent l'évolution. La thérapeutique parodontale repose essentiellement sur l'élimination du facteur bactérien et le rétablissement d'une flore compatible avec la santé parodontale de l'hôte. Cependant, la recolonisation des poches parodontales après traitement, l'augmentation de la résistance aux antibiotiques et la recherche d'un équilibre bactérien laissent entrevoir l'émergence de nouvelles thérapeutiques et notamment le concept de la bactériothérapie [10]. Les probiotiques appartiennent à cette nouvelle catégorie de traitement. En effet, leur efficacité a été démontrée en gastro-entérologie, et récemment des études se sont interrogées sur leur intérêt en parodontologie. Ainsi la problématique suivante se pose : les probiotiques ont-ils un intérêt en parodontologie ?

Pour répondre à cette question, nous étudierons d'abord l'effet des différentes thérapeutiques parodontales sur le microbiote et leurs limites, puis nous établirons un constat des données actuelles concernant les probiotiques en parodontologie. Enfin, nous nous interrogerons sur la pertinence des études réalisées, et sur l'avenir des probiotiques au cabinet dentaire.

PARTIE I : LES THERAPEUTIQUES PARODONTALES ET LEURS BUTS MICROBIOLOGIQUES

Les thérapeutiques parodontales ont pour but dans un premier temps, de réduire ou d'éliminer les pathogènes spécifiques qui causent ou entretiennent les maladies parodontales, puis de maintenir la colonisation par les espèces bactériennes compatibles avec la santé parodontale de l'hôte [79].

Pour cela, nous distinguerons les espèces pathogènes des espèces compatibles et ensuite nous énumérerons les méthodes de traitement parodontal et leurs cibles bactériennes.

I.1- Les espèces cibles

Dès 1998, Socransky et collaborateurs déterminent différents complexes bactériens, regroupant les espèces bactériennes les plus fréquemment associées dans la plaque sous-gingivale, et les relient aux signes cliniques de la maladie parodontale [69].

Une mise à jour est faite en 2005 par les mêmes auteurs [68], dont la synthèse est schématisée ci-après :

FIGURE 1 : Représentation des relations des espèces bactériennes au sein des complexes microbiens et entre les complexes (d'après Socransky 2005)

Il en ressort 5 complexes [68] :

- Les complexes compatibles avec la santé parodontale sont : le complexe pourpre (*Veillonella parvula* et *Actinomyces odontolyticus*), le complexe jaune (les espèces du genre *streptococcus* uniquement, comme *S. sanguinis*, *S.mitis*, *S.oralis*...) et enfin le complexe vert (*Capnocytophaga spp.*, *A.actinomycetemcomitans sérotype a*, *Campylobacter concisus* et *Eikenella corrodens*)
- Les complexes retrouvés au niveau des sites où la perte d'attache est la plus importante : le complexe orange (*Fusobactérium spp.*, *Prevotella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Peptostreptococcus micros*, *Eubacterium nodatum* et *Streptococcus constellatus*) et le complexe rouge (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* et *Treponema denticola*).

Teles et collaborateurs ont en 2006 [79] ajouté à ces différentes bactéries pathogènes, d'autres bactéries non cultivables, ainsi que des virus. Ils ont également trié les pathogènes selon leur degré d'implication dans la maladie (forte, modérée ou faible).

« consensus » pathogène	Implication forte	Implication modérée	Implication faible
- <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	- <i>Eubacterium nodatum</i>	- <i>Campylobacter rectus</i>	- <i>Acinetobacter baumannii</i>
- <i>Porphyromonas gingivalis</i>	- <i>Fusobacterium nucleatum</i>	- <i>Dialister pneumosintes</i>	- <i>Bacteroides clone AU 126</i> -Clones des phyla OP11 et TM7

- <i>Tannerella forsythia</i>	- <i>Prevotella intermedia</i>	- <i>Eikenella corrodens</i>	- <i>Cryptobacterium curtum</i>
		- <i>Filifactor alocis</i>	- <i>Deferribacteres clones D084 et BH017</i>
	- <i>Prevotella nigrescens</i>	- <i>Peptostreptococcus micros</i>	- <i>Enterococcus faecalis</i>
	- <i>Treponema denticola</i>		- <i>Escherichia coli</i>
		- <i>Selenomonas spp.</i>	- <i>Eubacterium saphenum</i>
		-groupe « <i>streptococcus milleri</i> »	- <i>Exiguobacterium aurantiacum</i>
		- <i>Treponema socranskii</i>	- <i>Megasphaera clone BB166</i>
			- <i>Mogibacterium timidum</i>
			- <i>Porphyromonas endodontalis</i>
			- <i>Prevotella corporis</i>
			- <i>Prevotella denticola</i>
			- <i>Prevotella disiens</i>
			- <i>Slackia exigua</i>

FIGURE 2 : Implications des différents pathogènes parodontaux (selon Teles et coll 2006)

Un certain nombre de groupes bactériens est régulièrement retrouvé dans les différents types de maladies parodontales. Ces groupes ne sont pas une simple accumulation de bactéries due au hasard, mais résultent d'une coopération indispensable entre espèces bactériennes pour réaliser une synergie pathogène et entraîner la maladie [3].

A chaque manifestation clinique d'une parodontopathie, semble être corrélé un groupe spécifique de bactéries qui s'y distinguent par leur présence en nombre élevé.

Sillon sain	Gingivite chronique	Parodontite chronique active	Parodontite agressive	Parodontite agressive	Parodontite nécrotique	Péri-implantite
-------------	---------------------	------------------------------	-----------------------	-----------------------	------------------------	-----------------

			localisée	généralisée		
Bactéries à Gram positif	Bactéries à Gram positif	Bactéries à Gram positif	Flore peu abondante avec prédominance de Aa	Flore très polymorphe avec prédominance de <i>P. gingivalis</i> et présence d'une flore inhabituelle ; des bactéries mobiles		Bactéries à Gram positif
<i>Actinomyce spp</i>		<i>E. nodatum</i>				<i>Actinomyces spp</i>
<i>Eubacterium spp</i>	<i>Actinomyces spp</i>	<i>P. micros</i>		Bactéries à Gram Positif		<i>A. prevotii</i>
<i>Streptococcus spp</i>	<i>Streptococcus spp</i>	<i>S. intermedius</i>		<i>Staphylococcus spp</i>		<i>Eucobacterium spp</i>
		<i>S. oralis</i>				<i>P. micros</i>
						<i>Propionibacterium spp</i>
						<i>S. aureus</i>
						<i>S. epidermidis</i>
						<i>Streptococcus spp</i>
Bactéries à Gram négatif	Bactéries à Gram négatif	Bactéries à Gram négatif	D'autres anaérobies à Gram négatif sont retrouvés	Bactéries à gram négatif	Bactéries à Gram négatif	Bactéries à gram négatif
<i>Capnocytophaga spp</i>	<i>F. nucleatum</i>	<i>E. corrodens</i>		Aa : rares ou absents	<i>F. nucleatum</i>	Aa
<i>Neisseria spp</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>F. nucleatum</i>	<i>C. rectus</i>	<i>E. corrodens</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>C. rectus</i>
<i>Fusobacterium spp</i>	<i>P. intermedia</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>Capnocytophaga spp</i>	<i>Pseudomonas spp</i>	<i>P. intermedia</i>	<i>Capnocytophaga spp</i>
<i>Leptotrichia spp</i>	<i>P. nigrescens</i>	<i>P. intermedia</i>	<i>F. nucleatum</i>	<i>Enterobacter spp</i>	<i>T. denticola</i>	<i>E. coli</i>
<i>Porphyromonas spp</i>	<i>Treponema spp</i>	<i>P. nigrescens</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>E. coli</i>		<i>Fusobacterium spp</i>
<i>Prevotella spp</i>		<i>S. noxia</i>	<i>P. intermedia</i>	<i>Fusobacterium spp</i>		<i>Klebsiella spp</i>
<i>Tannerella spp</i>		<i>T. forsythia</i>		<i>Klebsiella spp</i>		<i>P. intermedia</i>
<i>Treponema spp</i>		<i>T. denticola</i>		<i>P. gingivalis</i>		<i>P. nigrescens</i>
<i>Veillonella spp</i>				<i>P. intermedia</i>		<i>P. gingivalis</i>
				<i>Selenomonas spp</i>		<i>Pseudomonas spp</i>
				<i>T. forsythia</i>		<i>Treponema spp</i>
				<i>T. denticola</i>		
				autre : <i>Candida</i>		

				<i>albicans</i>		
--	--	--	--	-----------------	--	--

FIGURE 3 : Flore des sillons sains et flore associée aux maladies parodontales et péri-implantaires (synthèse d'après Socransky et Haffajee 2005, Barsotti et Poulet 2006, Haffajee et coll 2006, et Teles et coll 2006)

I.2- Les différentes thérapeutiques et leurs effets sur la flore sous-gingivale

I.2.1- Suppression de la plaque supra-gingivale (par le patient et par le professionnel)

Le contrôle de plaque réduit l'inflammation et donc ainsi la quantité de fluide gingival. Ceci entraîne une diminution de l'arrivée de nutriments pour les bactéries sous-gingivales.

De plus, supprimer la plaque supra-gingivale a une action directe sur la plaque sous gingivale.

En effet, les bactéries supra-gingivales fournissent des nutriments essentiels à la croissance des bactéries sous-gingivales [79].

Les changements bactériens qui font suite à cette thérapeutique sont [79] :

- la diminution du nombre total de microorganismes sous-gingivaux
- la diminution du nombre de spirochètes
- la diminution de la fréquence de détection de *Pg*, *Aa*, *Fn*.
- la diminution du niveau des espèces sous-gingivales dont *Pi*

Cependant, ces effets sont limités à 3 mm en sous-gingival et sur les poches modérées (4 à 5 mm).

Ils ont, par conséquent, peu d'impact sur les poches profondes (supérieures à 6 mm).

Teles a permis de mettre en évidence que cette thérapeutique agit sur la quantité et la composition du biofilm sous-gingival. Toutefois, elle est insuffisante pour arrêter la progression de la maladie dans les cas sévères avec des poches parodontales profondes, cas où le surfaçage apparaît nécessaire.

La suppression de la plaque supra-gingivale seule, n'est pas suffisante pour rendre le microbiote compatible avec la santé parodontale.

I.2.2- Détartrage, surfaçage sous-gingivaux et débridement mécanique

Le but de ces thérapeutiques est d'éliminer les dépôts bactériens des surfaces radiculaires. L'effet immédiat est une réduction considérable de la masse totale de plaque sous-gingivale et une désorganisation importante du biofilm sous-gingival [79]. Les curettes de Gracey peuvent supprimer jusqu'à 90 % de la plaque sous-gingivale [78].

Plusieurs auteurs se sont penchés sur l'effet de ces thérapeutiques sur le microbiote sous-gingival :

- Baehni, en 1992 rapporte une réduction significative du pourcentage de spirochètes et bacilles gram négatif, avec simultanément une augmentation du nombre de cocci [4].

- Shiloah et Patters en 1994 démontrent une diminution significative du pourcentage de sites infectés par *Aa*, *Pg* et *Pi* [60].

- Haffajee, en 1997, a montré qu'après 12 mois, avec des détartrages réguliers, les niveaux de *Pg*, *Td* et *Tf* sont significativement réduits, et parallèlement le niveau des espèces bénéfiques augmente (*V.parvula*, *Actinomyces naeslundii*) [22].

- Darby en 2005 observe une diminution significative du nombre de sites positifs à *Pi*, *Tf*, *Td* [14].

Plusieurs études se sont intéressées à l'élimination de *Aa* après détartrage et surfaçage radiculaires : le niveau de *Aa* reste inchangé [75] ou faiblement affecté [14] [54].

Ces résultats mitigés sont également valables pour *Pg*.

De plus des résultats précédents, on peut également conclure que *Tf* n'est pas éliminé.

Pour ces trois bactéries parodontopathogènes (*Aa*, *Pg*, *Tf*), la chirurgie s'imposera. La chirurgie parodontale s'impose également pour les sites difficiles d'accès : les sites aux poches profondes, les furcations et les concavités [58].

I.2.3- La chirurgie parodontale

Cette thérapeutique est décrite comme celle qui altère de la manière la plus radicale, le microbiote sous-gingival [79].

C'est la thérapeutique de choix pour corriger les défauts anatomiques, réduire les poches parodontales et palier à la dénudation radiculaire [2].

La chirurgie parodontale offre plusieurs bénéfices, comme un meilleur accès aux surfaces radiculaires, une réduction des poches parodontales et également une meilleure exposition des surfaces radiculaires, notamment pour le brossage par les patients [79].

Elle est réalisée dans dans le cas où des poches parodontales profondes (supérieures à 5 mm) persistent après le traitement initial. Ainsi, la charge bactérienne est réduite et l'accès au contrôle de plaque par le patient facilité [23].

Elle est également indiquée dans les cas de furcation radiculaire pour accéder à la lésion [2].

De plus, elle agit sur certains pathogènes comme *Aa*. En effet, Levy en 2002 obtient grâce à la chirurgie et à une maintenance régulière, une réduction accrue des niveaux de toutes les

espèces du complexe rouge et certaines du complexe orange (*C.rectus* et *Campylobacter gracilis*) [36].

Danser en 1996 montre une réduction de la prévalence de *Aa*, *Pg* et *Pi*, ceci jusqu'à trois mois après la chirurgie [13].

Tuan et coll en 2000 se sont penchés sur l'effet d'un lambeau repositionné apicalement avec ou sans chirurgie osseuse sur les poches parodontales. Six mois après, *Pg* et *Aa* ne sont pas retrouvés. *Tf* a un niveau réduit. La chirurgie osseuse agit fortement sur *Pi*, *Fn* et *Pm* [85].

Il s'avère donc que les changements environnementaux résultant de la chirurgie parodontale mènent à une composition du microbiote sous-gingival plus compatible avec la santé parodontale.

I.2.4- Les antibiotiques par voie systémique

Un traitement antibiotique seul ne peut en aucun cas se substituer au débridement mécanique ou retarder ce dernier.

L'antibiothérapie, lorsqu'elle est indiquée, doit être associée à une désorganisation du biofilm.

II.2.4.1- L'amoxicilline

En médecine buccale, l'amoxicilline est l'antibiotique de choix en première intention chaque fois qu'une indication d'antibiothérapie ou d'antibioprophylaxie est posée et qu'il n'y a pas de contre-indication à sa prescription. En effet, l'amoxicilline présente un spectre antibactérien large qui inclut : les cocci à Gram positif et à Gram négatif, les bacilles à Gram positif, les anaérobies à Gram positif et *Fn*, des spirochètes, *Porphyromonas sp.*, et *Prevotella sp.* de façon variable [62].

Cependant, le noyau β -lactame de cette molécule est hydrolysé par la β -lactamase, enzyme retrouvée notamment au niveau de certaines poches parodontales profondes. Ceci pourrait expliquer le manque d'efficacité de l'amoxicilline seule dans le traitement de certaines maladies parodontales [89].

Pour remédier à cela, il existe une association d'amoxicilline et d'acide clavulanique, qui est un inhibiteur de la β -lactamase. Ainsi, l'acide clavulanique inactive les β -lactamases et prévient la destruction des β -lactamines.

Magnusson et al, en 1989, se sont penchés sur l'intérêt de l'amoxicilline couplé à l'acide clavulanique dans le cas de parodontites réfractaires. L'étude s'est faite sur 10 patients et consistait à associer un débridement mécanique avec une prise d'amoxicilline et d'acide clavulanique durant deux semaines. Les résultats montrèrent un gain d'attache clinique de 2 mm, et ceci 3 mois après cette antibiothérapie. On a également obtenu, une diminution moyenne de 2,5 mm de profondeur de poche au sondage, et ceci au cours des 6 mois qui ont suivi l'antibiothérapie.

Ces résultats sont maintenus pendant un an [41].

En 1999, Winkel et al ont étudié le cas de 21 patients atteints de parodontite chronique. Un groupe reçoit de l'amoxicilline avec de l'acide clavulanique, et l'autre groupe reçoit un placebo. Ils n'ont relevé aucune différence clinique significative ou microbiologique entre le groupe test et le groupe témoin [90].

On ne peut comparer les résultats de l'amoxicilline couplé à l'acide clavulanique sur deux parodontites différentes.

C'est pourquoi Walker, Karpinia et Baehni ne préconisent pas cet antibiotique en parodontologie [89].

II.2.4.2- Les macrolides

II.2.4.2.1- La clindamycine

Cet antibiotique est très actif contre les bactéries anaérobies gram négatif. Cependant, *Ec* et *Aa* présentent une résistance à cet antibiotique [89].

Gordon et al en 1985, ont réalisé une étude portant sur 13 patients atteints de parodontite réfractaire aux traitements suivants : débridement mécanique, chirurgie parodontale et adjuvants tels que les tétracyclines et les β -lactamines. Suite à ces traitements, lorsque des signes de la maladie ont persisté, les patients ont été soumis à des tests bactériens. Lorsque ces tests ont présenté une sensibilité à la clindamycine, les patients ont reçu un surfaçage et une antibiothérapie à base de clindamycine durant 7 jours. Les sites actifs de la maladie sont passés de 10,7 % à 0,5 % en un an. De plus deux ans après, un gain d'attache clinique de 1,5 mm est observé [20].

Ohta et al en 1986, ont obtenus des résultats similaires (toujours après tests bactériens) [50].

Baehni et coll. ne recommandent son utilisation que pour de rares cas de parodontites réfractaires. En effet, la nécessité de faire des tests bactériens (afin de mettre en évidence l'absence de *Ec* et *Aa*) et les nombreux effets indésirables gastro-intestinaux de cet antibiotique incitent à en limiter son usage [89].

II.2.4.2.2- L'azithromycine

Cet antibiotique a un large spectre d'action contre les bactéries gram négatif et anaérobies. Il est particulièrement actif contre un grand nombre de pathogènes parodontaux comme *Aa* et *Pg* [89].

Smith et al ont étudié l'effet de l'azithromycine comme adjuvant au traitement non chirurgical de patients atteints de parodontite. Les résultats montrent une diminution de la profondeur des poches et une diminution du nombre de sites présentant un saignement au sondage [65].

Dans une étude de Verner en 2007, l'azithromycine présente dans 44 % des cas une activité inhibitrice plus efficace que les autres molécules comme l'érythromycine, la clindamycine et la spiramycine [88].

Ses faibles effets indésirables et son spectre d'action peuvent rendre cet antibiotique intéressant [89].

II.2.4.3- Le métronidazole

Cet antibiotique appartient à la famille des nitro-imidazolés. Après pénétration de la paroi bactérienne par simple diffusion, le métronidazole est activé par réduction de son groupement nitro. Or, cette réduction ne se produit pas chez toutes les bactéries. La nécessité d'activation du métronidazole par réduction, limite son spectre d'action aux bactéries anaérobies strictes.

Plus précisément, il agit spécifiquement sur les bactéries anaérobies strictes gram négatif ce qui explique son intérêt en parodontologie [89].

Son spectre d'action antibactérien inclut : *Bacteroides sp.*, *Fusobacterium sp.*, *Porphyromonas sp.*, *Prevotella sp.*, *Clostridium sp.* [62].

En 1983, Lindhe et al mettent en évidence l'effet bénéfique du métronidazole sur le traitement de la parodontite avancée en association avec le débridement mécanique des poches, ceci sur trois périodes de 2 semaines séparées par des intervalles de 8 jours. Ce traitement amène à une réduction des espèces anaérobies et des spirochètes, entraînant la disparition des signes cliniques et histopathologiques des maladies parodontales [38].

Winkel et al en 1997 démontrent que 1,5 g de métronidazole par jour pendant 7 jours, en association avec un détartrage et un surfaçage réduisaient le niveau de *Tf*, *Pg* et *Pi* [91].

Enfin Feres et al en 2001 ont étudié, durant une année, les niveaux de 40 espèces bactériennes juste après l'antibiothérapie au métronidazole. Ils démontrent une nette amélioration des paramètres cliniques et une diminution du niveau et des proportions des bactéries des complexes rouges et orange [17].

Le métronidazole semble être efficace en association avec d'autres traitements mécaniques dans le contrôle des pathogènes parodontaux.

II.2.4.4- Les tétracyclines

Ce sont des antibiotiques à large spectre, actifs contre les bactéries G – et G +.

Plusieurs études montrent qu'un traitement à base de tétracyclines chez un patient atteint de parodontite agressive localisée améliore l'état inflammatoire gingival et offre un gain d'attache clinique. De telles améliorations sont corrélées à une élimination ou du moins à une forte diminution de *Aa* au niveau des sites infectés [37][49][63] [64]. Cependant 3 mois après ce traitement, Lindhe et al montrent que 25 % des patients présentent à nouveau des signes de la maladie [37].

En 1999, Feres et al ont étudié l'effet de l'administration systémique de doxycycline dans le traitement des maladies parodontales. Au total, 20 patients reçoivent 100 mg de doxycycline par jour pendant 14 jours. Des échantillons de plaque sous-gingivale sont prélevés pour procéder à l'analyse de 40 espèces bactériennes. Il n'y a pas de différence à J 90, entre le groupe test et le groupe contrôle pour 33 espèces bactériennes. Cependant durant le traitement antibiotique, une diminution significative des proportions de *Aa* et une augmentation des streptocoques sont observées [18].

Les tétracyclines sont recommandées dans les cas de parodontites agressives localisées, pour leur capacité à réduire le taux de *Aa*, et dans les cas de parodontites réfractaires aux traitements antérieurs.

II.2.4.5- L'association de l'amoxicilline et du métronidazole

Plusieurs études prouvent que le métronidazole associé à l'amoxicilline, est le traitement de choix chez des patients atteints de parodontite juvénile agressive ainsi que chez des patients présentant une parodontite associée à *Aa*.

Winkel et al en 2001 démontrent que cette combinaison d'antibiotiques est particulièrement efficace chez les patients porteurs de *Pg* [92].

Rooney et al ont étudié les effets du métronidazole associé à l'amoxicilline en association avec un traitement mécanique. Ils en ont suivi les effets durant un mois, trois mois et six mois après la thérapeutique. Ils ont conclu à une amélioration au niveau du saignement et de la suppuration, à une réduction de la profondeur des poches et enfin à un gain du niveau d'attache [57].

Lopez et coll ont examiné les effets de l'amoxicilline associé au métronidazole, sur les paramètres cliniques et microbiologiques chez des patients atteints de parodontite modérée à sévère, et ne recevant aucun traitement. L'étude portait sur 22 patients séparés en deux groupes : un groupe auquel il est prescrit une semaine de traitement par l'amoxicilline (500 mg trois fois par jour) et par le métronidazole (250 mg trois fois par jour) ; l'autre groupe recevait un détartrage et un surfaçage avec un placebo en lieu et place des antibiotiques.

Les sujets sont examinés à J 0, M 3, M 6, M9 et 12 mois après la thérapeutique. Des échantillons de plaque sous-gingivale au niveau de chaque dent sont recueillis et analysés pour leur contenu en 40 espèces bactériennes. Les visites de maintenance consistent en un détartrage supra-gingival de toute la cavité buccale mais sans instrumentation sous-gingivale.

A l'issue de 12 mois, les deux thérapeutiques réduisent significativement la profondeur de poche au sondage, ainsi que le nombre de sites saignant au sondage. Un gain du niveau d'attache clinique est observé. La majorité des espèces testées a diminué dans les deux groupes sans différence notable entre les deux groupes. Une réduction importante se produit entre J 0 et M 3.

Cependant le nombre d'espèces est réduit, notamment les espèces du complexe rouge ainsi que *Aa*, et ce, jusqu'à 12 mois après la thérapeutique dans le groupe qui a reçu les antibiotiques [39].

La plupart des études mènent à un consensus : l'antibiothérapie seule n'est pas efficace, elle doit être combinée à un traitement mécanique.

Il est essentiel de rompre mécaniquement le biofilm sous-gingival dans le but de rendre les antibiotiques efficaces.

II.2.4.5- Les recommandations de l'AFSSAPS [1]

L'AFSSAPS recommande la prise d'antibiotiques dans les cas suivants :

- les maladies parodontales nécrosantes
- les parodontites agressives : localisée et généralisée
- la parodontite « réfractaire au traitement »

La prescription d'antibiotiques en curatif n'est pas recommandée en première intention pour le traitement de la parodontite chronique, sauf en cas de présence de signes généraux.

Le traitement de première intention reste toujours le traitement mécanique et / ou chirurgical. Un traitement antibiotique pourra être prescrit en deuxième intention, en traitement adjuvant au traitement mécanique.

La première prise d'antibiotique commence à l'issue de la dernière séance d'assainissement parodontal.

Pathologies d'origine infectieuse	Patient issu de la population générale	Patient immunodéprimé	Patient à haut risque d'endocardite infectieuse
Gingivite induite par la plaque dentaire			
Parodontites (débridement mécanique) :			
Chronique	-	-	-
Agressive localisée	R	R	R
Agressive généralisée	Ra	R	R
« réfractaire au traitement »	R	R	R
Maladies parodontales nécrosantes	R	R	R
Parodontite (traitement chirurgical)	-	-	SO
Abcès parodontal	-	R	R
Lésion combinée endo-parodontale	-	-	SO
Infection locale relative aux protocoles de régénération parodontale	-	R	SO

FIGURE 4 : Antibiothérapie curative dans le traitement des maladies parodontales (d'après les recommandations de l'AFSSAPS juillet 2011) : R(recommandé) – (non recommandée) et SO (sans objet)

Les posologies ainsi que les indications de l'antibiothérapie en parodontologie sont regroupées ci-dessous :

	ADULTE	ENFANT
Maladies parodontales nécrosantes	- <u>Métronidazole</u> : 1500mg /jour en deux ou trois prises, pendant 7 jours	- <u>Métronidazole</u> : 30mg /Kg/jour en deux ou trois prises, pendant 7 jours
Parodontite agressive localisée	- <u>Doxycycline</u> : 200mg /jour en une prise, pendant 14 jours (midi ou soir et au plus tard	- <u>Doxycycline</u> : enfant > 8 ans et si < 60kg : 200mg le 1 ^{er}

	<p>1h avant le coucher)</p> <p>OU</p> <p>- <u>Amoxicilline</u> : 1,5g/jour en trois prises ou 2g/jour en deux prises et Métronidazole : 1500mg/jour en deux ou trois prises, pendant 7 jours</p>	<p>jour puis 100mg pendant 14 jours</p> <p>OU</p> <p>- <u>Amoxicilline</u> : 1,5g/jour en trois prises ou 2g/jour en deux prises et Métronidazole : 1500mg/jour en deux ou trois prises, pendant 7 jours</p>
Parodontite agressive généralisée	<p>- <u>Amoxicilline</u> : 1,5g/jour en trois prises ou 2g/jour en deux prises et Métronidazole : 1500mg/jour en deux ou trois prises, pendant 7 jours</p> <p><i>En cas d'allergie aux pénicillines :</i></p> <p>- <u>Métronidazole</u> : 1500mg/jour en deux ou trois prises, pendant 7 jours</p>	<p>- <u>Amoxicilline</u> : 1,5g/jour en trois prises ou 2g/jour en deux prises et Métronidazole : 1500mg/jour en deux ou trois prises, pendant 7 jours</p> <p><i>En cas d'allergie aux pénicillines :</i></p> <p>- <u>Métronidazole</u> : 30mg/kg/jour, en deux prises, pendant 7 jours</p>

FIGURE 5 : Schémas d'administration préconisés chez l'adulte et l'enfant (d'après les recommandations de l'AFSSAPS juillet 2011)

I.3- Limites de ces thérapeutiques ou comment en venir aux probiotiques ?

I.3.1- Recolonisation des poches parodontales après thérapeutiques

I.3.1.1- Etude de Magnusson et al [42]

Le but est d'étudier les aspects de la recolonisation sous-gingivale après les thérapeutiques instrumentales au niveau de sites où les poches parodontales sont profondes.

L'étude porte sur 16 patients avec une moyenne d'âge de 43 ans, tous atteints d'une parodontite au stade avancé. Pour chaque patient quatre sites étaient examinés :

- où le saignement était présent,
- où la profondeur de poche était supérieure ou égale à 6 mm
- où la perte osseuse était supérieure ou égale à 40 %.

Les paramètres enregistrés sont les suivants :

- L'hygiène orale : plaque présente au sondage au niveau de la gencive marginale.
- Les conditions gingivales : indice gingival de Løe et Silness et le saignement au sondage.
- La profondeur des poches : en mm de la gencive marginale
- Echantillons bactériens prélevés dans la plaque sous-gingivale

A l'issue de cet examen initial, les patients reçoivent un détartrage et un surfaçage en 2 à 4 séances.

Les patients sont ensuite répartis en deux groupes (le groupe A comporte 9 sujets et le groupe B en comporte 7)

Au cours des 16 semaines suivantes, le groupe A ne reçoit aucune information sur l'efficacité du traitement ni aucune instruction. Quant au groupe B, il est convoqué toutes les deux semaines afin de subir un nettoyage professionnel et de recevoir des instructions sur

l'hygiène bucco-dentaire. En sus, les patients doivent se rincer la bouche deux fois par jour pendant une minute avec de la Chlorhexidine à 0,2%.

A l'issue de ces 16 semaines, les patients du groupe A subissent une nouvelle séance de détartrage sous-gingival. Au cours des 16 semaines suivantes, ils sont aussi convoqués pour de nouveaux détartrages. Ils sont réexaminés à S 18, S 20, S 24, S 28, et S 32 (après l'examen initial).

Cette étude met en évidence que les détartrages sous-gingivaux accompagnés d'un contrôle de plaque efficace, aboutissent à une nette amélioration de l'état parodontal. Ce bénéfice s'accompagne d'une réduction importante et prolongée de la fraction mobile de la flore microbienne sous-gingivale.

Malgré tout, en présence de plaque supra-gingivale (groupe A), une flore microbienne contenant de nombreux spirochètes et de nombreux bâtonnets mobiles s'est rapidement réinstallée (4 à 8 semaines). Au niveau de quelques poches parodontales profondes (supérieures ou égales à 8 mm), la profondeur n'a pas été réduite sensiblement après le traitement instrumental sous-gingival. Dans ces localisations où l'on assurait une élimination des dépôts supra-gingivaux, une flore microbienne sous-gingivale comportant une forte proportion de bactéries mobiles récidivait rapidement.

I.3.1.2- Etude de Sbordone et al [58]

Cette étude a deux objectifs. Il faut déjà déterminer si la microflore sous-gingivale des poches parodontales est modifiée après un détartrage et un surfaçage ; ensuite il convient de savoir combien de temps après les deux thérapeutiques, cette recolonisation perdure.

L'étude porte sur 8 patients avec une moyenne d'âge de 43,6 ans. Ils sont tous atteints d'une parodontite généralisée avec une profondeur de poche supérieure ou égale à 5 mm sur au moins 8 dents. Les critères d'inclusion dans l'étude sont telles qu'au moins 17 dents naturelles soient présentes, que l'on ait l'évidence radiologique d'une résorption osseuse, que l'on ne soit pas en présence de pathologies générales, que le patient n'ait pas eu de traitements

parodontaux ou d'antibiothérapie durant les 6 derniers mois, et s'il s'agit d'une patiente qu'elle ne soit pas enceinte.

Trois sites sont sélectionnés par patient et les paramètres enregistrés sont :

- l'indice gingival
- l'indice de plaque
- l'analyse des échantillons microbiens sous-gingivaux prélevés

Ces sites présentent tous un saignement au sondage, et les paramètres sont enregistrés à J 0, J 7, J 21 et J 60.

A J 0, une séance de deux heures de détartrage et de surfaçage est réalisée.

A J 7, on observe une augmentation des cocci, une diminution des spirochètes, et une diminution des bacilles anaérobies. Cette composition est similaire à celle rencontrée chez les patients sains. Elle est corrélée avec une amélioration clinique, traduite par une diminution de l'indice gingival et une diminution d'environ 1,5 mm de la profondeur de poches.

A J 21, cocci anaérobies et spirochètes sont présents. Cependant la profondeur de poche est diminuée d'environ 1 mm par rapport à J 0. L'indice gingival augmente, c'est le reflet de l'état inflammatoire (similaire à l'état de prétraitement), probablement dû à l'incapacité du patient à améliorer son contrôle de plaque.

A J 60, il n'y a aucune différence significative avec l'état à J 0, au niveau des paramètres tant cliniques que microbiologiques.

Cette étude prouve que le détartrage et le surfaçage ont une efficacité limitée dans le temps, et ce jusqu'à 3 semaines après la thérapeutique. Ces deux thérapeutiques seules sont insuffisantes pour maintenir un microbiote sous-gingival compatible avec la santé parodontale. La bonne hygiène du patient et la maintenance parodontale sont essentielles.

Ces deux études mettent l'accent sur le fait que la recolonisation des poches parodontales après thérapeutiques va dépendre de trois facteurs : le niveau de l'hygiène orale, l'efficacité du débridement sous-gingival et la profondeur des poches résiduelles [81].

De plus, la recolonisation peut être due à une simple translocation des bactéries pathogènes, qui lors du traitement, sont seulement déplacées vers d'autres sites non traités, comme la langue ou la salive [52].

I.3.2- Résistance bactérienne aux antibiotiques

La définition est la suivante : « les souches catégorisées résistantes sont celles pour lesquelles il existe une probabilité d'échec thérapeutique quels que soient les traitements et la dose d'antibiotique » [66].

Les mécanismes biochimiques familiers de résistance aux antibiotiques d'une bactérie comprennent :

- une modification de la cible bactérienne,
- une modification ou une dégradation de la molécule d'antibiotique,
- une diminution de la perméabilité cellulaire à la molécule d'antibiotique
- un rejet accéléré de l'antibiotique par une accélération des pompes à efflux.

S'ajoutent à ces mécanismes biochimiques, des mécanismes génétiques, qui sont de deux types : une modification d'ADN chromosomique par mutation et des transferts d'ADN plasmidiques ou non.

Cependant Stewart distingue les mécanismes de la résistance d'une bactérie seule, aux mécanismes de résistance d'une bactérie au sein d'un biofilm. En effet, la croissance des espèces pathogènes dans une structure de biofilm, leur confère des mécanismes uniques qui leur permettent d'échapper à la défense immunitaire de l'hôte et leur fournit une résistance

antimicrobienne accrue. La proximité spatiale des bactéries au sein du biofilm leur permet un échange/transfert de plasmides [74].

Cette affirmation est confirmée par Teles : la résistance aux antibiotiques des bactéries évoluant en biofilm est supérieure à celle de ces mêmes bactéries à l'état planctonique [79].

Les mécanismes de protection des biofilms sont : [74]

- une pénétration lente ou incomplète de l'antibiotique
- au sein du biofilm se trouve un micro environnement modifié aboutissant à un micro gradient de concentration des éléments métaboliques clés, qui conduit à une limitation des éléments nutritifs et ainsi donc à une croissance lente. Or, la plupart des antibiotiques ont une action « croissance-dépendante » comme la pénicilline qui ne lyse que les bactéries en phase de croissance. Les bactéries se trouvant dans des zones de non-croissance ou de croissance plus lente seront mieux positionnées pour résister aux agents antimicrobiens.
- une réponse adaptative au stress
- des cellules persistantes, qui sont plus nombreuses lorsque la bactérie se trouve au sein d'un biofilm que lorsqu'elle est à l'état planctonique.

Ces constatations sont illustrées dans une étude, publiée en 2002 par Larsen. Il a évalué la susceptibilité de *Pg* (in vitro en biofilm) aux antibiotiques suivants : amoxicilline, doxycycline et métronidazole. La concentration minimale bactéricide de cette espèce en biofilm est deux fois (pour l'amoxicilline), huit fois (pour le métronidazole) et jusqu'à 64 fois (pour la doxycycline) plus élevée que la concentration minimale bactéricide de cette même bactérie à l'état planctonique [35].

Enfin, Walker et Baehni ont regroupé dans un tableau les concentrations de tétracycline requises pour inhiber la croissance bactérienne. Par exemple, il faut 512 µg/ml de tétracycline pour inhiber *Actinomyces georgiae* (présente au sein d'un biofilm) contre 128 µg/ml à l'état planctonique [89].

I.4- Pourquoi ne pas essayer de rééquilibrer la flore ? Le concept de bactériothérapie.

L'étiologie des maladies parodontales s'articule autour de trois facteurs : [67]

1. la susceptibilité de l'hôte
2. la présence des bactéries pathogènes
3. la diminution ou l'absence des bactéries « bénéfiques »

Il apparaît difficile d'influencer la susceptibilité de l'hôte, donc le facteur 1.

Les thérapeutiques parodontales classiques (amélioration hygiène bucco-dentaire, détartrage, surfaçage, chirurgie...) se focalisent sur le deuxième facteur en réduisant le nombre d'espèces pathogènes. Le but est d'aboutir à un microbiote moins pathogène, c'est-à-dire composé d'espèces

aérobies gram positif, et à une proportion moindre, voire même à une absence totale des bactéries parodontopathogènes [79].

Mais malheureusement, comment savoir dans quelles proportions réduire les pathogènes ou dans quelles proportions les bactéries aérobies gram positif doivent croître pour que le biofilm soit considéré comme non pathogène, c'est-à-dire compatible avec la santé parodontale ?

De plus, comme nous l'avons vu précédemment, l'utilisation d'antibiotiques n'améliore pas sur le long terme les effets de la thérapeutique parodontale et mène à l'apparition de résistances.

Au vu de toutes ces constatations, le principe des probiotiques est d'agir au niveau du facteur 3. Ils renforceront et développeront la flore commensale bénéfique.

Leur action se fera à différents niveaux : en empêchant l'émergence de pathogènes endogènes, en prévenant la surinfection par des pathogènes exogènes et enfin, en améliorant la réponse de l'hôte [56].

PARTIE II : LES PROBIOTIQUES

II.1- Généralités

II.1.1- Définition, historique [83]

Le concept de probiotiques vit le jour au début du 20^{ème} siècle lorsque le Russe Elie Metchnikoff remarqua que les Bulgares vivaient plus longtemps que les autres populations. Il supposa que cela était dû à leur consommation régulière de produits au lait fermenté contenant des bactéries vivantes.

Le terme probiotiques (comme antonyme aux antibiotiques) a été proposé en 1965 par Lilly et Stillwell. Les premières espèces probiotiques utilisées dans la recherche furent *L.acidophilus* par Hull et al en 1984 et *Bifidobacterium bifidum* par Holcomb et al en 1991.

La définition des probiotiques a évolué au cours des années :

Année	Définition	Auteurs
1965	Substances produites par des microorganismes dans le but de promouvoir la croissance d'autres micro organismes.	Lilly et Stillwell
1974	Organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la flore intestinale microbienne.	Parker
1989	Organisme vivant apporté comme complément alimentaire qui affecte de façon bénéfique la santé de l'hôte en optimisant l'équilibre de sa flore	Fuller

	intestinale.	
1992	Monoculture ou culture mixte de microorganismes vivants qui entraînent des effets bénéfiques sur l'animal ou l'homme en améliorant les propriétés de la microflore endogène.	Havenaar et Huis in't Veld
1996	Microorganismes vivants qui ingérés en quantité suffisante entraînent des effets sur la santé au-delà de la nutrition.	Schaafsma
1999	Adjuvants microbiens diététiques ayant un effet bénéfique sur la physiologie de l'hôte en modulant l'immunité sécrétoire et systémique et aussi en améliorant l'équilibre nutritionnel et microbien dans le tractus intestinal.	Naidu et al
2001	Préparation ou produit contenant des micro organismes définis et vivants en nombre suffisant qui altèrent la microflore (par implantation ou colonisation) dans un compartiment de l'hôte et exerce un effet bénéfique sur la santé de celui-ci.	Schreuzemeir et de Vrese

FIGURE 6 : Evolution des définitions des probiotiques (d'après Teughels et coll 2008)

Aujourd'hui l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et l'ONUAA (Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture) définissent les probiotiques comme des "micro organismes vivants, principalement des bactéries, qui sont sans danger pour la consommation humaine et qui, lorsqu'ingérés en quantité adéquate, exercent des effets bénéfiques sur la santé humaine, au-delà des effets nutritionnels traditionnels".

D'un point de vue étymologique, le terme probiotique vient du grec « pro bios » qui signifie « en faveur de la vie ».

Il s'agit de microorganismes vivants (ou lyophilisés), principalement des bactéries ou des levures. Ce sont des microorganismes saprophytes habituellement retrouvés dans les flores bactériennes de l'homme, de l'hôte et qui sont non toxiques ou non pathogènes [40].

Il ne faut pas les confondre avec les **prébiotiques**. Le prébiotique est un ingrédient sélectivement fermenté qui permet des changements spécifiques dans la composition et/ou dans l'activité de la microflore gastro-intestinale ; il peut selon les auteurs, conférer un bénéfice sur le bien-être et la santé de l'hôte [19].

Ce sont les oligosaccharides ou les polysaccharides, qui jouent le rôle de substrat pour favoriser la croissance de certaines bactéries du côlon (lactobacilles et bifidobactéries notamment).

Absorbés par voie orale, dans les aliments ou les compléments alimentaires, les prébiotiques ne sont pas digérés par l'intestin et passent dans le côlon où ils exercent un rôle ciblé afin de ne favoriser que les bactéries bénéfiques de la flore intestinale.

Les prébiotiques les plus connus et étudiés sont : les fructo-oligosaccharides, l'oligofructose, l'inuline et d'autres oligosides de galactose et transgalactose [83], [72].

Enfin, les **symbiotiques** se définissent comme étant un mélange de probiotiques et de prébiotiques ayant des effets bénéfiques sur l'hôte tout en améliorant la survie et l'implantation de suppléments alimentaires, micro-organismes vivants dans le tractus gastro-intestinal de l'hôte. Le mécanisme d'action est le suivant : le prébiotique va favoriser le développement du probiotique et potentialiser l'effet de celui-ci [44].

II.1.2-Pré-requis ou exigences pour qu'une souche bactérienne puisse recevoir l'appellation de probiotiques [16], [21]

II.1.2.1- Identification de la souche

Les effets des probiotiques étant souche-dépendants, il apparaît nécessaire d'identifier cette souche. La spécificité de la bactérie doit être établie grâce à des tests phénotypiques et génétiques. La nomenclature doit être celle qui est reconnue scientifiquement, comme la liste validée du journal international de bactériologie systématique.

L'hybridation ADN est la méthode de référence pour spécifier qu'une souche appartient à une espèce. Pour le confirmer, on utilise des tests phénotypiques de fermentation.

La caractérisation constitue un préalable indispensable avant d'envisager l'utilisation d'une souche.

II.1.2.2- Accord de sécurité

Il est exigé d'apporter la preuve qu'une souche probiotique est sûre et sans risque de contamination dans sa forme de délivrance.

Théoriquement, les probiotiques sont responsables de quatre types d'effets indésirables : infections systémiques, activités métaboliques délétères, stimulation immunitaire excessive chez des individus susceptibles et enfin transfert de gènes. Cependant, ils restent rares et peu documentés. De plus, ils concernent les lactobacilles ; aucun cas d'infection avec *Bifidobacterium* n'a été reporté.

Pour assurer la sécurité d'emploi d'une souche, 6 tests sont obligatoires :

- Détermination des modèles de résistance bactérienne
- Evaluation de certaines activités métaboliques
- Evaluation des effets indésirables lors d'études humaines
- Surveillance épidémiologique des effets secondaires chez des consommateurs
- Si la souche appartient à une espèce connue pour produire des toxines, elle doit être testée pour cela
- Si la souche appartient à une espèce connue pour son potentiel hémolytique, la détermination de son activité hémolytique est exigée.

II.1.2.3- Caractérisation fonctionnelle

Elle se fait grâce à des tests in vitro et à des études sur les animaux. On peut ainsi connaître la souche et le mécanisme de son effet probiotique.

Il faut parvenir in vivo à un résultat en adéquation avec ce qui a été trouvé in vitro.

Les tests les plus couramment utilisés sont :

- La résistance à l'acidité gastrique
- La résistance à l'acidité biliaire
- L'adhérence à la muqueuse et/ou aux cellules épithéliales humaines et lignées cellulaires
- L'activité anti-microbienne contre les bactéries potentiellement pathogéniques
- La capacité à réduire l'adhésion des pathogènes aux surfaces
- L'activité hydrolase des sels biliaires
- La résistance aux spermicides (applicable pour les probiotiques utilisés pour un usage vaginal)

II.1.2.4- Etudes in vivo sur les animaux et sur les humains

L'efficacité des études doit être prouvée par des bénéfices chez les hommes, tels une amélioration statistique et biologique significative des symptômes ou encore des signes notables de mieux-être et une meilleure qualité de vie. Le risque de la maladie doit être réduit, tout comme le temps avant une éventuelle rechute, et l'on s'attend enfin à un rétablissement plus rapide à l'issue de la maladie.

Chaque étude se fait en double aveugle, et est contrôlée par un placebo.

Les méthodes standards associent à ces tests un test de contrôle de l'effet par rapport à une thérapeutique traditionnelle. Cela n'est pas le cas pour des probiotiques destinés à un usage alimentaire.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organisation/ World Health Organisation) recommandent que les études cliniques prouvant l'efficacité d'une souche probiotique, soit publiées dans un journal médical.

II.1.2.5- Allégations de santé

Les informations suivantes doivent apparaître sur l'étiquette :

- Le gène, l'espèce et la désignation de la souche. Le consommateur ne doit pas être induit en erreur ; c'est-à-dire que si un probiotique « réduit l'incidence et la sévérité de la diarrhée à rotavirus chez l'enfant » il ne doit pas seulement être inscrit « améliore la santé intestinale ». L'explication du bénéfice attendu doit être énoncée.
- La concentration de probiotiques au-delà de la date limite de consommation
- La dose efficace de probiotiques en relation avec les allégations de santé
- Le stockage approprié
- Les coordonnées du laboratoire pour l'information des consommateurs.

II.1.3- Les deux grands groupes de probiotiques

Dans le tableau ci-après, sont regroupées les espèces les plus couramment utilisées dans les préparations probiotiques.

Lactobacillus sp.	Bifidobacterium sp.	Enterococcus sp.	Streptococcus sp.
<i>L.acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>S. cremoris</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Ent. faecium</i>	<i>S. salivarius</i>
<i>L.delbrueckii ssp. (bulgaricus)</i>	<i>B.animalis</i>		<i>S. diacetylactis</i>
<i>L.cellobiosus</i>	<i>B.infantis</i>		<i>S. intermedius</i>
<i>L.curvatus</i>	<i>B.thermophilum</i>		
<i>L.fermentum</i>	<i>B.longum</i>		
<i>L.lactis</i>			
<i>L.plantarum</i>			
<i>L.reuteri</i>			
<i>L.brevis</i>			

FIGURE 7 : Souches bactériennes les plus communément utilisées en tant que probiotiques (Brown et Valière 2004)

Les deux espèces principales sont : [51]

- le groupe des lactobacilles
- le groupe des bifidobactéries

II.1.4- Mécanismes d'action

De multiples mécanismes d'actions sont impliqués et dépendent de la souche bactérienne considérée [9], [15], [40] :

- l'inhibition des bactéries indésirables ou pathogènes
- la limitation de la croissance des bactéries pathogènes en produisant des substances antimicrobiennes, de type bactériocine
- la limitation de l'implantation des germes pathogènes par compétition pour les sites de fixation
- la consommation des nutriments nécessaires au développement des souches pathogènes
- la dégradation des toxines produites par les pathogènes
- la production et / ou la libération de principes actifs : exemple de la lactase libérée par les bactéries lactiques et améliorant la digestion du lactose
- Modulation de la réponse immunitaire locale ou systémique

II.1.5- Domaines d'intérêt en santé générale [46] [51] [53]

De nombreuses études ont été menées pour prouver l'efficacité des probiotiques en santé générale, et cela d'un point de vue thérapeutique et préventif.

Le domaine le plus étudié et où les études sont les plus nombreuses, reste la sphère gastro-intestinale.

Les bactéries lactiques peuvent réduire l'incidence, la durée et la sévérité de certaines pathologies gastriques et intestinales.

Des effets préventifs et thérapeutiques contre la diarrhée ont été observés : les probiotiques agissent aussi bien sur la diarrhée aiguë virale ou bactérienne, que sur la diarrhée associée à la prise d'antibiotiques. Les souches ayant les effets les plus bénéfiques sont : *L.reuteri*, *L.casei*, *Sacc.boulardii*, *Bifidobacterium bifidum* et *S.thermophilus*.

De plus, les bactéries lactiques contenues dans les yaourts, réduiraient les symptômes des patients atteints du syndrome d'intolérance au lactose (via la lactase qui agirait au niveau de l'intestin).

Enfin les probiotiques ont une action supposée bénéfique sur la diarrhée du voyageur, sur le syndrome de l'intestin irritable, et sur les maladies inflammatoires de l'intestin (la prise de probiotiques diminuerait les symptômes de douleurs abdominales, ballonnements, flatulence, constipation, diarrhée.) Ils réduiraient aussi les facteurs de risque du cancer du colon ainsi que les infections à *Helicabacter pylori*.

On peut aussi citer un bénéfice potentiel dans divers domaines comme les allergies et l'eczéma ; le cholestérol et l'hyperlipidémie ; les cancers ; les maladies hépatiques ; le HIV et les fonctions immunitaires.

Ce bénéfice existerait aussi au niveau du tractus uro-génital, (les probiotiques pourraient prévenir les infections uro-génitales chez la femme), au niveau du système cardiovasculaire, au niveau de

l'inflammation (rôle sur l'arthrite). Grâce à un mécanisme d'action indirect, les probiotiques agiraient sur les articulations, les poumons et la peau.

II.2- En santé buccale

II.2.1- Propriétés idéales des probiotiques destinés aux affections buccales

Pour qu'un probiotique puisse agir au niveau de la cavité buccale il est nécessaire : [7]
[73]

- qu'il adhère aux surfaces dentaires (au moins de façon transitoire), pour ainsi entrer en compétition avec les agents pathogènes pour les sites d'action situés sur les muqueuses. L'adhésion du probiotique augmente le temps de contact de celui-ci avec les surfaces hautes (fluides et cellules épithéliales) facilitant ainsi l'action future du probiotique.
- qu'il produise des substances antimicrobiennes contre les pathogènes buccaux, comme le peroxyde d'hydrogène, les acides organiques et des bactériocines.
- qu'il altère les conditions de l'environnement buccal en modulant le pH et/ou le potentiel redox, et modifiant ainsi l'adhérence des pathogènes
- qu'il réduise la réponse inflammatoire (humorale et cellulaire)
- qu'il soit sûr et sans risque pour l'organisme

Pour Bonifait et coll, « une condition essentielle pour qu'un microorganisme représente un probiotique d'intérêt pour la santé bucco-dentaire est sa capacité d'adhérer et de coloniser les diverses surfaces de la cavité buccale » [7]. Ceci est confirmé par Yli-Knuutila et coll en 2006 [93].

II.2.2- Le groupe lactobacillus

Les lactobacilles représentent 1 % de la flore orale cultivable [43].

II.2.2.1- Caractérisation des lactobacilles comme probiotiques oraux [31]

Dans un article publié en 2008, Köll et coll ont cherché à caractériser les lactobacilles oraux pour leurs propriétés en tant que probiotiques oraux, en tenant compte des guides internationaux pour l'évaluation des probiotiques. Le but est de sélectionner des souches bactériennes afin de les utiliser comme probiotiques pour la santé buccale.

Ils ont isolé 67 lactobacilles (sous-gingivaux et salivaires) chez des patients sains. Les paramètres testés sont les suivants : l'activité anti-microbienne contre les pathogènes oraux et

la résistance de ces souches à un pH bas et face à des composés biliaries. De plus, 22 souches ont été évaluées pour leur tolérance au lysosyme, et leur susceptibilité aux antibiotiques.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Lactobacilles testés	Zone d'inhibition des bactéries cibles (en mm)				
	<i>S.mutans</i>	<i>Aa</i>	<i>Pg</i>	<i>Pi</i>	<i>Ca</i>
Souches salivaires					
<i>L.acidophilus</i>	0	2.5 ± 0	12.0 ± 0	0	0
<i>L.crispatus</i>	0	1.0 ± 0.7	26.7 ± 0	9.5 ± 0	0
<i>L.delbrueckii</i>	1.5 ± 0	4.3 ± 0 1.5 ± 0.9	11.3 ± 0	0	0
<i>L.gasseri</i>	0.1 ± 0.2	4.2 ± 0.8	17.1 ± 4.0	6.7 ± 2.4	0
<i>L.salivarius</i>	2.7 ± 2.1	3.7 ± 1.2	24.4 ± 4.2	11.2 ± 1.9	0
<i>L.paracasei</i>	2.2 ± 1.5	6.1 ± 0.7	24.0 ± 2.1	12.0 ± 1.9	0
<i>L.plantarum</i>	3.0 ± 0.8	4.4 ± 1.0	21.7 ± 5.4	9.6 ± 1.3	0
<i>L.rhamnosus</i>	2.0 ± 0.5	3.1 ± 2.4	22.1 ± 1.2	11.2 ± 0.3	0
<i>L.fermentum</i>	1.3 ± 0.8	2.4 ± 1.5	0	0	0
<i>L.oris</i>	0.1 ± 0.4		12.1 ± 5.7	0	0
Souches sous- gingivales					
<i>L.gasseri</i>	0	1.8 ± 0.4 6.0 ± 0	17.4 ± 5.1	4.5 ± 3.0	0
<i>L.paracasei</i>	2.5 ± 0	1.1 ± 1.9	23.0 ± 0	10.3 ± 0	0
<i>L.oris</i>	0		7.4 ± 7.9	0	0

FIGURE 8: Activité anti-microbienne de lactobacilles oraux (salivaires et sous-gingivaux) exprimée en zone d'inhibition (mm) (d'après Köll et coll, 2008)

Lactobacilles		Antibiotiques testés et CMI (µg/ml)		
Souches	Espèces	Amoxicilline	Tétracycline	Métronidazole
				≥256
				≥256
Souches salivaires				
25-DLB-3A-A	<i>L.plantarum</i>	0.25	24	≥256
27-DLB-1	<i>L.plantarum</i>	0.38	24	≥256
35-DLB-2	<i>L.plantarum</i>	0.19	24	≥256
21-DLB-4-B	<i>L.paracasei</i>	1.0	0.75	≥256
37-DLB-2A	<i>L.plantarum</i>	0.12	32	≥256
27-DLB-2A	<i>L.salivarius</i>	0.75	1.5	≥256
43-DLB-3-A	<i>L.salivarius</i>	0.19	0.25	≥256
21-DLB-5-B	<i>L.rhamnosus</i>	0.5	1.0	≥256
35-DLB-5	<i>L.rhamnosus</i>	0.75	0.5	≥256
21-DLB-6-B	<i>L.paracasei</i>	0.75	0.75	≥256
37-DLB-1	<i>L.salivarius</i>	0.25	1.0	≥256
21-DLB-7	<i>L.rhamnosus</i>	0.75	0.5	≥256
13-DLB-6A	<i>L.gasseri</i>	0.38	3	≥256
33-DLB-2	<i>L.gasseri</i>	0.5	0.75	≥256
13-DLB-4A	<i>L.fermentum</i>	0.25	2	≥256
37-DLB-2B	<i>L.fermentum</i>	0.25	6	≥256
21-DLB-1B-2	<i>L.oris</i>	0.38	24	≥256
25-DLB-4A-1	<i>L.oris</i>	0.25	16	≥256
Souches sous-gingivales				
8-2-16A-B	<i>L.paracasei</i>	1.0	0.75	≥256
8-2-1A	<i>L.gasseri</i>	0.19	1.5	≥256
37-2-10-A	<i>L.gasseri</i>	0.19	0.38	≥256
8-2-16B	<i>L.oris</i>	0.38	12	≥256

			≥256
--	--	--	------

FIGURE 9: Susceptibilité aux antibiotiques des 22 souches lactobacilles salivaires et sous-lingivales testées (d'après Köll et coll, 2008)

- la majorité des souches testées suppriment la croissance de *Aa*, *Pg*, *Pi* et de *S.mutans*. Cependant aucune des souches n'a supprimé la croissance de *C.albicans*. Le pH toléré, même après 4 h d'incubation est de 2,5, mais aucune souche ne pousse à ce pH.
- Toutes les souches tolèrent une forte concentration de lysosyme et la moitié tolère une concentration élevée de bile humaine.
- 4 souches de *L.plantarum* et 2 souches de *L.oris*, ont présenté une résistance à la tétracycline et/ou doxycycline.

En conclusion, *L.plantarum*, *L.paracasei*, *L.salivarius* et *L.rhamnosus* pourraient être utilisés comme probiotiques oraux ; ils présentent une forte activité antimicrobienne contre les parodontopathogènes, et une résistance élevée face au stress environnemental.

II.2.2.2- Présence en plus grande quantité chez des patients sains et propriétés antagonistes envers les pathogènes parodontaux

En 2005, Köll-Klais et coll [30] ont cherché à identifier les lactobacilles oraux chez des patients sains et chez des patients atteints de parodontite chronique, et à déterminer leur activité anti-microbienne contre les pathogènes oraux. Les auteurs se sont basés sur le fait que

la destruction et l'inflammation parodontale étaient associées à un niveau plus bas de bactéries lactiques.

L'étude porte sur 20 patients atteints de parodontite chronique (mise en évidence via l'inflammation gingivale, la profondeur de poche supérieure à 5 mm et la mesure radiologique de la perte osseuse) et 15 patients sains. Aucun d'entre eux n'est atteint de pathologie générale et n'a reçu d'antibiotiques durant les 6 derniers mois. Il n'y a pas de différence au niveau des caries dentaires entre les deux groupes.

Au total, 238 lactobacilles sont isolés de la salive et de sites sous-gingivaux.

L'activité anti-microbienne est évaluée contre : *S.mutans*, *Aa*, *Pg* et *P.i*.

Les résultats de cette étude sont les suivants :

Lactobacilles	Patients atteints de parodontites	Patients sains
	%	%
<i>L.acidophilus</i>	0	9
<i>L.crispatus</i>	0	9
<i>L.delbrueckii</i>	0	9
<i>L.gasseri</i>	8	64
<i>L.salivarius</i>	17	27
<i>L.paracasei</i>	42	36
<i>L.plantarum</i>	58	36
<i>L.rhammosus</i>	25	18
<i>L.fermentum</i>	42	64
<i>L.oris</i>	17	45

FIGURE 10 : Comparaison des compositions de la microflore orale de patient sain et de patient atteint de parodontite (d'après Köll et coll 2005)

Groupe d'étude	Inhibition des espèces cibles (en mm)			
	<i>S.mutans</i>	<i>Aa</i>	<i>Pg</i>	<i>Pi</i>
Patients sains				
<i>L.acidophilus</i>	0	2.5 ± 0	12.0 ± 0	0
<i>L.crispatus</i>	0	1.0 ± 0.7	26.7 ± 0	9.5 ± 0
<i>L.delbrueckii</i>	1.5 ± 0	4.3 ± 0	11.3 ± 0	0
<i>L.gasseri</i>	0.1 ± 0.2	1.6 ± 0.8	17.1 ± 4.2	6.1 ± 2.7
<i>L.salivarius</i>	2.7 ± 2.1	4.2 ± 0.8	24.4 ± 4.2	11.2 ± 1.9
<i>L.paracasei</i>	2.2 ± 1.4	4.0 ± 1.3	23.7 ± 1.6	11.4 ± 1.7
<i>L.plantarum</i>	3.0 ± 0.8	6.1 ± 0.7	21.7 ± 5.4	9.6 ± 1.3
<i>L.rhamnosus</i>	2.0 ± 0.5	4.4 ± 1.0	22.1 ± 1.2	11.2 ± 0.3
<i>L.fermentum</i>	1.3 ± 0.8	3.1 ± 2.4	0	0
<i>L.oris</i>	0.1 ± 0.3	2.0 ± 1.7	11.0 ± 6.5	0
Patients atteints de parodontites				
<i>L.gasseri</i>	1.5 ± 0.7	0.5 ± 0.5	16.7 ± 1.9	8.5 ± 0.1
<i>L.salivarius</i>	4.4 ± 1.2	4.0 ± 1.1	25.0 ± 5.6	13.5 ± 1.8
<i>L.paracasei</i>	2.0 ± 1.4	3.9 ± 0.9	19.9 ± 3.3	9.2 ± 1.9
<i>L.plantarum</i>	3.7 ± 1.1	5.5 ± 1.8	21.1 ± 2.2	9.7 ± 0.9
<i>L.rhamnosus</i>	2.3 ± 0.5	3.2 ± 0.8	24.2 ± 4.4	12.4 ± 1.9
<i>L.fermentum</i>	1.6 ± 0.6	2.0 ± 2.4	0	0

<i>L.oris</i>	0	2.1 ± 0.6	14.0 ± 4.2	0
---------------	---	-----------	------------	---

FIGURE 11 : Activité antimicrobienne des lactobacilles oraux de patients sains et de patients atteints de parodontite, exprimée en zones d'inhibition en mm (d'après Köll et coll 2005)

De ces données, nous pouvons déduire que :

- Les lactobacilles les plus retrouvés chez les sujets sains sont : *L.gasseri* et *L.fermentum*
- Chez les sujets atteints de parodontite chronique on retrouve *L.plantarum*.
- Les pourcentages d'inhibition des lactobacilles sur les pathogènes parodontaux sont : 69 % contre *S.mutans*, 88 % contre *Aa*, 82 % contre *Pg* et 65 % contre *Pi*.
- La plus forte activité anti-microbienne est attribuée à *L.paracasei*, *L.plantarum*, *L.rhamnosus* et *L.salivarius*.
- Les souches mises en évidence chez les patients atteints de parodontite chronique présentent une activité antimicrobienne contre *S.mutans* moindre par rapport aux souches retrouvées chez des patients sains.

A l'issue de cette étude les auteurs concluent que la composition en lactobacilles de la flore orale diffère chez les patients parodontalement atteints de chez les patients sains avec une plus forte prévalence pour les lactobacilles homofermentatifs, en particulier *L.gasseri*. Les lactobacilles homo et hétérofermentatifs oraux suppriment la croissance des pathogènes parodontaux.

Enfin, les propriétés anti-microbiennes dépendent de l'espèce, de la souche et de l'origine de la bactérie.

Sookkhee et al ont isolé 3790 lactobacilles sur 130 volontaires ne présentant ni carie, ni problèmes parodontaux. Ces souches ont été étudiées pour leur pouvoir d'inhibition de la croissance de *Pg*, *S.mutans* et *C.albicans*. Les tests ont porté sur leur capacité à produire des substances antimicrobiennes, comme du peroxyde d'hydrogène ou des bactériocines, mais aussi sur leur sensibilité au pH, aux enzymes et à la chaleur. Seules cinq des souches isolées ont montré de bonnes propriétés antimicrobiennes. Les souches avec le meilleur potentiel antimicrobien sont *L.paracasei* et *L.rhamnosus* [70].

L'étude de Hedberg et coll en 2006, porte sur *L. reuteri*, souche bactérienne utilisée comme probiotique et capable de produire in vitro de la reutéline. Le but de cette étude est de déterminer si *L.reuteri* est capable d'inhiber la croissance de bactéries parodontopathogènes, et ceci en comparant deux souches : *L.reuteri* ATCC 55730 et *L.reuteri* PTA 5289. Pour cela, ils ont mis en culture les différentes souches bactériennes et ont observé le pouvoir d'inhibition de *L.reuteri* sur *Pg*, *Fn*, *Pi* et *Aa*. Les résultats suggèrent que les deux souches de *L.reuteri* pouvaient inhiber la croissance de tous les Gram négatif. De plus, *L.reuteri* PTA 5289 montrait des zones d'inhibition plus larges que *L.reuteri* ATCC 55730. Enfin, les bactéries parodontopathogènes *Pg* et *Pi* apparaissent être plus sensibles à *L.reuteri* que *Fn* et *Aa* [25].

II.2.2.3- Meilleure adhérence aux surfaces buccales [28]

Haukioja et coll ont étudié, in vitro, la colonisation orale de différents probiotiques commercialisés, contenant des souches de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Leur potentiel de colonisation a été évalué par leur survie dans la salive humaine, leur adhérence aux surfaces salivaires et aux cellules épithéliales humaines, ainsi que leur co-adhésion avec *Fn*.

Les souches testées regroupent 17 lactobacilles et 7 bifidobacteries. Parmi ces souches, 10 d'entre elles sont connues pour être des probiotiques. Quatre échantillons salivaires sont prélevés sur 9 adultes volontaires en bonne santé, qui se sont abstenus de boire, manger, fumer ou utiliser des produits pour l'hygiène orale dans l'heure précédant le prélèvement.

Les résultats montrent que :

- les souches lactobacilles et bifidobactéries survivent dans la salive pendant les 24 heures suivantes, elles survivent aux facteurs de défenses salivaires
 - de grandes variations existent entre les souches au niveau de leur capacité à adhérer à la surface des dents et des muqueuses buccales
- les lactobacilles ont montré une capacité d'adhérence supérieure aux bifidobactéries

Tous ces résultats font des lactobacilles, des bactéries de choix pour jouer le rôle de probiotique oral [24].

II.2.2.3- Une colonisation temporaire

Dans l'étude de Yli-Knuutila et coll, 56 volontaires consomment GELIFUS®, produit contenant *L. rhamnosus GG*. Le but est de savoir si *LGG* est détecté dans la CB après une administration discontinue de ce produit. Cette étude s'articule autour de trois périodes : une de clairance, une d'intervention et enfin une post-traitement. Durant la première et la troisième période, aucun produit contenant *LGG* ne doit être consommé. Durant celle d'intervention, les volontaires consomment le produit 3 fois par jour. Des échantillons salivaires sont prélevés une fois après la période de clairance puis tous les jours jusqu'à ce que *LGG* ne soit plus détecté.

Le jour suivant la phase 1, 66 % des patients ont *LGG*, contre 3,6 % après 7 jours seulement.

Les antibiotiques ne semblent pas influencer car deux sujets en ont absorbé pendant l'étude et *LGG* est détectable chez eux en phase 2.

Les lactobacilles probiotiques ne colonisent pas le milieu buccal de façon permanente ; quelques semaines après l'arrêt de leur consommation, ces bactéries sont éliminées. Cette information est importante pour l'utilisation sans risques de probiotiques. Cependant, elle pose le problème d'une colonisation temporaire et donc d'un effet limité dans le temps. En effet, une adhésion et une colonisation prolongées accentueraient les effets [93].

En 2009, Caglar et coll observèrent la présence de *L.reuteri* dans la cavité buccale au cours du temps. Pour cela, l'étude était divisée en trois périodes de deux semaines : une période de clairance suivie d'une période de traitement (durant laquelle 25 volontaires ont consommé une pastille) et enfin, une période post-traitement. La pastille à mâcher contient 1×10^8 CFU/pastille de *L.reuteri* ATCC 55730. Afin d'étudier la présence de *L.reuteri* dans la salive, des échantillons salivaires sont prélevés chaque jour et mis en culture. Les résultats de cette étude sont les suivants :

- *L.reuteri* est détecté dans la salive pendant toute la durée du traitement
- après l'arrêt du traitement, le nombre de *L.reuteri* diminue graduellement
- après une semaine, 8 % des sujets portent la bactérie
- après 5 semaines, aucun des échantillons salivaires des sujets de l'étude ne contient *L.reuteri*.

De cette étude, nous pouvons conclure que la consommation de *L.reuteri* pendant deux semaines ne semble pas être suffisante pour une colonisation permanente de celle-ci dans la cavité buccale [11].

II.2.3- Action sur l'halitose : souches testées et intérêts

Les maladies parodontales représentent une des étiologies de l'halitose, au même titre que l'halitose est un signe clinique des maladies parodontales.

L'activité microbienne de certaines bactéries (notamment *Pi*, *Fn* et *Pg*) entraîne la putréfaction de certains résidus protéiques à l'origine de la formation des composés sulfurés volatils (CSV), responsables de l'halitose [29].

II.2.3.1- *Weissella cibaria* [29]

C'est une bactérie qui a été isolée du genre *Lactobacillus*.

L'objectif de l'étude menée par Kang et al en 2006, était de déterminer les effets de *Weissella cibaria* sur les CSV et sur la prolifération de *Fn*, in vitro et in vivo.

La première partie de l'étude visait l'identification parmi un échantillon de lactobacilles, des souches qui produisaient le plus de peroxyde d'hydrogène. Ils trouvèrent trois souches de *W.Cibaria*. Par la suite ils testèrent pour ces trois souches, leur capacité à inhiber la prolifération des bactéries responsables de l'halitose, c'est-à-dire *Pg*, *Td*, *P.loescheii* et *Fn*.

C'est la souche *W.cibaria CMU* qui produit le plus de peroxyde d'hydrogène, et les trois souches isolées ont montré une co-agrégation maximum avec *Fn* (co-agrégation moindre avec les trois autres bactéries impliquées dans l'halitose).

Dans la deuxième partie de l'étude effectuée in vivo, ils évaluèrent l'effet de *W.cibaria CMU* sur l'haleine matinale de 46 étudiants en odontologie âgés de 20 à 30 ans. Au début de l'expérience (matin du jour 1) le niveau de composés volatils sulfurés dans leur bouche a été mesuré avec un chromatographe gazeux portable. Les étudiants ont reçu comme instructions de se rincer la bouche avec 15 ml de la solution testée ou de la solution témoin, pendant 2min deux fois par jour, dans les 30 minutes qui suivent le brossage bucco-dentaire.

La solution test contenait de l'eau distillée avec 1×10^9 CFU de *Weissella cibaria CMU*. Les solutions contrôles étaient au nombre de trois : la première contenait de l'eau distillée seule, la deuxième de l'eau distillée avec 1×10^9 CFU de *L.casei*, et la troisième de l'eau distillée avec 1×10^9 CFU de *W. confusa*. Les deux dernières solutions contrôles sont des solutions lactiques que l'on se procure dans le commerce. Le matin du jour 2, le niveau de CSV était de nouveau mesuré.

La solution contenant *W.cibaria* a diminué la production de sulfure d'hydrogène de 48,2 % et de méthyl mercaptan de 59,4 %.

En conclusion, *W.cibaria* produirait une quantité importante de peroxyde d'hydrogène qui inhiberait la prolifération de *Fn*, réduisant ainsi sa production de composés volatils sulfurés.

II.2.3.2- *S.salivarius* [8]

Dans cette étude les auteurs vérifièrent in vivo, si la production de bactériocines par *S.salivarius* après nettoyage buccal antimicrobien, engendrait un changement des paramètres de l'halitose et de la composition de la flore orale de sujets atteints de mauvaise haleine.

Les 23 sujets considérés (CSV>200 ppm) effectuaient d'abord un traitement nettoyant mécanique et chimique (brossage, gel buccal, bain de bouche à la chlorhexidine), ceci afin d'améliorer la colonisation des surfaces buccales par les bactéries inoculées. A deux heures d'intervalle sur les huit heures qui suivirent, 13 patients du groupe test suçaient une pastille contenant pas moins de 1×10^9 CFU de *S.salivarius* K12. Les 10 patients du groupe contrôle suçaient une pastille placebo ne contenant aucune bactérie. Au cours des jours 2 et 3, les patients se brossèrent les dents et la langue le matin, ceci couplé à un bain de bouche à la chlorhexidine, et prirent les pastilles comme au jour 1.

Ensuite les sujets s'abstenaient de l'utilisation de chlorhexidine mais prenaient une pastille matin et soir après les soins normaux d'hygiène orale et ceci pendant une semaine.

En conclusion, l'administration de *S.salivarius* produisant des bactériocines après un nettoyage antimicrobien buccal, réduit le niveau de CSV oraux. A l'issue de cette étude préliminaire, il est établi que le remplacement de bactéries impliquées dans l'halitose par une colonisation compétitive de bactéries, comme *S.salivarius* K12, pourrait offrir une stratégie intéressante pour réduire une halitose sévère.

II.2.4- Actions théoriques des probiotiques sur la santé parodontale [72]

Les probiotiques interviennent :

- en inhibant les pathogènes spécifiques :
- inhibition de la colonisation et de l'adhésion des pathogènes, de la formation du biofilm
- inhibition de la croissance des pathogènes par des substances variées
- en agissant sur la réponse immunitaire de l'hôte

- inhibition des collagénases et réduction de l'inflammation associée à ces molécules
- expression de protéines cytoprotectives à la surface des cellules de l'hôte
- modulation de la cascade pro-inflammatoire induite par les pathogènes
- prévention de l'apoptose induite par les cytokines
- modulation de la réponse immunitaire de l'hôte

II.2.5- Les études menées sur l'efficacité des probiotiques en parodontologie

L'utilisation de plus en plus importante des probiotiques notamment dans la sphère gastro-intestinale et les nombreux résultats de leurs effets bénéfiques, a suscité l'intérêt de nombreux chercheurs sur leur utilisation dans le domaine de la santé parodontale.

II.2.5.1- Ishikawa et al en 2003 [28]

Le but de cette étude est de mettre en évidence le rôle de *Lactobacillus salivarius* dans la suppression des pathogènes parodontaux, et donc dans l'amélioration de la santé parodontale.

Il apparait in vitro, que *L.salivarius TI2711*, isolé de la salive humaine, lyse *Pg*, *Pi* et *P.nigrescens* après 6 à 12 heures en co-culture.

In vivo, deux études sont menées.

La première portait sur 76 volontaires (âgés de 22 à 62 ans), n'ayant pas pris de traitement antibiotique le mois précédant l'étude, ni de bain de bouche au cours des deux semaines précédant le début de l'étude. Aucune instruction d'hygiène orale ne leur est donnée et chaque volontaire est tenu de procéder comme il a l'habitude de le faire concernant ses méthodes d'hygiène bucco-dentaire.

Trois groupes sont formés :

- un groupe contrôle qui ne reçoit aucun traitement

- un groupe test prenant *L.salivarius* TI2711 à 2×10^7 CFU/jour. La posologie est de 5 comprimés à faire fondre dans la bouche 5 fois par jour durant 8 semaines
- un autre groupe test prenant *L.salivarius* TI2711 à 2×10^8 CFU/jour. La posologie est la même que dans l'autre groupe test

Le taux de bactéries dans la salive est déterminé, par culture bactérienne :

- à J 0
- après 4 semaines

Les résultats sont les suivants :

- réduction significative de 1-log^{10} , pour les deux groupes tests, des bâtonnets anaérobies à pigmentation noire dans la salive
- le nombre de patients avec un niveau indétectable de bâtonnets anaérobies à pigmentation noire augmentait de 8 % à 30 % pour l'ensemble des deux groupes.
- pas d'effets sur le nombre de *S.mutans* et *Lactobacillus*
- à J 0, le pH variait de 5,4 à 8,5 ; et à la fin de l'étude il tend à se neutraliser (7,3)

En conclusion, ces souches probiotiques sembleraient être non pathogènes : elles diminueraient le nombre de bactéries parodontopathogènes sans augmenter l'indice carieux (*S.mutans* reste inchangé et il n'y a pas d'acidification du pH) [28].

Dans un deuxième temps, l'étude porte sur l'effet de la même souche mais cette fois au niveau de la plaque sous-gingivale [83].

108 patients, atteints de parodontite dont la nature n'est pas précisée, sont répartis en 3 groupes :

- un groupe contrôle

- un groupe test prenant *L.salivarius* TI2711 à une concentration de 2×10^8 CFU par jour, à raison de 5 comprimés à faire fondre dans la bouche 5 fois par jour durant 12 semaines
- un autre groupe test prenant *L.salivarius* TI2711 à une concentration de 2×10^7 CFU par jour à la même fréquence que le premier groupe test et durant la même période

Aucun pré-traitement n'est réalisé.

La concentration en bactéries sous-gingivales est déterminée :

- à la semaine 4
- le jour suivant la dernière prise (semaine 12)
- 4 semaines après la dernière prise (semaine 16)

De plus un examen clinique est réalisé à chaque fois.

Les résultats obtenus sont les suivants :

- Diminution significative de 1-log^{10} de la quantité totale de bactéries sous-gingivales. Cette diminution persiste jusqu'à 4 semaines après l'arrêt du traitement
- *L.salivarius* entraîne une diminution significative de 1-log^{10} du taux sous-gingival de *Pg* jusqu'à l'arrêt du traitement. Cependant, 4 semaines après l'arrêt du traitement (semaine 16) le même taux qu'au départ de l'étude est observé.
- Au niveau de l'examen clinique, on observe des réductions significatives des saignements et de la profondeur des poches parodontales, et ceci dans les groupes test et contrôle.

En conclusion, *L.salivarius* TI2711 entraînerait une diminution significative de *Pg* ainsi que des signes d'inflammation qui lui sont associés. Cependant, une diminution non significative est observée dans le groupe contrôle.

II.2.5.2- Krasse et al en 2005 [33]

Le but de cette étude est de déterminer si le probiotique *Lactobacillus reuteri* pourrait être efficace sur le traitement de la gingivite. Elle permet également d'évaluer l'influence de ce probiotique sur la plaque dentaire et sur la population salivaire en lactobacilles.

L'hypothèse est que l'ingestion quotidienne de probiotique *Lactobacillus reuteri* pourrait modifier la microflore buccale et ainsi réduire la gingivite et le saignement gingival.

Matériels et méthodes :

- C'est une étude randomisée, en double-aveugle, contrôlée par placebo
- Les patients venant pour leur visite annuelle de contrôle sont en bonne santé, et n'ont pas participé à d'autres études durant les quatre dernières semaines, ils n'ont pas de traitement antibiotique en cours
- Patients atteints de gingivite modérée à sévère (critère d'exclusion : indice gingival entre 2 et 3)

Cette étude inclut 59 patients de moyennes d'âge équivalentes. 3 groupes sont formés : LR1, LR2 (100 millions de CFU de bactéries vivantes) et un groupe placebo. LR1 et LR2 ont deux formulations différentes de *L.reuteri* (non renseignées). A J 0, un examen du patient (photos des gencives, détartrage) est réalisé. Pour diminuer le biais de cette étude, tous les patients ont commencé le même jour et c'est toujours le même observateur qui évalue les paramètres.

Deux surfaces sont examinées par patient et on évalue l'indice gingival et l'indice de plaque.

Après cet examen, les patients commencent à prendre le produit de l'étude. Les trois produits de l'étude sont présentés sous forme d'un chewing-gum identique en forme, en texture et en goût.

Le protocole est de prendre un chewing-gum matin et soir après le brossage des dents.
(Chaque patient a été préalablement formé aux méthodes de brossage)

L'étude se poursuit sur 14 jours. Les recueils des échantillons salivaires se font à J 0 et à J 14.

Les résultats sont les suivants :

FIGURE 12 : Indice gingival (en %) à J 0 (haut) et J 14 (diagramme du haut), groupe LR1 (diagramme du haut), groupe LR2 (diagramme du milieu) et groupe placebo (diagramme du bas) (d'après Krasse et al 2005)

FIGURE 13 : Indice de plaque (%) (d'après Krasse et al 2005)

- Pas de différence significative entre les trois groupes à J 0 pour GI
- L'indice gingival diminue dans les groupes LR1, LR2 et le groupe placebo mais il n'y a pas de différence entre le groupe LR2 et le groupe placebo.
- L'indice de plaque : diminution dans les groupes LR1 et LR2 entre J 0 et J 14 mais pas dans le groupe placebo alors qu'au départ des différences existaient.

	GROUPE LR1 (n=20)	GROUPE LR2 (n=21)	GROUPE placebo (n=18)
TOTAL de lactobacilles (CFU)			
J0 (% colonisé)	1.35x10 ⁵	4.0x10 ³ (76%)	4.3x10 ⁴ (89%)
J14 (% colonisé)	1.75x10 ⁵ (95%)	1.2x10 ⁴ (100%)	3.2 x10 ⁴ (94%)
<i>L.reuteri</i> (CFU)			
J0 (% colonisé)	0 (0%)	0 (9.5%)	0 (0%)
J14 (%colonisé)	7.7x10 ³ (65%)	2.0x10 ⁴ (95%)	0 (6%)
% de lactobacilles total à J14	35%	62%	0%

FIGURE 14 : Nombre total de Lactobacilles et de *L.reuteri* dans les échantillons salivaires, valeurs moyennes par ml de salive (d'après Krasse et al 2005)

- À J 14 : 65 % des patients du groupe LR1 sont colonisés par *L.reuteri* contre 95 % dans le groupe LR2, la souche LR2 semble être plus efficace pour coloniser la cavité buccale.

Les auteurs de cette étude concluent que *L.reuteri* serait efficace pour réduire la gingivite et la plaque chez des patients ayant une gingivite de modérée à sévère.

II.2.5.3- Riccia et al en 2007 [55]

Le but de cette étude est de déterminer les effets de *L.brevis* (CD2) administré en pastille chez des patients atteints de parodontites et d'observer les mécanismes mis en jeu. Il s'agit d'une étude comparative en double aveugle.

L'étude porte sur 8 patients sains et 21 patients atteints de parodontite chronique (de modérée à sévère). Il s'agit d'hommes et de femmes ayant entre 24 et 51 ans. Aucun des patients n'a reçu d'antibiotiques durant les 4 derniers mois.

Le but étant d'étudier les conséquences cliniques, les sujets ont tous subi un examen parodontal complet avant et après le traitement :

- l'indice de plaque
- le saignement au sondage
- la sensibilité thermique sur 6 sites par dent et sur toutes les dents des 4 secteurs

Le protocole indique de prendre 4 pastilles probiotiques par jour pendant 4 jours.

Des échantillons de salive ont été prélevés avant et après le traitement et ont été analysés pour déterminer :

- l'activité des métalloprotéases
- l'activité des oxydes nitriques synthétases
- les taux d'immunoglobuline A (IgA), de prostaglandine E2 (PGE2) et d'interféron- γ (IFN γ) ainsi que l'activité de l'arginine dihydrolase par dosage radiométrique.

En effet, lorsque des micro-organismes envahissent les tissus parodontaux, la réponse tissulaire se traduit par une réponse inflammatoire locale non spécifique et une réponse immunitaire spécifique ; avec pour conséquence le relargage de cytokines par les lymphocytes et macrophages attirés sur place. Les cytokines les plus actives sont l'interleukine-1 (IL-1 qui stimule notamment la production de prostaglandine E, un puissant médiateur de résorption osseuse) et le facteur de nécrose des tumeurs (TNF α) [12].

De plus, les métalloprotéases matricielles (MMP) sont produites en réponse à l'incursion des bactéries parodontopathogènes dans les poches parodontales. Ces

molécules jouent un rôle clé dans le remodelage tissulaire, et dans la destruction tissulaire si leur production est dérégulée [6].

Ainsi les auteurs de cette étude, en analysant ces paramètres (MMP, E2...) vont permettre de voir si les probiotiques auraient un rôle à jouer dans la cascade inflammatoire et destructrice des maladies parodontales.

La composition des pastilles est la suivante : bactéries lyophilisées (200mg), fructose (400mg), mannitol (1020g), aspartame (40mg), talc (60mg), aerosil 200 (10mg), Peg 6000 (50mg), stéarate de magnésium (20mg), acide tartrique (100mg) et arôme orange (200mg).

Les résultats de l'étude indiquent :

- Une disparition totale ou amélioration des paramètres cliniques chez tous les patients.
- Une diminution significative des taux de nitrite/nitrate, PGE2, certaines métalloprotéinases matricielles, IFN γ dans les échantillons salivaires.

Echantillons	Nitrite/nitrate (μM)	PGE2 (ng ml^{-1})	IFN- γ (pg ml^{-1})	Ig A ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
Patients sains	4.33 \pm 1.31	0.32 \pm 0.08	10.06 \pm 0.84	885.62 \pm 118.28
T0 (avant traitement)	38.86 \pm 6.07	1.64 \pm 0.1	28.23 \pm 2.11	309.76 \pm 143.06
T1 (après traitement)	9.39 \pm 1.47	0.46 \pm 0.07	8.82 \pm 4.74	466.51 \pm 237.1

FIGURE 15 : Effet du traitement avec les pastilles contenant *L.brevis* sur les paramètres de laboratoire des patients atteints de parodontite (d'après Riccia et al 2007)

Les auteurs attribuent l'activité anti-inflammatoire de *L.brevis* à la présence d'arginine dihydrolase, qui empêche la production de dérivés nitrate, connus être des médiateurs importants de l'inflammation.

II.2.5.4- Shimauchi et al 2008 [61]

C'est une étude clinique randomisée, en double aveugle, contrôlée par placebo

Le but de cette étude est d'évaluer si l'administration orale de comprimés probiotiques contenant *L.salivarius* peut modifier les paramètres cliniques des tissus parodontaux et l'expression de marqueurs salivaires de l'inflammation (basé sur Komine et Al en 2007 qui ont démontré que la concentration salivaire de lactoferrine et des peptides associés à sa dégradation était corrélée à l'inflammation parodontale [32]).

Le produit de l'étude est Wakamate D[®], dont la composition est :

- 6,7 x10⁸ CFU/comprimé de *L.Salivarius WB21*
- 280 mg/comprimé de xylitol

Le placebo est un comprimé, contenant uniquement du xylitol (280mg/comprimé). Le comprimé placebo est de goût, de texture et d'apparence identiques au comprimé test.

Les patients sont tenus de prendre 3 comprimés par jour durant la période d'étude, c'est-à-dire 8 semaines.

66 patients ont été répartis en 2 groupes (selon l'âge, le sexe et fumeur ou non-fumeur) : 34 sont dans le groupe test et 32 sont dans le groupe placebo. Les volontaires devaient répondre à quelques exigences : ne pas être en cours de traitement chez un dentiste, ne pas prendre de probiotiques autres, ne pas présenter d'effets secondaires au lactose ou au lait fermenté, et enfin ne pas avoir pris d'antibiotiques le mois précédant l'étude.

A l'examen buccal, ces patients ne devaient pas présenter de caries dentaires, ni de parodontites sévères (les critères étant une profondeur de poche supérieure à 6 mm et des dents à mobilité sévère).

Le protocole de l'étude était le suivant : examen complet à J 0, puis pendant 8 semaines prise d'un comprimé trois fois par jour à faire fondre dans la bouche. Les patients ne devaient rien changer à leurs habitudes d'hygiène orale. Ils n'ont reçu aucune instruction d'hygiène ni intervention professionnelle de contrôle de plaque (telle qu'un détartrage).

A J 29 (4 semaines) et J 57 (8 semaines), les paramètres cliniques (la profondeur de poche, le saignement au sondage, l'indice gingival de Løe et Silness ainsi que l'indice de plaque) sont évalués et des échantillons salivaires (supra et sous-gingivaux) sont recueillis, afin de mesurer le taux de lactoferrine salivaire. Comme nous l'avons vu précédemment, ce taux est corrélé avec l'inflammation gingivale.

Les caractéristiques à la base sont similaires entre le groupe témoin et le groupe test.

Les résultats de cette étude sont :

Légende : ● groupe test (WB21) ○ placebo

FIGURE 16 : Changements des taux salivaires de lactoferrine chez tous les patients, chez les fumeurs, et chez les non-fumeurs (d'après Shimauchi et al 2008)

PI GI PdP Saignements au sondage

FIGURE 17 : Changements au niveau des paramètres cliniques (d'après Shimauchi et al 2008)

Légende : ● groupe test (WB21) ○ placebo

FIGURE 18 : Changements des paramètres cliniques chez les sujets de l'étude : tous les patients (ligne 1), fumeurs (ligne 2) et les non-fumeurs (ligne 3) (d'après Shimauchi et al 2008)

De ces différents graphiques, on peut dire :

- Après 8 semaines, le taux de lactoferrine salivaire est significativement plus bas chez le groupe test et notamment chez les fumeurs du groupe test par rapport au point de départ
- Les deux groupes présentent une diminution des paramètres cliniques mais il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes. Cela est dû au fait que les patients participant à cette étude ont de façon quasi certaine, modifié leurs habitudes d'hygiène orale, ce qui représente un biais en soi.

En conclusion cette étude montre, dans la continuité des autres études, que les probiotiques à base de lactobacilles pourraient peut-être supprimer les bactéries parodontopathogènes de la cavité buccale et ainsi améliorer les conditions parodontales.

L.salivarius a été choisi car c'est une des espèces prédominantes dans la cavité buccale d'un sujet sain [30].

Cette étude pose le problème du temps de contact des probiotiques pour que l'action soit optimale. En effet le taux de lactobacilles augmente dans le groupe test après administration, c'est-à-dire la prise du comprimé (ce qui traduit la translocation de *L.salivarius* exogène) mais il diminue par la suite. Les auteurs n'insistent pas sur ce problème car ils ne considèrent pas que cela soit le sujet de l'étude ; leur but étant de prouver l'efficacité. Cependant cela ouvre la voie sur un autre mode d'administration des probiotiques pour un effet prolongé.

Les auteurs concluent que l'intervention de probiotiques pourrait être un outil efficace dans le traitement de l'inflammation et des symptômes cliniques de la parodontite, et plus précisément chez les sujets à risque comme les fumeurs.

Ils ajoutent que cette étude présentent deux biais : le faible nombre de participants et le fait que les patients atteints de parodontite sévère soient exclus.

II.2.5.5- Twetman et Al en 2009 [86]

Ils étudièrent l'effet de chewing-gum contenant des bactéries probiotiques sur l'inflammation gingivale et sur le niveau des médiateurs de l'inflammation sélectionnés, dans le fluide créviculaire.

C'est une étude randomisée, en double-aveugle, contrôlée par placebo.

Le produit probiotique contient 2 souches de *L.reuteri* ATCC 55730 et ATCC PTA 5289 à 1×10^8 CFU/chewing-gum.

Les sujets (42 adultes avec un niveau d'inflammation modéré) sont répartis en trois groupes : le groupe A/P (2 chewing-gums par jour, 1 placebo et 1 probiotique), le groupe A/A (2 chewing-gums probiotiques par jour) et enfin, le groupe P/P (2 chewing-gums placebo par jour).

Les chewing-gums doivent être mâchés durant 10 minutes, deux fois par jour, durant 2 semaines.

Les échantillons de fluide créviculaire sont pris à J 0, à une semaine, deux semaines et enfin quatre semaines. Au même moment, on prend en compte l'importance des saignements.

Dans les échantillons, les niveaux d'IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8 et IL-10 sont déterminés.

Les résultats obtenus sont:

- Les saignements s'améliorent et le volume de fluide créviculaire diminue de manière significative dans les groupes A/A et A/P, pendant la période de traitement.
- Les niveaux de TNF α et d'IL8 diminuent significativement dans le groupe A/A, après une et deux semaines.
- Une diminution d'IL-1 β mais minime est observée.
- Un niveau inchangé d'IL-6 et IL-10 pour les trois groupes.

Au vu de ces résultats, cette étude prouve l'effet de modulation dose-dépendante, lors d'une prise à court terme de bactéries probiotiques sur la réponse inflammatoire orale.

Les probiotiques jouent bien un rôle bénéfique et notamment sur l'inflammation gingivale.

II.2.5.6- Tsubura et Al en 2009 [84]

Cette étude a pour but de déterminer l'effet d'un bain de bouche contenant *Bacillus subtilis* chez des patients atteints de parodontite. Le bain de bouche est connu pour être un adjuvant efficace au cours du traitement parodontal mais également lors de la phase de maintenance par le patient.

Le produit commercial utilisé est le bain de bouche E-300 qui contient 0,9g/100ml de *B.subtilis*. *B.subtilis* est utilisé notamment dans la prévention des infections intestinales. Il améliore l'activité immunologique par action sur les macrophages, les cellules natural killers, les leucocytes et enfin les interférons.

Matériels et méthodes

- 54 sujets : 33 femmes et 21 hommes, non fumeurs
- Moyenne d'âge : 53,4 ans
- Atteints de parodontite chronique
- Pas de pathologies générales sévères
- Au niveau buccal : au moins 20 dents naturelles, et au moins 8 sites avec une profondeur de poche > 4 mm au niveau des molaires
- Consentement recueilli
- Chaque patient reçoit un traitement parodontal initial : détartrage et surfaçage radiculaire.
- 2 groupes : un groupe test utilisant E-300 et un groupe contrôle utilisant un bain de bouche habituel contenant du benzethonium chloride (0,2g/100ml)
- Bain de bouche à utiliser pendant un mois matin et soir, dans les proportions suivantes : 3 gouttes de E-300 et 20 ml de bain de bouche classique dans de l'eau.
- Brossage de dents 3 fois par jour sans utiliser de dentifrice et aucun traitement durant la période de l'étude.
- Durant l'étude, les patients ne doivent pas changer leurs habitudes alimentaires et ne doivent pas utiliser d'autre bain de bouche que celui qui leur a été attribué

Les paramètres cliniques étudiés à J 0, J 14 et J 30, après détartrage et surfaçage radiculaire sont :

- La profondeur de poches
- Le saignement au sondage
- L'indice gingival de Löe-Silness

Six sites par dent, à l'exception des troisièmes molaires, sont examinés.

L'évaluation microbienne porte sur des échantillons (au niveau des mêmes sites) de plaque soumis au test de BANA pour déterminer la présence ou l'absence des bactéries parodontopathogènes du complexe rouge.

Les résultats sont les suivants :

- concernant la profondeur de poche (en mm) :

GROUPE	J0	J14	J30
E-300	4.8 ± 0.75	4.5 ± 0.51	4.2 ± 0.60
Groupe Contrôle	4.7 ± 0.72	4.0 ± 0.65	3.5 ± 0.51

- concernant le saignement au sondage :

GROUPE	J0	J14	J30
E-300	1.6 ± 0.51	1.0 ± 0.65	0.5 ± 0.51
Groupe Contrôle	1.6 ± 0.50	1.3 ± 0.53	0.8 ± 0.62

Il n'y a pas de différence significative entre E-300 et le groupe contrôle sur la profondeur de poche et sur le saignement au sondage à J30.

- concernant l'indice gingival :

GROUPE	J0	J14	J30
--------	----	-----	-----

E-300	1.9 ± 0.70	1.1 ± 0.62	0.7 ± 0.62
Groupe Contrôle	1.9 ± 0.75	1.4 ± 0.75	1.0 ± 0.65

On trouve une nette diminution de Gi à J 30 avec E-300.

- concernant le score de BANA :

GROUPE	J0	J14	J30
E-300	1.5 ± 0.51	0.7 ± 0.54	0.3 ± 0.47
Groupe Contrôle	1.6 ± 0.51	0.7 ± 0.54	0.9 ± 0.68

La différence se fait au niveau du score de BANA :E-300 est significativement plus efficace sur le complexe rouge, par rapport au groupe contrôle.

Ces résultats suggèrent que E-300 pourrait avoir la capacité de contrôler la maladie parodontale en diminuant le nombre de bactéries parodontopathogènes.

II.2.5.7- Mayanagi et al en 2009 [45]

Cette étude reprend le même probiotique (*L.salivarius* WB21) que Shimauchi et al en 2008 (étude sur les paramètres cliniques), mais cette fois ci le but est de déterminer si le probiotique *L.salivarius* WB 21 réduit le nombre de bactéries parodontopathogènes de la plaque supra-gingivale et de la plaque sous-gingivale (étude microbiologique sur les bactéries). Deux groupes sont formés : un groupe test comprenant 34 volontaires sains et un groupe placebo comprenant 32 volontaires sains.

Les participants sont contraints d'absorber une pastille trois fois par jour, pendant 8 semaines, et de la laisser se dissoudre sans la croquer. Pour le groupe test la pastille contient *L.salivarius* (2,01x10⁹ CFU) et du xylitol, et pour le groupe placebo uniquement du xylitol. Ils sont également tenus de ne pas modifier leurs habitudes d'hygiènes orales et de ne pas prendre d'autres probiotiques en parallèle.

Des échantillons de plaque supra-gingivale et de plaque sous-gingivale sont recueillis à S 4 et à S 8. L'analyse microbiologique repose sur la détection de *Tf*, *Aa*, *Pg*, *Pi* et *Td*. Leur analyse quantitative se fait par PCR.

Les paramètres cliniques initiaux (PdP, GI, saignement au sondage et PI) sont équivalents dans le groupe test et dans le groupe placebo. Il n'y a également pas de différences significatives, entre les deux groupes, pour les caractéristiques telles que le sexe, l'âge et être fumeur ou non-fumeur.

Les résultats sont les suivants ;

FIGURE 19 : Nombre de bactéries totales au niveau de la plaque supra-gingivale et sous-gingivale (d'après Mayanagi et al 2009)

FIGURE 20 : Nombre des 5 bactéries parodontopathogènes présentes au niveau sous-gingival et supra-gingival (d'après Mayanagi et al 2009)

FIGURE 21 : Changements dans le nombre total des 5 bactéries sélectionnées au niveau de la plaque supra-gingivale, durant les 8 semaines (d'après Mayanagi et al 2009)

FIGURE 22 : Changements dans le nombre total des 5 bactéries sélectionnées au niveau de la plaque sous-gingivale, durant les 8 semaines (d'après Mayanagi et al 2009)

Bactéries	S4			S8		
	OR	CI	p-value	OR	CI	p-value

<i>Aa</i>	1.23	0.51-3.01	0.65	1.86	0.65-5.29	0.25
<i>Pi</i>	0.75	0.24-2.35	0.62	0.32	0.06-1.85	0.20
<i>Pg</i>	8.00	0.72-88.6	0.09	6.66	0.39-113	0.19
<i>T.denticola</i>	0.61	0.21-1.74	0.35	2.04	0.52-8.05	0.31
<i>Tf</i>	6.69	2.51-17.9	<0.001	3.67	1.45-9.26	0.006

FIGURE 23 : Analyse de l'amélioration du nombre des espèces de la plaque sous-gingivale entre le groupe test et le groupe témoin (OR=odds ratio, CI=confidence interval) (d'après Mayanagi et al 2009)

- Il n'y a pas de différence significative inter groupe du point de vue du nombre total de bactéries dans les deux échantillons de plaque après huit semaines.
- La différence est marquée à S 4 entre les deux groupes avec une différence significative du nombre de bactéries parodontopathogènes au niveau sous-gingival
- La différence la plus marquée est avec *Tf* : on obtient une nette diminution à S 4 et à S 8 dans le groupe test

Ces résultats sont corrélés avec ceux de Shimauchi, qui avait conclu à une amélioration des paramètres cliniques dans le groupe test, et notamment pour les fumeurs.

Au vu de ces résultats, les auteurs affirment que les probiotiques oraux, comme *L.salivarius*, pourraient être un outil clinique utile dans le traitement et la prévention des maladies parodontales en interférant avec le microbiote parodontal et plus spécifiquement en supprimant les pathogènes parodontaux.

II.2.5.8- Staab et al en 2009 [71]

Lors de cette étude, les auteurs ont voulu vérifier si un probiotique (sous forme de lait à boire) avait un effet quelconque sur la santé gingivale durant une gingivite expérimentale (c'est à dire 8 semaines et 4 jours sans aucun traitement mécanique ou chimique pour le contrôle de

plaque). Elle se déroule sur une période assez longue afin de mettre en évidence les effets immunomodulateurs.

Elle regroupe 50 hommes et femmes (volontaires, étudiants en médecine et en dentaire) avec une moyenne d'âge de 24,4 ans. Ces participants ne doivent pas avoir pris d'antibiotiques ou d'anti-inflammatoires durant les 6 derniers mois, et pour les femmes ne pas être enceinte ou allaitante, et ne pas être atteint de parodontite.

Deux groupes sont constitués :

- Le groupe d'étude (25 sujets) qui pendant 8 semaines doit boire, quotidiennement 65 ml de Yakult[®] (lait probiotique à boire commercialisé au Japon) contenant *L.casei*.
- Un groupe contrôle (25 sujets également) qui ne reçoit pas de placebo.

Les sujets sont examinés à J 0 et à 8 semaines après une période de gingivite expérimentale (4 jours sans traitement mécanique ou chimique contre la plaque dentaire).

Les paramètres calculés sont les suivants : l'indice de plaque, l'indice de saignement de la papille et l'indice de plaque interproximal.

De plus au niveau de deux dents, du fluide gingival est prélevé pour analyse biochimique de PMN elastase, MPO et MMP-3, tous les trois, médiateurs de l'inflammation.

On obtient les résultats suivants :

Les indices de plaque et le saignement des papilles ne sont pas significativement différents chez le groupe test par rapport au groupe placebo.

Chez le groupe test il y a une nette diminution de l'activité de l'élastase et de MMP-3, après 8 semaines de consommation de lait probiotique, par rapport au groupe témoin.

Il en ressort qu'avec une consommation de lait probiotique on obtient une diminution de la réaction inflammatoire engendrée par la présence de plaque.

II.2.5.9- Zahradnik et al en 2009 [94]

Ces auteurs se sont penchés sur l'étude de PROBIORA 3, un bain de bouche probiotique. C'est un mélange à quantité égale de *S.uberis*, *S.oralis* et *S.rattus*. Il s'agit de déterminer si l'absorption deux fois par jour de ce probiotique est bien tolérée, et si son utilisation peut améliorer la santé dentaire et parodontale en réduisant un certain nombre d'espèces bactériennes connues, ou supposées être absentes (ou existant à un taux moindre) chez les individus en pleine santé dentaire et parodontale. Les sujets sont 11 adultes en bonne santé, de 21 à 35 ans, et ayant au moins 20 dents naturelles, et le moins de soins dentaires possibles.

Les sujets ayant de grosses lésions carieuses et des poches parodontales supérieures à 5 mm sont exclus de l'étude. Pour s'assurer de l'efficacité du produit, chaque patient doit être porteur d'un nombre détectable de *S.mutans* et de un ou plusieurs pathogènes parodontaux, biomarqueurs de la maladie. Le protocole clinique s'articule autour de deux axes : tout d'abord évaluer la sécurité du produit et ensuite tester son efficacité. Le critère d'évaluation de l'efficacité est le nombre de bactéries présentes dans la plaque sous-gingivale et dans la salive. Pour la sécurité d'emploi du bain de bouche, les patients doivent se rendre chaque semaine à la clinique pour un examen complet, afin de relever d'éventuels effets indésirables. Le patient doit garder le bain de bouche 30 secondes avant de le cracher. À chaque visite, des échantillons salivaires sont prélevés.

	Niveau moyen de bactéries	
Pathogène	Visites 1 à 4	Visites 5 à 8
<i>Pg</i> (% bactéries totales)	0.487 (\pm 0.994)	0.004 (\pm 0.011)

Les résultats obtenus sont les suivants : une diminution de *Pg* au niveau de la plaque sous-gingivale. Cependant aucun effet sur *Pi* n'est relevé. De plus, ce bain de bouche présente une sécurité d'emploi puisqu'aucun effet indésirable n'a été enregistré.

II.2.5.10- Zhu et al en 2010 [95]

Cette étude a pour but de déterminer si les yaourts bio et les probiotiques isolés de ces yaourts ont une activité antimicrobienne contre les pathogènes parodontaux in vitro. L'hypothèse des auteurs est que l'amélioration des conditions parodontales après

consommation des yaourts pourrait être attribuée à l'action directe et sélective des probiotiques contre les pathogènes parodontaux.

Matériels et méthodes :

- les souches bactériennes sont : *Fn* ATCC 25586, *Pg* ATCC 33277, *Aa* ATCC 29523, *Pi* ATCC 25611, *P.nigrescens* ATCC 33563, *P.anaerobius* ATCC 27337, *B.fragilis* ATCC 25285, *P.circumdentaria* NCTC 12469 et enfin *S.sanguinis* 10556 (souche connue pour être une bactérie protectrice)
- Quatre espèces bactériennes probiotiques isolées de yaourts commerciaux (vendus comme contenant des probiotiques) : *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium*.
- Pour voir si l'effet inhibiteur du yaourt est exclusivement dû aux organismes viables, les yaourts sont traités par la chaleur durant 30 minutes à 70° C, ce qui diminue la proportion des organismes viables.

Les résultats de cette étude sont les suivants :

Souches	Zone d'inhibition en mm (marge erreur avec renouvellement de l'expérience)		
	Yaourt	Yaourt traité par la chaleur	Chlorhexidine à 0,2%
<i>Fn</i> ATCC 25586	11.4 (0.9)	(-)	20.5 (0.7)
<i>Pg</i> ATCC 33277	10.6 (1.2)	(-)	20.5 (1.3)
<i>Aa</i> ATCC29523	9.3 (0.6)	7.9 (0.3)	17.3 (0.4)
<i>Pi</i> ATCC 25611	11.5 (1.4)	7.9 (1.3)	18.4 (1.7)
<i>P.nigrescens</i> ATCC 33563	13.7 (2.6)	9.9 (2.5)	20.0 (1.8)
<i>P.anaerobius</i> ATCC 27337	17.3 (1.7)	11.2 (1.2)	28.3 (0.7)
<i>B.fragilis</i> ATCC 25285	11.4 (0.7)	9.4 (0.7)	17.2 (0.4)
<i>P.circumdentaria</i> NCTC 12469	11.2 (1.4)	8.3 (0.8)	21.9 (1.8)
<i>S.sanguinis</i> ATCC 10556	7.9 (1.1)	(-)	16.7 (1.3)

FIGURE 24 : Activité antimicrobienne du yaourt frais, du yaourt traité par la chaleur et de la chlorhexidine à 0.2% sur les bactéries orales (d'après Zhu et al 2010)

- Concernant l'activité antimicrobienne du yaourt : le yaourt frais inhiberait peut-être les pathogènes parodontaux alors que le yaourt traité par la chaleur échoue à inhiber *Fn* et *Pg*. De plus avec le yaourt frais, *S.sanguinis* présente la zone d'inhibition la plus petite.
- Pour évaluer la compétition entre le yaourt contenant les souches probiotiques et les souches indicatrices, 3 tests séparés sont réalisés : les probiotiques en premier lieu puis les souches, d'abord les souches puis les probiotiques et enfin les deux en même temps. La compétition dépend de la séquence d'inoculation. Quand les probiotiques sont inoculés en premier, les bifidobactéries inhibent *Pg*, *Fn*, *Aa*, *Pc* et *Pn*. *L.acidophilus* inhibe *Pg*, *Aa*, *Pc*, *Pn* et *Pa*. *L.bulgaricus* inhibe *Pg*, *Aa* et *Pn*. Enfin, *S.thermophilus* inhibe *Pg*, *Fn* et *Pn*. Cependant leur activité antimicrobienne est réduite quand les deux espèces (probiotiques et pathogènes parodontaux) sont inoculées simultanément. Quand les pathogènes parodontaux sont inoculés en premier, *Pi* inhibe les Bifidobacteries et *S.thermophilus*.

En conclusion, les résultats mettent en évidence que les yaourts bio et les probiotiques qu'ils contiennent seraient peut-être capables d'inhiber les pathogènes parodontaux spécifiques mais n'ont pas d'effet sur les bactéries parodontales protectrices. Tout cela suggère que la consommation régulière de yaourts contenant des probiotiques fournirait des conditions environnementales favorables pour le maintien de la santé parodontale.

Les auteurs attribuent l'activité antimicrobienne du yaourt, au pH bas qu'il entraînerait, aux substances inhibitrices qu'il produirait et aux organismes viables qu'il contiendrait.

Cette étude est en accord avec celle de Hojo et Al, qui ont démontré que les Bifidobactéries sont plus nombreuses chez des patients sains [27].

II.2.6- La thérapie de remplacement

II.2.6.1- Concept

Cette thérapie s'inspire du principe des probiotiques. En effet, les deux approches utilisent des bactéries vivantes pour la prévention ou le traitement des maladies infectieuses.

Plusieurs auteurs ont émis l'hypothèse que l'application de bactéries bénéfiques sélectives, comme adjuvant au détartrage et surfaçage sous radiculaire, pourrait inhiber la recolonisation des poches parodontales par les bactéries parodonto-pathogènes [80][82][83].

La présence des souches antagonistes au niveau des sites permet déjà qu'elles agissent « passivement » en bloquant l'accès aux niches pour les bactéries pathogènes [87].

Les autres noms donnés à cette thérapie sont : interférence bactérienne [83] et recolonisation guidée des poches parodontales [82].

Une approche de cette thérapie existe déjà dans le domaine des lésions carieuses [26].

II.2.6.2- Différence avec la thérapie via les probiotiques [83]

Bien que le principe soit le même pour ces deux thérapies, il y a quelques différences.

THERAPEUTIQUE DE REMPLACEMENT	THERAPEUTIQUE PROBIOTIQUE
Les souches qui sont efficaces ne sont pas ingérées mais sont directement appliquées au niveau du site de l'infection.	Les probiotiques sont en général utilisés comme compléments alimentaires.
La colonisation du site par les souches est essentielle.	Les probiotiques sont capables d'exercer leur effet bénéfique sans coloniser de façon permanente le site.
Implique un changement radical et à long terme dans le microbiote	Entraîne rarement un changement microbiologique radical et à long terme
A pour but de déplacer ou de prévenir la colonisation d'un pathogène.	
A un impact immunologique minimal.	Exerce des effets bénéfiques en influençant le système immunitaire.

FIGURE 25 : Différences entre la thérapeutique de remplacement et la thérapeutique à base de probiotiques (d'après Teughels et al 2008)

II.2.6.3- Efficacité

II.2.6.3.1- Études de Teughels en 2007

Dans un premier temps, ces auteurs ont mis en évidence les bactéries capables d'interférer avec la colonisation des cellules épithéliales par *Aa*, partant du principe que la colonisation des tissus de l'hôte par les pathogènes était le point de départ du développement des maladies infectieuses. Pour cela, ils ont sélectionné sept bactéries considérées comme « bénéfiques ». Il s'est avéré que *S.sanguinis*, *S.mitis* et *S.salivarius* présenteraient le pouvoir d'inhibition le plus élevé envers *Aa* [80].

Dans un deuxième temps, les mêmes auteurs ont cherché à vérifier que l'application sous-gingivale de ces trois bactéries bénéfiques après débridement mécanique, pouvait prévenir la colonisation des tissus, in vivo, par les pathogènes parodontaux [82].

Les sujets de l'étude sont 8 chiens mâles de moyenne d'âge de 3,08 ans.

Les poches parodontales sont créées artificiellement. Quatre poches par chien, servent de modèles pour l'étude ;

- Poche 1 : ne reçoit pas de traitement
- Poche 2 : reçoit un détartrage et un surfaçage sous-gingivaux
- Poche 3 : reçoit un surfaçage radiculaire et une seule application des bactéries à J 0
- Poche 4 : reçoit un surfaçage et des applications répétées des bactéries ; à J 0, à une semaine, à 2 semaines et à 4 semaines.

Les paramètres parodontaux relevés sont :

- La profondeur des poches au sondage
- Le saignement au sondage
- Les changements microbiens sous-gingivaux
- Le niveau d'attache clinique

Les paramètres sont enregistrés par un clinicien qui n'est pas informé du but de cette étude. De plus une ré-évaluation est faite à la douzième semaine, permettant ainsi d'observer la recolonisation.

Les résultats sont les suivants :

- Le groupe qui a reçu 4 applications bactériennes, montre une réduction plus importante du nombre total de bactéries anaérobies, des bactéries à pigmentations noires de *C.rectus*. De plus, la recolonisation des poches parodontales est retardée chez ce même groupe, lorsqu'on le compare avec le groupe contrôle. Enfin, ce groupe présente une diminution significative du saignement au sondage.

- Aucun effet indésirable n'a été relevé pour ce traitement.

Bien que l'application de bactéries bénéfiques n'exclut pas la recolonisation par les pathogènes, elle permettrait cependant de retarder significativement le processus de recolonisation.

L'application de ces bactéries améliorerait et prolongerait l'effet du traitement mécanique.

Cette étude montre que l'application de bactéries bénéfiques mènerait à un microbiote sous-gingival compatible avec la santé parodontale.

L'occupation physico-chimique des niches bactériennes sous-gingivales pourrait être considérée comme un mécanisme d'action des probiotiques.

II.2.6.3.2- Etude de Nackaerts en 2008 [47]

Le but de cette étude est d'évaluer l'impact de la thérapeutique de remplacement en surveillant les changements au niveau de la densité osseuse et le niveau de l'os alvéolaire dans les poches parodontales chez un modèle animal, comme le chien. Les changements dans le sens vertical de l'os alvéolaire, mais aussi sa minéralisation seront étudiés.

Les sujets de l'étude sont 8 chiens mâles avec un âge moyen de 3,1 ans. Des poches parodontales sont créées chirurgicalement 4 mois avant le début de l'étude (5 mm d'os alvéolaire est retiré au niveau des canines et des prémolaires). Aucun des chiens ne reçoit d'antibiotiques avant ou pendant la durée de l'étude.

Deux groupes sont formés :

- Le groupe Rp : détartrage et surfaçage radiculaire à J0
- Le groupe Bb : détartrage et surfaçage radiculaire, plus applications répétées de bactéries bénéfiques à J 0, semaines 1, 2 et 4

Les bactéries utilisées sont les mêmes que dans l'étude de Teughels en 2007, à savoir : *S.sanguinis*, *S.salivarius* et *S.mitis* [80].

Pour l'analyse du niveau d'os alvéolaire, deux radiographies sont prises : à J 0 et 12 semaines après.

Les résultats obtenus montrent qu'il n'y a pas de différence dans les mesures radiologiques entre J 0 et S 12 pour le groupe Rp. Par contre, une amélioration significative est mise en évidence au niveau de la densité osseuse ainsi qu'un gain d'os alvéolaire au niveau des poches parodontales qui ont reçu des bactéries, en adjuvant du détartrage et du surfaçage radiculaire.

Cette étude concorde avec celle de Teughels et al en 2007, qui prouvait que les poches parodontales traitées avec des bactéries bénéfiques, présenteraient une recolonisation par les parodontopathogènes, retardée et diminuée, au même titre que le degré d'inflammation [82].

De plus, radiologiquement, la cicatrisation des poches parodontales, après détartrage et surfaçage radiculaires semblerait être meilleure lorsque des bactéries bénéfiques sont appliquées.

II.3- Mise en pratique : l'exemple de GUM[®] Périobalance[™]

II.3.1- Présentation [34]

Ce produit est présenté comme le premier et le seul probiotique spécifiquement formulé pour combattre les problèmes de gingivite, et dont l'efficacité a été prouvée.

Chaque dose contient au moins 200 millions de *L.prodentis*.

C'est l'association brevetée de deux souches complémentaires de *L.reuteri* :

- *L.reuteri* ATCC55730
- *L.reuteri* ATCC PTA 5289

	Pour 100g	Par pastille
Valeur énergétique	874 kj / 208 kcal	7.1 kj / 1.7 kcal
Protéines	0.5g	4 mg
Glucides dont :	93.5g	750 mg
- sucres	0	0
- indols	92g	736 mg
Lipides	2g	16 mg
	Pour 100g	Par chewing-gum
Valeur énergétique	832 kj / 198 kcal	6.6 kj / 1.6 kcal
Protéines	0.5g	4 mg
Glucides dont :	61.5g	792 mg
- sucres	0g	0
- indols	61g	485 mg
Lipides	1.5g	12 mg

FIGURE 26 : Information nutritive de GUM[®] Périobalance[™]

II.3.2- Rôles [34]

Ces deux souches vont agir en synergie pour :

- Réduire la formation de la plaque dentaire
- Combattre les maladies parodontales en inhibant de manière sélective les bactéries parodontopathogènes
- Combattre la carie dentaire
- Combattre les bactéries à l'origine de l'halitose

II.3.3- Indications [34]

Ce produit s'adresse :

- À tous les patients (enfants comme adultes) souhaitant une hygiène bucco-dentaire optimale en complément des autres moyens d'hygiène
- Aux personnes en période de stress
- Aux patients à risques carieux élevés
- Aux personnes souffrant de problèmes gingivaux ou ayant les gencives sensibles
- Aux patients « à risque » parodontal (femme enceinte, diabétique, fumeur, patient sous traitement orthodontique, personnes âgées, patients souffrant d'ostéoporose)
- Aux patients sous traitement ayant un impact sur l'état gingival (contraceptifs oraux, antihistaminiques, antidépresseurs, médicaments contre le cancer, stéroïdes)

II.3.4- Produit commercial et posologie [34]

Le laboratoire Sunstar a commercialisé ce produit sous deux formes :

- Pastilles à sucer goût menthe
- Chewing-gum goût menthe également

Les pastilles ou les chewing-gum sont regroupés dans des boîtes de 30 unités.

Les patients peuvent acheter GUM® Périobalance™ en pharmacie ou parapharmacie, sans ordonnance. Le prix varie de 15 à 20 euros la boîte.

Ce produit est à utiliser en complément du brossage.

Les recommandations pour des résultats optimaux sont les suivantes :

- Prendre une pastille à sucer ou en chewing-gum une fois par jour après le brossage des dents, et l'utilisation du fil dentaire
- Laisser fondre la pastille lentement dans la bouche ou mâcher le chewing-gum pendant au moins 10 minutes, les substances actives peuvent ainsi se diffuser dans la cavité buccale et adhérer à la muqueuse.

Aucun effet secondaire n'a été observé :

- Il ne tache pas les dents
- Il n'altère pas la perception du goût
- Il n'irrite pas la muqueuse buccale

II.3.5- Lactobacillus reuteri

II.3.5.1- Description [34]

On doit les premières études de *L.reuteri* à un microbiologiste allemand Gerhard Reuter- d'où son nom.

L.reuteri est une bactérie Gram positif ubiquitaire (composant majeur du genre *Lactobacillus*), hétérofermentative stricte, qui est présente naturellement dans la flore gastro intestinale. Elle est parmi les premières bactéries à coloniser le tube digestif du nouveau-né.

Les cellules se présentent sous la forme de bâtonnets aux bords légèrement irréguliers et aux extrémités arrondies et sont rencontrées soit seules, soit en paires, soit sous forme de petits agrégats.

Cette bactérie est la seule du genre *Lactobacillus* à produire de la reuterine, qui comme nous allons le voir est un agent antimicrobien naturel bénéfique.

II.3.5.2- La reuterine [76] [77]

C'est un antibiotique (découvert dans les années 1980) à large spectre capable d'inhiber, selon des études in vitro, la croissance de certaines bactéries Gram négatif et

Gram positif pathogènes, mais aussi de certaines levures (comme *Candida albicans*), champignons et protozoaires.

La reuterine ou β -hydroxy-propionaldéhyde (β -HPA) est synthétisée par *L.reuteri* en milieu anaérobie en présence de glycérol.

Par tous ces mécanismes, on comprend mieux comment *L.reuteri* peut agir contre certaines bactéries parodontopathogènes.

II.3.6- Apports de la littérature

La première étude a eu lieu en 2004 et a été réalisée par Nikawa et al. Le groupe chercha à démontrer le pouvoir anti-cariogène de *L.reuteri* contenu dans le lait de vache fermenté, sur le principal agent bactérien cariogène : *S.mutans*. Les études in vitro et in vivo montrèrent l'effet inhibiteur de *L.reuteri* sur *S.mutans*. Ils conclurent que le lait de vache fermenté par *L.reuteri* pourrait aider à diminuer le risque carieux et pourrait être utilisé comme probiotique dans des produits quotidiens [48].

Nous avons vu précédemment trois études sur *L.reuteri* : étude de Hedberg et al en 2006, celle de Krasse et al en 2006 et enfin celle de Twetman et al en 2008.

Rappelons-en les résultats :

-Hedberg et al : *L.reuteri* inhiberait la croissance de tous les Gram négatif in vitro en présence de glycérol, et plus précisément une action plus importante sur *Pg* et *Pi* [25].

-Krasse et al : *L.reuteri* serait efficace pour réduire la gingivite et la plaque chez des patients ayant une gingivite de modérée à sévère [33].

-Twetman et al : *L.reuteri* permettrait cliniquement la diminution des signes de l'inflammation, ainsi qu'une modulation de la réponse immunitaire [86].

En se basant également sur ces publications, le laboratoire Biogaia a commercialisé Prodentis®

*

III : CRITIQUE

III.1- Pertinence des études

Pour juger de la pertinence des différentes études menées sur les probiotiques en parodontologie, plusieurs critères peuvent entrer en compte :

- Le nombre de participants est-il suffisant ?
- La population de l'étude correspond-elle à la population habituellement traitée ?

- Les variables cliniques prises en compte sont-elles pertinentes ?
- Les modalités de traitement sont-elles adaptables en clinique ?
- La différence est-elle significative entre le groupe témoin et le groupe test ?

Reprenons les études une à une.

Dans l'étude de Burton et al [8] concernant l'impact probable des probiotiques sur l'halitose, le protocole comprenait un brossage de la langue avant la prise du probiotique. Après la prise de la pastille, les auteurs attribuent la diminution de la production des CSV aux probiotiques alors que l'action mécanique du brossage de la langue joue un rôle dans la diminution de l'halitose (usage du gratte langue). On ne peut donc pas attribuer ces effets bénéfiques au seul usage des probiotiques. Pour que leur conclusion soit valable, il aurait fallu ne pas se brosser la langue et voir si la prise de la pastille diminuait la formation de CSV.

Dans l'étude d'Ishikawa et al [28] les patients ne sont atteints ni de gingivite, ni de parodontite. Ils ne sont soumis à aucune instruction d'hygiène orale, que ce soit bain de bouche ou enseignement à l'hygiène bucco-dentaire. Les auteurs ont juste cherché à voir s'il y a avait une diminution du nombre de bactéries pathogènes. Ils concluent à une diminution des bâtonnets anaérobies à pigmentation noire. Cependant les différences en nombre ne peuvent être significatives étant donné que le nombre de bactéries pathogènes à JO est bas donc compatible avec la santé parodontale (patients non atteints de maladies parodontales) et le nombre après 4 semaines est encore plus bas. Ils jugent également le taux de *S.mutans*, or dans l'examen clinique initial, rien ne nous indique si les patients ont une susceptibilité à la carie plus élevée. Donc peut-être que le taux de *S.mutans* est inchangé, mais peut-être aussi que les patients n'étaient pas sujets à la carie initialement. Ainsi aucune conclusion ne peut être tirée sur l'influence du probiotique sur le taux de *S.mutans*. De plus, les auteurs considèrent que $-1\log^{10}$ est une diminution significative alors qu'en médecine on attribue une diminution significative à une diminution de $-2\log^{10}$.

Dans le deuxième temps de l'étude d'Ishikawa et al, 108 patients atteints de parodontite sont sujets de l'étude, et ils ne reçoivent aucun pré-traitement. La population étudiée est plus

intéressante, seulement la diminution du saignement et de la profondeur de poche n'est que temporaire. Quatre semaines après l'arrêt du traitement, les signes réapparaissent pour qu'à la 16^{ème} semaine les paramètres soient identiques aux paramètres de départ. Ce qui pose problème aux auteurs de cette étude c'est l'effet bénéfique temporaire du probiotique, mais ce qui doit attirer notre attention c'est qu' une thérapeutique à base de probiotique pour traiter une parodontite ne peut en aucun cas être suffisante pour obtenir de bons résultats qui perdurent. Les probiotiques ne sont qu'un adjuvant potentiel aux thérapeutiques mécaniques. Dans cette étude, il aurait fallu que les patients reçoivent un pré-traitement mécanique associé à une prise de probiotiques.

Dans l'étude de Krasse et al [33] les sujets de l'étude sont atteints de gingivite. Les résultats de la prise du chewing-gum probiotique mènent à une diminution de l'indice gingival, mais cette diminution est présente également dans le groupe placebo. Ce qui peut être reproché à cette étude, c'est que les patients sont initialement formés aux méthodes de brossage et d'hygiène orale. Ainsi l'amélioration de leur gingivite ne peut être attribuée à l'effet du probiotique mais plutôt à une hygiène bucco-dentaire plus rigoureuse. De plus la différence avec le groupe placebo n'est pas significative (l'indice gingival est diminué dans les deux groupes). Enfin, cette étude manque de précision car les deux formulations de *L.reuteri* ne sont pas détaillées.

Dans l'étude de Riccia et al [55] les paramètres étudiés sont les témoins d'une réaction inflammatoire (MMP, PGE2...). Les patients sont atteints de parodontites, mais ne sont qu'au nombre de 21 contre 8 patients sains. Des diminutions des taux des paramètres étudiés sont observées pour arriver à des taux équivalents à ceux rencontrés chez des patients sains. Ce qui est reprochable, c'est le faible nombre de participants (au moins 30 sujets). De plus, en participant à cette étude les patients ont forcément modifié leurs habitudes d'hygiène orale et sûrement en l'améliorant, ce qui a pu biaiser les résultats. Enfin ce qui interpelle dans cette étude, c'est la composition d'une pastille probiotique qui contient 200 mg de bactéries pour deux fois plus de fructose (400mg). Comme nous l'avons vu précédemment le fructose peut jouer le rôle de prébiotique. Donc à une dose deux fois plus élevée, est ce que les résultats ne lui seraient pas plutôt attribués ?

Concernant l'étude de Shimauchi et al [61] les patients atteints de parodontite chronique sont exclus de l'étude. Aucune instruction d'hygiène orale n'est donnée. Ils doivent maintenir leur méthodes habituelles d'hygiène orale. Mais malheureusement comme nous l'avons vu auparavant, en participant à une étude les patients ont forcément été plus rigoureux. Les sujets avec facteur de risque comme les fumeurs sont inclus dans l'étude. Le taux de lactoferrine, reflet de l'état inflammatoire parodontal, diminue notamment dans le groupe fumeur. Ce qui n'est pas pertinent dans cette étude, c'est que les paramètres de départ sont évalués et surtout chiffrés, alors que les résultats eux ne sont pas chiffrés. Ils sont seulement observables via un diagramme. Les auteurs nous montrent seulement la tendance des paramètres à baisser ou à augmenter sans jamais les chiffrer.

Dans l'étude de Tsubura et al [84] les patients sont atteints de parodontites chroniques. Les auteurs attribuent à l'utilisation du bain de bouche probiotique, la diminution du score de BANA. Or dans cette étude, les patients ont reçu initialement un détartrage et surfaçage radiculaire et le bain de bouche probiotique ne représente que 3 gouttes diluées dans un bain de bouche classique. Les patients sont également tenus de se brosser les dents trois fois par jour. Tout ceci porte à croire que les effets bénéfiques sur le score de BANA ne sont pas seulement dus à l'effet du bain de bouche probiotique mais à toutes les instructions et obligations annexes que les patients ont reçues. En effet, une diminution du score de BANA et de l'indice gingival est également observée dans le groupe test.

L'étude de Mayanagi et al [45] reprend la même souche que celle de shimauchi et al : *L.salivarius WB 21*. Dans cette étude, la diminution significative de *Tf* est chiffrée. Au vu de ces résultats, les auteurs modèrent leur propos en proposant les probiotiques comme un outil dans le traitement et la prévention des maladies parodontales.

Dans l'étude de Staab et al [71] un point positif est la durée du traitement qui est assez longue (8semaines) afin de mettre en évidence les effets immunomodulateurs. Le problème est que

les patients atteints de parodontites sont exclus de l'étude. L'étude porte sur des patients soumis à une gingivite expérimentale (4 jours sans traitement mécanique ou chimique contre la plaque dentaire). Aucune différence entre le groupe test et le groupe témoin du point de vue du saignement et de l'indice de plaque n'est observée. Pourquoi vouloir évaluer les bénéfices des probiotiques sur une gingivite expérimentale alors que l'on sait qu'elle disparaît dès lors que l'hygiène buccale s'améliore ?

Dans l'étude de Zahradnik et al [94] seulement 11 patients participent et de plus, ils sont tous en pleine santé dentaire et parodontale, c'est d'ailleurs un critère d'inclusion dans l'étude. Ils concluent à une diminution du taux de *Pg* importante (de 0,487 % de bactéries totales à 0,004% de bactéries totales). Cependant, ce que l'on cherche avec les probiotiques c'est d'obtenir un rééquilibrage de la flore parodontale qui soit compatible avec la santé parodontale. Or, *Pg* diminue mais le taux de départ était compatible avec la santé parodontale puisque les patients devaient avoir une bonne santé bucco-dentaire pour participer à cette étude.

L'étude de Zhu et al [95] sur les yaourts bio compare les résultats du probiotique avec ceux de la chlorhexidine à inhiber les pathogènes parodontaux. Le yaourt probiotique inhibe les pathogènes mais deux fois moins que la chlorhexidine (Aa : zone d'inhibition de 9,3mm avec le probiotique contre 17,3 avec la chlorhexidine). Cette étude a montré la moindre efficacité des probiotiques face à la chlorhexidine. Même si les probiotiques semblent être moins efficaces que la chlorhexidine, ceux ci ne présentent pas ses effets secondaires (ne tâchent pas les dents) et pourraient être une bonne alternative sur le long terme.

Les études concernant la thérapeutique de remplacement [47] [80] doivent rester anecdotiques étant donné qu'elles concernent 9 chiens. Le nombre et le type de population étudiée ne permet en aucun cas de tirer des conclusions. La microflore du chien n'est pas comparable à celle de l'homme.

Dans le tableau suivant sont regroupés les études, le nombre de patients, les variables cliniques, la durée du traitement ainsi que la population étudiée :

ETUDE	NOMBRE PATIENTS	POPULATION	VARIABLES CLINIQUES	MODALITES DE TRAITEMENT
ISHIKAWA 1	76	Sains	Taux de bactéries	5 cp/J pdt 8 semaines
ISHIKAWA 2	108	Parodontite	Concentrations bactériennes, saignements, PdP	5 cp/J pdt 12 semaines
KRASSE	59	Gingivite modérée à sévère	Indice gingival Indice de plaque Colonisation par <i>L.Reuteri</i>	1 chewing-gum matin et soir pdt 14J
RICCIA	8 21	Sains Parodontites chroniques	PI, saignements, sensibilités thermiques, médiateurs inflammation	4 pastilles/jour pdt 4 semaines
SHIMAUCHI	66	Toutes catégories (fumeur et non fumeur) mais pas de parodontite sévère	PdP, saignement, PI, lactoferrine salivaire	3 cps/J pdt 8 semaines
TWETMAN	42	Inflammation modérée	Saignements et médiateurs de l'inflammation	Chewing-gum 2 fois 10 minutes/J pdt 2 semaines
TSUBURA	54	Parodontite chronique	PdP, saignement, GI, évaluation microbienne (score BANA)	Bain de bouche Matin et soir pendant un mois
MAYANAGI	66	Sains	Analyse microbiologique d'échantillons de plaque	1 pastille 3 fois/jour pdt 8 semaines
STAAB	50	Gingivite expérimentale	PI, saignement et trois médiateurs de l'inflammation	65ml de lait probiotique par jour pdt 8 semaines
ZAHRANIK	11	Pleine santé dentaire et parodontale	Échantillons salivaires	Bain de bouche 2 fois par jour pdt 4 semaines

Les variables cliniques enregistrées sont pertinentes et sont d'ailleurs les paramètres évalués lors d'une maladie parodontale ou ré-évalués en maintenance parodontale.

Les modalités de traitement sont réalisables cliniquement puisqu'elles se déroulent sur de courtes durées, ce qui n'est pas trop contraignant pour le patient.

Toutefois, comme nous l'avons vu précédemment, le problème de la colonisation temporaire de la cavité buccale par les probiotiques ne permet pas d'espérer un effet sur le long terme. Il serait alors nécessaire de prescrire les probiotiques par cures régulières pour maintenir leurs effets, ce qui pour finir pourrait s'avérer astreignant pour le patient.

De plus, les études ne sont pas homogènes concernant les doses de probiotiques (variables d'une étude à l'autre), les durées du traitement (14 jours à 8 semaines), les modèles (humains ou animaux), la population (saine, gingivite, parodontite) et enfin concernant les souches et leur voie d'administration. Dans certaines études la souche n'est pas précisée, or les effets sont, comme nous l'avons vu précédemment souche-dépendants,. De même que la voie d'administration qui n'est pas toujours indiquée, or elle peut influencer le potentiel thérapeutique mais surtout la colonisation orale.

Teughels en 2011, s'interroge justement sur la voie d'administration idéale pour potentialiser les effets des probiotiques oraux et indique qu'aucune des études, à ce jour, ne nous fournit de voie d'administration « idéale » [81].

Enfin, aucune étude ne traite des effets potentiels de ces probiotiques oraux au niveau gastro-intestinal. En effet ingérer des bactéries aura forcément un impact au niveau intestinal.

Ces différentes études avaient pour but de mettre en évidence l'intérêt que les probiotiques pourraient avoir sur les maladies parodontales.

L'ensemble des effets bénéfiques est attribué à différentes souches bactériennes. Ainsi une seule et unique souche ne permet pas d'obtenir l'ensemble des effets recherchés. Pourquoi ne pas alors envisager une étude avec un probiotique regroupant l'ensemble de ces souches pour espérer un effet potentialisé ?

Les preuves sur l'effet bénéfique des probiotiques sur les maladies parodontales restent encore faibles. Des investigations sont encore à envisager.

Meurman et Stamatova se sont penchés sur les recommandations qu'il faut envisager pour des recherches futures [46].Elles sont regroupées dans le tableau suivant :

Problèmes posés	Recommandations et commentaires
Microbiologie complexe de la cavité buccale	Passage en revue systématique des souches probiotiques résidentes. Les interactions entre les microorganismes buccaux sont méconnues.
Différents sites d'attachement microbien	Investigations des attachements microbiens probiotiques séparément pour les dents, l'épithélium kératinisé, épithélium non kératinisé. Il faut très probablement plusieurs probiotiques différents dans les thérapeutiques touchant les dents ou la muqueuse buccale.
Salive	Les mécanismes de défense spécifique et non spécifique doivent être étudiés pour les probiotiques potentiels. Les données trouvées en gastro-entérologie ne sont pas applicables ici.
Sécurité	Les souches qui fermentent les carbohydrates et diminuent le pH en bouche ne sont pas des souches recommandées pour maintenir une bonne santé orale. Des aspects spécifiques concernant la sécurité doivent être étudiés comme le gène de résistance aux antibiotiques.

Moyens d'administration et dosage	Des moyens d'administration à libération prolongée doivent être trouvés car on a montré que pour que les probiotiques soient administrés de façon adéquate il est important qu'ils soient administrés de façon continue. Les dosages optimaux des probiotiques dans le domaine oral sont à découvrir.
Études	Des études précises randomisées sur le potentiel des souches probiotiques sont à mettre en œuvre ainsi que des études cliniques spécifiques sur les pathologies buccales pouvant être soignées par ces probiotiques.
Micro-organismes génétiquement modifiés	Il faut chercher si des souches probiotiques peuvent être et doivent être génétiquement modifiées pour améliorer leurs propriétés potentielles ou leurs caractéristiques.

FIGURE 27 : Recommandations pour les recherches futures (d'après Meurman et Stamatova 2007)

III.2- Quel avenir pour les probiotiques au cabinet dentaire ?

L'intégration des probiotiques pourrait être envisagée comme un complément à la thérapeutique anti-infectieuse parodontale.

Elle s'articulerait autour de deux axes :

- une intégration au cabinet dentaire avec le concept de la thérapeutique de remplacement, qui serait réalisée par le praticien (application locale de probiotiques au niveau des sites infectés)
- une intégration dans les conseils et les prescriptions d'hygiène bucco-dentaires pour le patient.

Etant donné le problème de la colonisation temporaire de probiotiques dans la cavité buccale, la prescription se ferait sous forme de cures régulières. Cependant, le coût du traitement s'avère assez élevé et s'ajoute à celui du matériel d'hygiène bucco-dentaire initial.

De nouvelles études et avancées dans ce domaine par les laboratoires, permettraient le développement plus important des probiotiques oraux, ainsi leur coût serait amoindri et leur prescription plus aisée en parodontologie.

Enfin, les probiotiques pourraient être utiles pour les patients souffrant d'halitose. En effet, c'est souvent l'un des motifs de consultation des patients en parodontologie. Traiter ce désagrément par un chewing-gum pourrait être une solution facile et bien acceptée par le patient.

Mais malheureusement, à ce jour, les résultats des études sont peu concluants pour envisager l'utilisation au cabinet dentaire des probiotiques et espérer des bénéfices plus importants que les thérapeutiques classiques.

CONCLUSION

Comme nous venons de l'exposer, il y a de multiples raisons de penser que les nombreuses investigations montrant l'effet des probiotiques au niveau de la sphère gastro-intestinale, peuvent s'appliquer à la cavité buccale.

Cependant, les résultats de ces études semblent discutables (panel peu représentatif des patients, instructions à l'hygiène buccale pendant la durée de l'étude...).

A l'heure actuelle, le niveau de preuve scientifique en faveur de l'utilisation raisonnée des probiotiques en parodontologie semble être très faible. Il conviendrait avant tout de standardiser les souches et les doses, ainsi que les cibles et les moyens d'évaluer leur efficacité.

Enfin avec la découverte des probiotiques génétiquement modifiés [46], toutes les pistes de recherche pour de futures applications, aussi bien préventives que curatives, restent ouvertes.

SIGLES ET ABREVIATIONS

Aa : *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

CSV : Composés sulfurés volatils

Ec : *Eikenella corrodens*

FAO/WHO : Food and Agriculture Organisation/World Health Organisation

Fn : *Fusobacterium nucleatum*

Pc : *Prevotella corporis*

Pg : *Porphyromonas gingivalis*

Pi : *Prevotella intermedia*

Pm : *Peptostreptococcus micros*

Pn : *Prevotella nigrescens*

LGG : *Lactobacillus rhamnosus GG*

Td : *Treponema denticola*

Tf : *Tannerella forsythia*

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURE 1 : Représentation des relations des espèces bactériennes au sein des complexes microbiens et entre les complexes (d'après Socransky 1998)

FIGURE 2 : Implications des différents pathogènes parodontaux (selon Teles et coll 2006)

FIGURE 3 : Flore des sillons sains et flore associée aux maladies parodontales et péri-implantaires (d'après Socransky et Haffajee 2005, Barsotti et Poulet 2006, Haffajee et coll 2006, et Teles et coll 2006)

FIGURE 4 : Antibiothérapie curative dans le traitement des maladies parodontales (d'après les recommandations de l'AFSSAPS juillet 2011) : R(recommandé) – (non recommandée) et SO (sans objet)

FIGURE 5 : Schémas d'administration préconisés chez l'adulte et l'enfant (d'après les recommandations de l'AFSSAPS juillet 2011)

FIGURE 6 : Evolution des définitions des probiotiques (d'après Teughels et coll 2008)

FIGURE 7 : Souches bactériennes les plus communément utilisées en tant que probiotiques (Brown et Valière 2004)

FIGURE 8: Activité anti-microbienne de lactobacilles oraux (salivaires et sous-gingivaux) exprimée en zone d'inhibition (mm) (d'après Köll et coll, 2008)

FIGURE 9: Susceptibilité aux antibiotiques des 22 souches lactobacilles salivaires et sous-gingivales testées (d'après Köll et coll, 2008)

FIGURE 10 : Comparaison des compositions de la microflore orale de patient sain et de patient atteint de parodontite

FIGURE 11 : Activité antimicrobienne des lactobacilles oraux de patients sains et de patients atteints de parodontite, exprimée en zones d'inhibition en mm

FIGURE 12 : Indice gingival (en %) à J 0 (haut) et J 14 (d'après Krasse et al 2006)

FIGURE 13 : Indice de plaque (%) dans le (diagramme bas)groupe LR1 (diagramme du haut), groupe LR2 (diagramme du milieu) et groupe placebo (diagramme du bas) (d'après Krasse et al 2006)

FIGURE 14 : Nombre total de Lactobacilles et de *L.reuteri* dans les échantillons salivaires, valeurs moyennes par ml de salive (d'après Krasse et al 2006)

FIGURE 15 : Effet du traitement avec les pastilles contenant *L.brevis* sur les paramètres de laboratoire des patients atteints de parodontite (d'après Riccia et al 2007)

FIGURE 16 : Changements des taux salivaires de lactoferrine chez tous les patients, chez les fumeurs, et chez les non-fumeurs (d'après Shimauchi et al 2008)

FIGURE 17 : Changements au niveau des paramètres cliniques (d'après Shimauchi et al 2008)

FIGURE 18 : Changements des paramètres cliniques chez les sujets de l'étude : tous les patients (ligne 1), fumeurs (ligne 2) et les non-fumeurs (ligne 3) (d'après Shimauchi et al 2008)

FIGURE 19 : Nombre de bactéries totales au niveau de la plaque supra-gingivale et sous-gingivale (d'après Mayanagi et al 2009)

FIGURE 20 : Nombre des 5 bactéries parodontopathogènes présentes au niveau sous-gingival et supra-gingival (d'après Mayanagi et al 2009)

FIGURE 21 : Changements dans le nombre total des 5 bactéries sélectionnées au niveau de la plaque supra-gingivale, durant les 8 semaines (d'après Mayanagi et al 2009)

FIGURE 22 : Changements dans le nombre total des 5 bactéries sélectionnées au niveau de la plaque sous-gingivale, durant les 8 semaines (d'après Mayanagi et al 2009)

FIGURE 23 : Analyse de l'amélioration du nombre des espèces de la plaque sous-gingivale entre le groupe test et le groupe témoin (OR=odds ratio, CI=confidence interval) (d'après Mayanagi et al 2009)

FIGURE 24 : Activité antimicrobienne du yaourt frais, du yaourt traité par la chaleur et de la chlorhexidine à 0.2% sur les bactéries orales (d'après Zhu et al 2010)

FIGURE 25 : Différences entre la thérapeutique de remplacement et la thérapeutique à base de probiotiques (d'après Teughels et al 2001?)

FIGURE 26 : Information nutritive de GUM[®] Périobalance[™]

FIGURE 27 : Recommandations pour les recherches futures (d'après Meurman et Stamatova 2007)

BIBLIOGRAPHIE

1- AFSSAPS

Prescription des antibiotiques en pratique bucco-dentaire. Juillet 2011.

[http://www.afssaps.fr/Dossiers-thematiques/Antibiotiques/Odonto-Stomatologie/\(offset\)/Dossiers-thematiques/Antibiotiques/Odonto-Stomatologie/\(offset\)/6](http://www.afssaps.fr/Dossiers-thematiques/Antibiotiques/Odonto-Stomatologie/(offset)/Dossiers-thematiques/Antibiotiques/Odonto-Stomatologie/(offset)/6)

2- BAEHNI PC et GIOVANNOLI JL.

Patient profile and decision making in periodontal practice.

Periodontol 2000 2004;**36**:27-34.

3- BAEHNI PC et GUGGENHEIM B.

Potential of diagnostic microbiology for treatment and prognosis of dental caries and periodontal diseases.

Crit Rev Oral Biol Med 1996;**7**(3):259-277.

4- BAEHNI P, THILO B, CHAPUIS B et PERNET D.

Effects of ultrasonic and sonic scalers on dental plaque microflora in vitro and in vivo.

J Clin Periodontol 1992;**19**(7):455-459.

5- BARSOTTI O et POULET PP.

Les maladies parodontales.

In : CHARDIN H, BARSOTTI O, BONNAURE-MALLET M, ed. Microbiologie en odontostomatologie.

Paris : Maloine, 2006:256-278.

6- BIRKEDAL-HANSEN H.

Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases.

J Clin Periodontol 1993;**64**(5):474-484.

7- BONIFAIT L, CHANDAD F et GRENIER D.

Probiotics for oral health : myth or reality ?

J Can Dent Assoc 2009;**75**(8):585-590.

8- BURTON JP, CHILCOTT CN, MOORE CJ et coll.

A preliminary study of the effect of probiotic *Streptococcus salivarius* K12 on oral malodour parameters.

J Appl Microbiol 2006;**100**(4):754-764.

9- BROWN AC et VALIERE A.

Probiotics and medical nutrition therapy.

Nutr Clin Care 2004;**7**(2):56-68.

10- CAGLAR E, KARGUL B et TANBOGA I.

Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health.

Oral Dis 2005;**11**(3):131-137.

11- CAGLAR E, TOPCUOGLU N, CILDIR SK et coll.

Oral colonization by *Lactobacillus reuteri* ATCC55730 after exposure to probiotics.

Int J Paediatric Dent 2009;**19**:377-381.

12- CHARDIN H, BARSOTTI O et BONNAUNE-MALLET M.

Microbiologie en odonto-stomatologie.

Paris:Maloine, 2006.

13- DANSER MM, TIMMERMAN MF, VAN WILKELHOFF AJ et VAN DER VELDEN U.

The effect of periodontal treatment on periodontal bacteria on the oral mucous membranes.

J Periodontol 1996;**67**(21):478-485.

14- DARBY IB, HODGE PJ, RIGGIO MP et KINANE DF.

Clinical and microbiological effect of scaling and root planning in smoker and nonsmoker chronic and aggressive periodontitis patients.

J Clin Periodontol 2005;**32**(2):200-206.

15- ERICKSON KL et HUBBARD NE.

Probiotic Immunomodulation in Health and Disease.

J Nutr 2000;**130**(2S suppl):403S-409S.

16- FAO/WHO.

Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Working Group Report.

London Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002.

17- FERES M, HAFFAJEE AD, ALLARD K et coll.

Change in subgingival microbial profiles in adult periodontitis subjects receiving either systematically-administred amoxicillin or metronidazole.

J Clin Periodontol 2001;**28**(7):597-609.

18- FERES M, HAFFAJEE AD, GONCALVES C et coll.

Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections. Effect on the subgingival microbiota.

J Clin Periodontol 1999;**26**:775-783.

19- GIBSON GR et ROBERFROID MB.

Dietary modulation of the human colonic microbiota : introducing the concept of prebiotics.

J Nutr 1995;**125**:1401-1412.

20- GORDON J, WALKER C, LAMSTER I et coll.

Efficacy of clindamycin hydrochloride in refractory periodontitis : 12-months results.

J Periodontol 1985;**56**(suppl):75-80.

21- GUEIMONDE M et SALMINEN S.

New methods for selecting and evaluating probiotics.

Digest Liver Dis 2006;**38**(Suppl.2):S242-S247.

22- HAFFAJEE AD, CUGINI MA, DIBART S et coll

The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases.

J Clin Periodontol 1997;**24**(5):324-334.

23- HAFFAJEE AD, TELES RP et SOCRANSKY SS.

The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota.

Periodontol 2000 2006;**42**:219-258.

24- HAUKIOJA A, YLI-KNUUTTILA H, LOIMARANTA V et coll.

Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria in vitro.

Oral Microbiol Immunol 2006;**21**:326-332.

25- HEDBERG M, KARCHED M, ASIKAINEN SEA, Oral Microbiology, Umea University, Umea Swenden

In vitro growth inhibition of periodontitis-associated species by *Lactobacillus reuteri*

Anaerobe.Boise, Idaho, USA,2006.

26- HILLMAN JD, BROOKS TA, MICHALEK SM et coll.

Construction and characterization of an effector strain of *Streptococcus mutans* for replacement therapy of dental caries.

Infect Immun 2000;**68**(2):543-549.

27- HOJO K, MIZOGUCHI C, TAKETOMO N et coll.

Distribution of salivary *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in periodontal health and disease.

Biosci Biotechnol Biochem 2007;**71**(1):152-157.

28- ISHIKAWA H, AIBA Y, NAKANISHI M et coll.

Suppression of periodontal pathogenic bacteria in the saliva of humans by the administration of *Lactobacillus salivarius* TI2711.

J Japan Assoc Periodontol 2003;**45**(0):105-112.

29- KANG MS, KIM B-G, CHUNG J et coll.

Inhibitory effect of *Weissella cibaria* on the production of volatile sulphur compounds.

J Clin Periodontol 2006;**33**(3):226-232.

30- KOLL-KLAIS P, MÄNDAR R, LEIBUR E et coll.

Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health : species composition and antimicrobial activity.

Oral Microbiol Immunol 2005;**20**(6):354-361.

31- KOLL-KLAIS P, MÄNDAR R, MARCOTTE H et coll.

Characterization of oral lactobacilli as potential probiotics for oral health.

Oral Microbiol Immunol 2008;**23**:139-147.

32- KOMINE K, KUROISHI T et coll.

Cleaved inflammatory lactoferrin peptides in parotid saliva of periodontitis patients.

Mol Immunol 2007;**44**(7):1498-1508.

33- KRASSE P, CARLSSON B, DAHL C et coll.

Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*.

Swed Dent J 2005;**30**(2):55-60.

34- Laboratoire Sunstar France

GUM®Periobalance™

Brochure + cd-rom de presentation du GUM periobalance

35- LARSEN T.

Susceptibility of *Porphyromonas gingivalis* in biofilms to amoxicilline, doxycycline and metronidazole.

Oral Microbiol Immunol 2002;**17**(5):267-271.

36- LEVY RM, GIANNOBILE WV, FERES M et coll.

The effect of apically repositioned flap surgery on clinical parameters and the composition of the subgingival microbiota : 12-month data.

Int J Periodont Rest Dent 2002;**22**(3):209-219.

37- LINDHE J.

Treatment of localized juvenile periodontitis.

In : Genco RJ, Mergenhagen SE, editors. Host-parasite interactions in Periodontal Disease. Washington, DC.

Am Soc Microbiol, 1981;382-394.

38- LINDHE J, LILJENBERG B, ADIELSON B et BORJESSON I.

Use of metronidazole as a probe in the study of human periodontal disease.

J Clin Periodontol 1983;**10**(1):100-112.

39- LOPEZ NJ, HAFFAJEE AD, DA SILVA I et coll.

Effects of metronidazole plus amoxicillin as the only therapy on the microbiological and clinical parameters of untreated chronic periodontitis.

J Clin Periodontol 2006;**33**:648-660.

40- LUQUET FM et CORRIEU G.

Bactéries lactiques et probiotiques.

Paris:Lavoisier, 2005.

41- MAGNUSSON I, CLARK WB, LOW SB et coll.

Effect of non-surgical periodontal therapy combined with adjunctive antibiotics in subjects with “refractory” periodontal disease.

J Clin Periodontol 1989;**16**(10):647-653.

42- MAGNUSSON I, LINDHE J, YONEYAMA T et LILJENBERG B.

Recolonization of a subgingival microbiota following scaling in deep pockets.

J Clin Periodontol 1984;**11**(3):193-207.

43- MARSH P et MARTIN MV.

Oral Microbiology. 4th Ed.

Oxford: Wright, 1999.

44- MARTEAU P.

Probiotics, prebiotics, synbiotics : ecological treatment for inflammatory bowel disease?

Gut 2006;**55**(12):1692-1693.

45- MAYANAGI G, KIMURA M, NAKAYA S et coll.

Probiotic effects of orally administered Lactobacillus salivarius WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: a double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial.

J Clin Periodontol 2009;**36**(6):506-513.

46- MEURMAN JH et STAMATOVA I.

Probiotics: contributions to oral health.

Oral Dis 2007;**13**(5):443-451.

47- NACKAERTS O, JACOBS R, QUIRYNEN M et coll.

Replacement therapy for periodontitis : pilot radiographic evaluation in a dog model.

J Clin Periodontol 2008;**35**(12):1048-1052.

48- NIKAWA H, MAKIHIRA S, FUKUSHIMA H et coll.

Lactobacillus reuteri in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci.

Int J Food Microbiol 2004;**95**(2):219-223.

49- NOVAK MJ, POLSON AM et ADAIR SM.

Tetracycline therapy in patients with early juvenile periodontitis.

J Periodontol 1988;**59**(6):366-372.

50- OHTA Y, OKUDA K et TAKAZOE I.

Microbiological and clinical effects of systemic antibiotic administration in advanced periodontitis.

Bull Tokyo Dent Coll 1986;**27**:139-148.

51- PARVEZ S, MALIK KA, KANG AH et coll.

Probiotics and their fermented food products are beneficial for health.

J Appl Microbiol 2006;**100**:1171-1185.

52- QUIRYNEN M, DE SOETE M, DIERICKX K et VAN STEENBERGHE D.

The intra-oral translocation of periodontopathogens jeopardises the outcome of periodontal therapy. A review of the literature.

J Clin Periodontol 2001;**28**(6):499-507.

53- REID G, JASS J, SEBULSKY T et coll.

Potential Uses of Probiotics in Clinical Practice.

Clin Microbiol Rev 2003;**16**(4):658-672.

54- RENVERT S, WIKSTRÖM M, DAHLEN G et coll.

Effect of root debridement on the elimination of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* from periodontal pockets.

J Clin Periodontol 1990;**17**(6):345-350.

55- RICCIA DN, BIZZINI F, PERILLI MG et coll.

Anti-inflammatory effects of *Lactobacillus brevis* (CD2) on periodontal disease.

Oral Dis 2007;**13**(4):376-385.

56- ROBERTS FA et DARVEAU RP.

Beneficial bacteria of the periodontium.

Periodontol 2000 2002;**30**:40-50.

57- ROONEY J, WADE WG, SPRAGUE SV et coll.

Adjunctive effects to nonsurgical periodontal therapy of systemic metronidazole and amoxicillin alone and combined. A placebo-controlled study.

J Clin Periodontol 2002;**29**(4):342-350.

58- RUDNEY JD, CHEU R et SEDGEWICK GJ.

Intracellular *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in buccal epithelial cells collected from human subjects.

Infect Immun 2001;**69**(4):2700-2707.

59- SBORDONE L, RAMAGLIA L, GULLETTA E et coll

Recolonization of the subgingival microflora after scaling and root planing in human periodontitis.

J Periodontol 1990;**61**(9):579-584.

60- SHILOAH J et PATTERS MR.

DNA probe analyses of the survival of selected periodontal pathogens following scaling, root planning, and intra-pocket irrigation.

J Periodontol 1994;**65**(6):568-575.

61- SHIMAUCHI H, MAYANAGI G, NAKAYA S et coll.

Improvement of periodontal condition with *Lactobacillus salivarius* WB21: a randomized, double-blind, placebo-controlled study.

J Clin Periodontol 2008;**35**(10):897-905.

62- SIXOU M.

Prescrire en odontologie. Collection JPIO.

Rueil-Malmaison:CdP, 2005.

63- SLOTS J, MASHIMO P, LEVINE MJ et GENCO RJ.

Periodontal therapy in humans. Microbiological and clinical effects of a single course of periodontal scaling and root planning and of adjunctive tetracycline therapy.

J Periodontol 1979;**50**(10):495-509.

64- SLOTS J et ROSLING BJ.

Suppression of the periodontopathic microflora in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline.

J Clin Periodontol 1983;**10**(5):465-486.

65- SMITH SR, FOYLE DM, DANIELS J et coll.

A double-blind, placebo-controlled trial of azithromycin as an adjunct to non-surgical treatment of periodontitis in adults : clinical results.

J Clin Periodontol 2002;**29**(1):54-61.

66- SOCIETE FRANCAISE DE MICROBIOLOGIE.

Communiqué de l'antibiogramme de la Société Française de microbiologie.

<http://www.sfm.asso.fr/mouv/general.php?pa=2>.

67- SOCRANSKY SS et HAFFAJEE AD.

The bacterial etiology of destructive periodontal disease : current concepts.

J Periodontol 1992;**63**:322-331.

68- SOCRANSKY SS et HAFFAJEE AD.

Periodontol microbial ecology.

Periodontol 2000 2005;**38**:135-187.

69- SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD, CUGINI MA et coll.

Microbial complexes in subgingival plaque.

J Clin Periodontol 1998;**25**(2):134-144.

70- SOOKKHEE S, CHULASIRI M et PRACHYABRUED.

Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens.

J Appl Microbiol 2001;**90**(2):172-179.

71- STAAB B, EICK S, KNÖFLER G, JENTSCH H et coll.

The influence of a probiotic milk drink on the development of gingivitis: a pilot study.

J Clin Periodontol 2009;**36**(10):850-856.

72- STAMATOVA I et MEURMAN JH.

Probiotics and periodontal disease.

Periodontol 2000 2009a;**51**:141-151.

73- STAMATOVA I et MEURMAN JH.

Probiotics: health benefits in the mouth.

Am J Dent 2009b;**22**(6):329-338.

74- STEWART P.

Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms.

Int J Med Microbiol 2002;**292**:107-113.

75- TAKAMATSU N, YANO K, HE T et coll.

Effect of initial periodontal therapy on the frequency of detecting *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

J Periodontol 1999;**70**(6):574-580.

76- TALARICO TL, CASAS IA, CHUNG TC et DOBROGOSZ WJ.

Production and isolation of reuterin : a growth inhibitor produced by *Lactobacillus reuteri*.

Antimicrob Agents Chemother 1988;**32**(12):1854-1858.

77- TALARICO TL et DOBROGOSZ WJ.

Chemical Characterization of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus reuteri*.

Antimicrob Agents Chemother 1989;**33**(5):674-679.

78- TANNER ACR et GOODSON JM.

Sampling of microorganisms associated with periodontal disease.

Oral Microbiol Immunol 1986;**1**:15-20

79- TELES RP, HAFFAJEE AD et SOCRANSKY SS.

Microbiological goals of periodontal therapy.

Periodontol 2000 2006;**42**:180-218.

80- TEUGHELIS W, KINDER HAAKE S, SLIEPEN I et coll.

Bacteria Interfere with *A. actinomycetemcomitans* Colonization.

J Dent Res 2007;**86**:611-617.

81- TEUGHELIS W, LOOZEN G et QUIRYNEN M.

Do probiotics offer opportunities to manipulate the periodontal oral microbiota?

J Clin Periodontol 2011;**38**(suppl 11):159-177.

82- TEUGHELIS W, NEWMAN MG, COUCKE W et coll.

Guiding periodontal pocket recolonization: a proof of concept.

J Dent Res 2007;**86**(11):1078-1082.

83- TEUGHELIS W, VAN ESSCHE M, SLIEPEN I et coll.

Probiotics and oral healthcare.

Periodontol 2000 2008;**48**:111-147.

84- TSUBURA S, MIZUNUMA H, ISHIKAWA S et coll.

The effect of *Bacillus subtilis* mouth rinsing in patients with periodontitis.

Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009;**28**:1353-1356.

85- TUAN MC, NOWZARI H et SLOTS J.

Clinical and microbiologic study of periodontal surgery by means of apically positioned flaps with and without osseous recontouring.

Int J Periodont Rest Dent 2000;**20**(5): 468-475.

86- TWETMAN S, DERAWI B, KELLER M et coll.

Short-term effect of chewing gums containing probiotic *Lactobacillus reuteri* on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid.

Acta Odontol Scand 2009;**67**(1):19-24.

87- VAN HOOGMOED CG, GEERTSEMA-DOORNBUSCH GI, TEUGHEL W et coll.

Reduction of periodontal pathogens adhesion by antagonistic strains.

Oral Microbiol Immunol 2008;**23**(1):43-48.

88- VERNER C.

Utilisation des prélèvements bactériens lors de la prise en charge des maladies parodontales.

Thèse: 3^{ième} cycle Sci Odontol, Nantes, 2007.

89- WALKER CB, KARPINIA K et BAEHNI P.

Chemotherapeutics: antibiotics and other antimicrobials.

Periodontol 2000 2004;**36**:146-165.

90- WINKEL EG, VAN WINKELHOFF AJ, BARENDREGT DS et coll.

Clinical and microbial effects of initial periodontal therapy in conjunction with amoxicillin and clavulanic acid in patients with adult periodontitis. A randomised double-blind, placebo-controlled study.

J Clin Periodontol 1999;**26**(7):461-468.

91- WINKEL EG, VAN WINKELHOFF AJ, TIMMERMAN MF et coll.

Effects of metronidazole in patients with “refractory” periodontitis associated with *bacteroides forsythus*.

J Clin Periodontol 1997;**24**(8):573-579.

92- WINKEL EG, VAN WINKELHOFF AJ, TIMMERMAN MF et coll.

Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis. A double-blind placebo-controlled study.

J Clin Periodontol 2001;**28**(4):296-305.

93- YLI-KNUUTILA H, SNÄLL J, KARI K et coll.

Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity.

Oral Microbiol Immunol 2006;**21**(2):129-131.

94- ZAHRADNIK RT, MAGNUSSON I, WALKER C et coll.

Preliminary assessment of safety and effectiveness in humans of Probiora3™, a probiotic mouthwash.

J Appl Microbiol 2009;**107**(2):682-690.

95- ZHU Y, XIAO L, SHEN D et coll.

Competition between yogurt probiotics and periodontal pathogens in vitro.

Acta Odontol Scand 2010;**68**(5):261-268.

LUCAS Marion. Intérêt des probiotiques en parodontologie.

p, tabl, ill, 30 cm (Thèse : Chir dent ; Nantes ; 2012)

Résumé :

Les probiotiques sont des microorganismes vivants, principalement des bactéries qui, ingérés en quantité adéquate, exerceraient des effets bénéfiques sur la santé humaine. Leur efficacité semble être démontrée en gastro-entérologie et tout porte à croire qu'ils pourraient agir au niveau parodontal. Des études se sont penchées sur leur potentiel à rééquilibrer la flore parodontale. Les résultats de ces études semblent discutables sur plusieurs points : le panel peu représentatif des patients, le nombre limité de sujets et les instructions annexes sur l'hygiène buccale durant l'étude.

A ce jour, les probiotiques ne semblent pas être une alternative ou un adjuvant satisfaisant à notre thérapeutique.

Rubrique de classement : Parodontologie

Mots-clés : Parodontologie

Infection

Probiotiques

Thérapeutiques

Mots-clés MeSH : Parodontie-Periodontics

Probiotiques-Probiotics

Infection-Infection

Thérapeutiques-Therapeutic

Jury

Président : Monsieur le Professeur Assem SOUEIDAN

Assesseur : Monsieur le Docteur Gilles AMADOR DEL VALLE

Assesseur : Monsieur le Docteur Zahi BADRAN

Directeur : Monsieur le Docteur Christian VERNER