

UNIVERSITÉ DE NANTES

UNITÉ DE FORMATION ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

**EVOLUTION DE LA FLORE BACTERIENNE
AVANT ET APRES TRAITEMENT PARODONTAL :
ETUDE CLINIQUE**

Année : 2011

N°:

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE
DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

présentée

et soutenue publiquement par

Émilie ARNAULT

Née le 02 Mars 1984

Le jeudi 23 juin 2011 devant le jury ci-dessous

Président Monsieur le Professeur Assem SOUEIDAN

Assesseur Monsieur le Docteur Gilles AMADOR DEL VALLE

Assesseur Monsieur le Docteur Zahi BADRAN

Directeur de Thèse : Monsieur le Docteur Christian VERNER

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	6
1. PARODONTITES ET MICROBIOLOGIE	8
1.1 Rappel de microbiologie	8
1.1.1 Les bactéries	8
1.1.2 Formation du biofilm et maturation.....	8
1.1.3 Résistances microbiennes	9
1.2 Pathogénie des maladies parodontales	10
1.2.1 Mécanisme.....	10
1.2.2 Facteur bactérien	11
1.2.2.1 Critères de pathogénicité	11
1.2.2.2 Organisation des bactéries	12
1.2.2.3 Facteurs de virulence des parodontopathogènes	13
1.2.2.3.1 <i>Facteurs contrôlant la colonisation</i>	13
1.2.2.3.2 <i>Destruction tissulaire</i>	14
1.2.2.3.3 <i>Neutralisation des systèmes de défense de l'hôte</i>	14
1.2.3 La réponse inflammatoire de l'hôte.....	16
1.2.4 Facteurs de risque	16
1.2.4.1 Facteurs de risque locaux	16
1.2.4.2 Facteurs de risque généraux	17
• Facteur hormonal.....	17
• Le tabagisme.....	17
• Syndromes et maladies systémiques	17
• Diabète.....	18
• Déficits immunitaires	18
2. LES BACTERIES PARODONTOPATHOGENES.....	19
2.1 Caractéristiques de chaque bactérie	19
2.1.1 <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	19
2.1.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	20
2.1.3 <i>Tannerella forsythia</i> (Tf)	20
2.1.4 <i>Treponema denticola</i> (Td).....	21
2.1.5 Espèces du complexe orange.....	21
2.1.5.1 <i>Fusobacterium nucleatum</i> (Fn).....	22

2.1.5.2	Prevotella.....	22
2.1.5.3	Peptostreptococcus micros (Pm)	22
2.2	Les profils microbiens	22
2.3	Traitements spécifiques aux clusters.....	24
2.4	Profils bactériens spécifiques aux pays ?	26
3.	EFFETS DES THERAPIES PARODONTALES SUR LA FLORE BUCCALE SELON LA LITTERATURE	31
3.1	Objectifs de la thérapie.....	31
3.2	Le contrôle de plaque	31
3.3	Détartrage et surfaçage radiculaire (DSR)	32
3.4	Procédures chirurgicales	33
3.5	Les antibiotiques	34
3.5.1	Les bêta-lactamines (Sixou, 2005)	36
3.5.2	Les imidazolés (métronidazole)	36
3.5.3	Les macrolides (érythromycine, azithromycine, spiramycine, josamycine...)	37
3.5.4	Les macrolides apparentés.....	37
3.5.5	Les tétracyclines (doxycycline, tétracycline...)	37
3.5.6	Tétracyclines en délivrance locale.....	38
4.	LES TESTS BACTERIENS	40
4.1	Quels tests ?.....	40
4.1.1	La culture bactérienne	40
4.1.1.1	Principe.....	40
4.1.1.2	Avantages (ANAES, 2002)	41
4.1.1.3	Inconvénients (ANAES, 2002).....	41
4.1.1.4	Intérêts cliniques.....	41
4.1.2	Réaction de polymérisation en chaîne (PCR).....	41
4.1.3	La PCR en temps réel	42
4.1.3.1	Avantages (ANAES, 2002)	42
4.1.3.2	Inconvénients (ANAES, 2002).....	42
4.1.3.3	Intérêts cliniques.....	43
4.2	Justification des tests bactériens.....	43
4.2.1	Guider la thérapie parodontale	44
4.2.2	Adapter l'antibiothérapie à chaque cas: choix de la molécule	44
4.2.3	Eviter une antibiothérapie non justifiée.....	44
4.2.4	Permettre un traitement plus ciblé.....	45

4.2.5	Vérifier l'efficacité du traitement, prévenir les récives et permettre la reconstruction	45
4.3	A quels stades les utiliser ?	46
4.3.1	Phase de diagnostic	46
4.3.2	Phase de réévaluation et maintenance	46
4.3.3	Cas des parodontites réfractaires	46
4.3.4	Phase de restauration	46
4.4	Précautions d'interprétation	47
4.5	Conclusion	48
5.	ANALYSE BACTERIENNE DE LA FLORE PARODONTOPATHOGENE : ETUDE CLINIQUE	49
5.1	Introduction	49
5.2	Matériels et méthode	49
5.2.1	Patients et sites de prélèvements	49
5.2.2	Critères d'inclusion	50
5.2.3	Critères de non inclusion	50
5.2.4	Protocole clinique	50
5.2.5	Le laboratoire d'analyse	50
5.3	Résultats	51
5.3.1	Charge bactérienne totale	51
5.3.2	Pourcentage de parodontopathogènes totaux	52
5.3.3	Pourcentage de parodontopathogènes individuels	54
5.3.4	Etude du complexe rouge	56
5.3.5	Etude du complexe orange	58
5.3.6	Fréquence de présence des pathogènes individuellement	59
5.3.6.1	Complexe rouge	59
5.3.6.2	Complexe orange	59
5.3.6.3	Ensemble des pathogènes	60
5.3.7	Influence du sexe	61
5.3.8	Etude des profils bactériens	62
5.4	Discussion	63
5.4.1	Les biais de l'étude	63
5.4.1.1	Echantillon	63
5.4.1.2	Expérience	63
5.4.1.3	Technique d'échantillonnage	64
5.4.1.4	Traitement parodontal	64

5.4.1.5	Compliance du patient	64
5.4.2	Différence entre les opérateurs	64
5.4.3	Impact du traitement sur la flore bactérienne de la poche parodontale	65
5.4.4	Existence de profils bactériens	67
5.5	Conclusion.....	67

INTRODUCTION

Les maladies parodontales sont des maladies fréquentes chez l'adulte, et leur prévalence augmente avec l'âge. Selon l'étude épidémiologique menée en France en 2007 par Bouchard et Bourgeois, 95% des sujets montrent une perte d'attache clinique, et 82% présentent des poches parodontales. Selon la classification internationale des maladies parodontales, ces auteurs estiment qu'environ 50% des adultes en France souffriraient d'un problème de perte d'attache sévère. On estime que 70% des dents perdues le sont à cause de la parodontite, qui constitue donc la première cause de perte de dents chez l'adulte.

Les gingivites et parodontites sont des maladies inflammatoires d'origine infectieuse, en réponse à une agression bactérienne au niveau du sillon gingivo-dentaire, chez un hôte susceptible (Boutigny et Delcourt-Debruyne, 1996). Cette agression est déclenchée par la présence de bactéries, organisées en biofilm complexe, qui colonisent les régions sulculaires entre la surface dentaire et la gencive marginale. On assiste alors à des modifications structurales du sulcus, telles qu'une perte d'attache et la formation d'une 'poche' parodontale.

Cependant, l'unique présence des bactéries ne suffit pas à elle seule pour expliquer ces destructions. Il faut aussi prendre en compte la réponse de l'hôte face à l'agression bactérienne. En effet, la maladie se développe chez des sujets susceptibles, c'est-à-dire présentant une diminution de leurs défenses immunitaires. Ces défenses sont déterminées génétiquement, mais peuvent être modifiées par plusieurs paramètres (tabac, stress, maladies générales, chimiothérapie...).

Ainsi, la parodontite est une maladie infectieuse locale, mais qui peut avoir un retentissement sur l'état de santé général si le patient présente une déficience de son système immunitaire. Une maladie parodontale non traitée peut déséquilibrer un diabète ; ou encore est un facteur de risque de maladies athéromateuses. Il est donc important de bien traiter ces maladies.

Un bon traitement nécessite un bon diagnostic. Or, les signes cliniques des parodontites chroniques sont sensiblement les mêmes chez tous les sujets, à divers degrés : inflammation gingivale, saignement spontané ou provoqué, présence de poches parodontales, perte osseuse, halitose... mais tous ne sont pas retrouvés systématiquement.

Malgré cette apparente similitude, la flore microbienne des patients peut présenter de grandes différences. Il n'y a que les investigations microbiologiques pour nous permettre de détecter les bactéries pathogènes présentes.

C'est pourquoi les méthodes de diagnostic microbiologique ont un grand intérêt en parodontologie ; des progrès remarquables ont été réalisés dans ce domaine au cours des dernières années. Le but est de diagnostiquer la maladie le plus tôt possible, d'identifier et d'évaluer la quantité des pathogènes parodontaux pour mieux cibler la thérapeutique ; ou bien de traiter des patients répondant faiblement aux thérapies conventionnelles.

Il existe une grande variété d'examens complémentaires :

- les tests microbiologiques dont la culture bactérienne, les tests immunologiques, les tests enzymatiques, les sondes ADN ;

- les tests basés sur la réponse de l'hôte : mesures du volume du fluide gingival et de ses composants ;

- les tests génétiques.

Dans ce travail, nous nous concentrerons uniquement sur l'analyse de la flore par cultures bactériennes et sondes ADN.

Les objectifs de cette étude sont multiples :

- L'analyse de la composition de la flore bactérienne sous-gingivale à J0 ;
- L'analyse de la composition de la flore bactérienne sous-gingivale à J60 ;
- La comparaison entre les deux, et comparaison avec la littérature ;
- L'influence du traitement mécanique sur la flore bactérienne ;
- Peut-on mettre en évidence des profils types bactériens selon les patients ?
- Si oui, faudrait-il prévoir des traitements adaptés à la flore microbienne des patients ?

1. PARODONTITES ET MICROBIOLOGIE

1.1 Rappel de microbiologie

1.1.1 Les bactéries

Ce sont des micro-organismes procaryotes unicellulaires, capables de se multiplier dans un environnement adapté (Ferron,1994). Leur forme et leur taille diffèrent d'une espèce à l'autre. Elles sont de forme sphérique (cocci) ou bacillaire (fusiformes avec des extrémités effilées comme *Fusobacterium*), coccobacillaire, incurvée (*Campylobacter*), spiralée (*Treponema*), ou encore filamenteuse.

Elles mesurent en moyenne de 1 à 10µm (Barsotti,2006). Elles sont isolées ou en groupements caractéristiques (amas, chaînes...) selon leurs modes de division.

Les bactéries diffèrent aussi par leur mode respiratoire ; on trouve

- des bactéries aérobies strictes (besoin d'oxygène)
- des bactéries dites « facultatives » (se développent aussi bien en présence qu'en absence d'oxygène)
- des bactéries anaérobies strictes (ne se développent pas en présence d'oxygène).

Dans la nature, la plupart des bactéries forment des consortia appelés biofilms. Un biofilm est une communauté multicellulaire, plus ou moins symbiotique, de micro-organismes, adhérant entre eux et à une surface, et marquée par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice.

1.1.2 Formation du biofilm et maturation

La cavité buccale fonctionne comme un écosystème. Un écosystème est un ensemble dynamique d'organismes vivants qui interagissent entre eux et avec le milieu dans lequel ils vivent.

La dent fournit un habitat unique pour la colonisation des organismes, permettant le développement de biofilms très complexes. Après le brossage des dents, un film protéique fin se dépose sur l'émail : c'est la pellicule acquise exogène (PAE). Cette pellicule est non bactérienne, essentiellement formée de glycoprotéines. Elle fournit les structures nécessaires à l'adhérence des premières bactéries sur la surface des dents : c'est le premier stade de formation de la plaque dentaire. Les premières bactéries viennent se fixer sur la PAE. On les appelle les bactéries « pionnières ». Ce sont essentiellement des streptocoques, et plus particulièrement les streptocoques des groupes *mitis* et *oralis* (Loe et coll,1965).

Mais on trouve aussi des actinomycètes (*Actinomyces naeslundii*), en nombre plus faible, qui sont en compétition avec les streptocoques pour la colonisation primaire.

Ces bactéries pionnières possèdent à leur surface des adhésines qui reconnaissent spécifiquement des récepteurs de la PAE ; ainsi que des adhésines permettant à de nouveaux micro-organismes d'adhérer,

on parle de co-agrégation. Ces nouveaux micro-organismes sont appelés colonisateurs secondaires ou tardifs.

C'est par ce mécanisme que les micro-colonies se forment et que le biofilm se développe.

Au fur et à mesure que le nombre de couches augmente, de nouvelles conditions environnementales apparaissent, le taux d'oxygène diminue, car utilisé par certaines bactéries, ce qui favorise le développement de bactéries anaérobies.

La maturation de la plaque est accompagnée par des changements des espèces bactériennes prédominantes et une augmentation de la diversité bactérienne. Les streptocoques (gram positif) représentent 60 à 90% de la flore bactérienne initiale. Ils sont moins sensibles à l'exposition de l'air que la plupart des bactéries orales et participent à la modification de l'environnement en un état plus réduit, favorisant les espèces à Gram négatif. Après 7 jours d'accumulation de plaque, la proportion de ces espèces diminue, alors que celle des bacilles et espèces filamenteuses (*Fusobacterium*) augmente, avec l'apparition de spirochètes (Tinanoff et al, 1976).

Le biofilm dentaire se développe alors en épaisseur. S'il n'est pas éliminé, la communauté devient de plus en plus complexe (Listgarten, 1999). Après 2 à 3 semaines, le biofilm peut contenir jusqu'à 10^9 bactéries par mg de matière.

Cette maturation de plaque est permise grâce à des interactions établies entre les différents types de bactéries : interactions de coopération et d'antagonisme qui vont sélectionner la population des biofilms.

La connaissance de ces relations peut guider nos choix thérapeutiques.

1.1.3 Résistances microbiennes

L'inclusion dans un biofilm apporte de profonds changements aux micro-organismes par rapport à leurs homologues planctoniques. Ils forment une véritable communauté, avec la capacité à s'organiser elle-même et à résister aux perturbations environnementales (Caldwell et al, 1997). De nombreuses études ont montré que l'organisation des bactéries en biofilm augmentait leur résistance aux agents antimicrobiens par rapport aux bactéries isolées (Gilbert, 1997). Les bactéries co-adhérées sont plus résistantes à la phagocytose par les neutrophiles ; elles coopèrent les unes avec les autres et forment une barrière protectrice de polysaccharides.

De plus, il semble que l'efficacité des agents antimicrobiens diminue quand l'âge du biofilm augmente (Wilson, 1996) : les « vieux » biofilms de 72h de *S. sanguinis* sont plus résistants à la chlorhexidine que les plus jeunes (24h).

Les biofilms sont aussi plus résistants aux antibiotiques tels que l'amoxicilline, la doxycycline, le métronidazole (Sedlacek et Walker,2007), et cette résistance augmente aussi avec l'âge du biofilm. Il faut multiplier la concentration d'antibiotique par environ 500 pour tuer des organismes en biofilm par rapport aux bactéries planctoniques (Sedlacek et Walker,2007).

Les raisons de telles différences sont liées aux propriétés de la communauté et aux changements bactériens qu'elles induisent. La matrice entourant les bactéries entrave la pénétration des agents

chimiothérapeutiques par des interactions électrostatiques ou ioniques. La forte concentration d'enzymes libérée par les bactéries (comme les bêta-lactamases) ainsi que la coopération positive entre les espèces participent aussi à ces mécanismes d'inhibition.

Par ailleurs, la croissance de la flore bactérienne dans le biofilm est très lente. Ce fait peut aussi expliquer le manque de susceptibilité aux agents antimicrobiens, qui sont bien connus pour être efficaces sur des cellules à réplication active.

Mais une autre composante participe fortement au phénomène de résistance microbienne aujourd'hui dans le monde : il s'agit de l'utilisation inappropriée et non justifiée des antibiotiques.

Le niveau de résistance des bactéries parodontales envers les bêta-lactamines, métronidazole, clindamycine et tétracycline, est significativement plus élevé chez les sujets espagnols que chez les néerlandais (Van Winkelhoff, 2000). Cela est en relation avec la consommation d'antibiotiques du pays. En effet, les Pays-bas sont le pays avec la plus faible consommation d'antibiotique, tandis que l'Espagne et la France sont ceux qui ont la plus forte consommation.

Nous reviendrons sur ces différences ultérieurement.

1.2 Pathogénie des maladies parodontales

1.2.1 Mécanisme

La cavité buccale est riche de plus de 500 genres et espèces bactériennes différentes identifiés, qui établissent entre elles des relations de coopération et d'antagonisme (Barsotti, 2006).

Ces bactéries constituent une flore commensale qui entretient des relations stables avec l'hôte, sans conséquences pathologiques. On dit de cette flore qu'elle est compatible avec l'état de santé parodontal (Mouton, 1994). L'état sain du parodonte est basé sur cet équilibre hôte-bactéries.

Mais l'interaction hôte-bactéries au niveau buccal est dynamique. Lorsqu'il y a un déséquilibre de cette relation avec une bactérie commensale, ayant pour conséquence la prédominance d'une population bactérienne, la bactérie est dite « opportuniste » et elle déclenche une pathologie. Il s'agit alors d'une infection endogène (Van Winkelhoff et Winkel, 2005). Il peut aussi s'agir du développement d'une bactérie pathogène spécifique (comme *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*). On parle alors d'infection exogène.

La rupture de l'équilibre peut être due à une diminution des défenses immunitaires de l'hôte (locales ou générales), ou à un apport nutritionnel exogène important favorisant une espèce par rapport aux autres, ou encore un défaut d'hygiène orale.

L'induction de la pathologie n'est pas le seul fait du micro-organisme, mais cela suppose une interaction entre ce dernier et l'hôte, qui dépend de beaucoup de facteurs extrinsèques de l'environnement. L'absence de susceptibilité de l'hôte peut transformer une bactérie potentiellement pathogène en non-pathogène (Holt, 2005).

Ainsi, 3 conditions doivent être réunies pour déclencher la maladie; il faut :

- des micro-organismes capables de coloniser et d'être pathogènes
- une susceptibilité de l'hôte/environnement favorable
- l'absence d'espèces bactériennes bénéfiques voire protectrices de la santé parodontale (Socransky et Haffajee,2005).

1.2.2 Facteur bactérien

L'origine infectieuse des maladies parodontales ne fait actuellement plus aucun doute, et on peut affirmer que ce sont des infections polymicrobiennes.

Les bactéries peuvent causer des dommages tissulaires, soit directement, en élaborant des substances toxiques pour les tissus, soit indirectement, en activant les mécanismes inflammatoires et immunitaires de l'hôte (Genco, 1992).

La présence des bactéries ne suffit pas à elle seule à induire une destruction des tissus parodontaux ; c'est une condition nécessaire mais non suffisante. Elles doivent également présenter certains critères de pathogénicité.

1.2.2.1 Critères de pathogénicité

A l'origine, les postulats de Koch définissant les critères de pathogénicité des bactéries déclenchant des maladies infectieuses se basent sur la capacité du microbe à tuer son hôte, leur pouvoir pathogène étant défini comme inversement proportionnelle au nombre de micro-organismes causant l'infection (Holt, 2005).

Or, le déclenchement des parodontopathies fait intervenir le nombre important et la nature des espèces bactériennes colonisant, ainsi que l'environnement, c'est-à-dire l'hôte lui-même. C'est pourquoi, les postulats de Koch ne pouvaient s'appliquer à ce type de pathologies.

Socransky et Haffajee (1992) les ont modifiés pour les appliquer aux parodontopathies.

Ainsi, les germes responsables doivent répondre à ces critères :

- Association : les agents étiologiques les plus probables sont les bactéries retrouvées en grande quantité dans une majorité de sites atteints, et absentes ou présentes en faible quantité dans les sites sains.
- L'éradication de l'agent étiologique suspecté s'accompagne d'une rémission des signes cliniques.
- L'agent étiologique suspecté doit pouvoir recréer la lésion sur modèle animal.
- La réponse cellulaire ou humorale de l'hôte à l'agent étiologique suspecté doit être augmentée ou diminuée.
- L'agent étiologique suspecté doit posséder une capacité à détruire les tissus.

1.2.2.2 Organisation des bactéries

Comme nous l'avons vu précédemment, les biofilms présentent une organisation complexe, et les relations interbactériennes ne sont pas le fruit du hasard.

Les associations d'espèces sont dictées par les pressions sélectives de l'habitat, tels que la disponibilité des nutriments, les récepteurs pour l'adhésion initiale, les mécanismes de protection contre l'hôte et les autres espèces bactériennes...

Socransky et Haffajee, dans leur étude de 1998, ont montré que les espèces bactériennes impliquées dans les pathologies parodontales pouvaient être regroupées en complexes.

Cinq complexes majeurs sont décrits:

- Complexe violet : *Actinomyces odontolyticus*, *Veillonella parvula* ;
- Complexe jaune : espèces *Streptococcus* (*S. sanguis*, *S. oralis*, *S. mitis*, *S. gordonii*, *S. intermedius*) ;
- Complexe vert : *Capnocytophaga spp*, *Campylobacter concisus*, *Eikenella corrodens*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sérotype a ;
- Complexe orange : *Fusobacterium spp*, *Prevotella spp*, *Peptostreptococcus micros*, *Campylobacter spp*, *Eubacterium nodatum*;
- Complexe rouge : *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Tannerella forsythia* (*Tf*), et *Treponema denticola* (*Td*).

En dehors de ces complexes, on peut trouver *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sérotype b, *Selenomonas noxia*, et *Actinomyces naeslundii*, qui ont de faibles relations entre eux et avec les cinq autres complexes.

Les complexes jaune et violet sont les premiers colonisants.

Le complexe vert existe dans le milieu du biofilm.

Les complexes jaune et vert montrent une relation faible avec les complexes rouge et orange.

Les espèces du complexe orange expriment des protéines de surface leur permettant de se lier aux premiers colonisants et aux membres du complexe rouge, comme par exemple *Fusobacterium nucleatum*. Les fusobactéries représentent un pont de co-agrégation majeur entre les colonisants pionniers et tardifs (Kolenbrander, 1985). Les espèces du complexe orange utilisent et libèrent des substances nutritives dans le biofilm.

Le complexe rouge est considéré comme le plus pathogène du fait que ses membres augmentent en nombre et en prévalence avec l'augmentation des paramètres cliniques de la maladie (ils sont très présents dans les poches parodontales profondes et saignant au sondage).

Cliniquement, les complexes jaune et vert sont associés à des poches peu profondes (inférieures à 3mm) ; alors que les complexes orange et rouge sont liés à des indices parodontaux élevés et des lésions plus avancées.

Pg, *Td*, *Tf* sont détectés dans les poches supérieures à 4mm et dans les sites saignant au sondage (Sbordone, 2003).

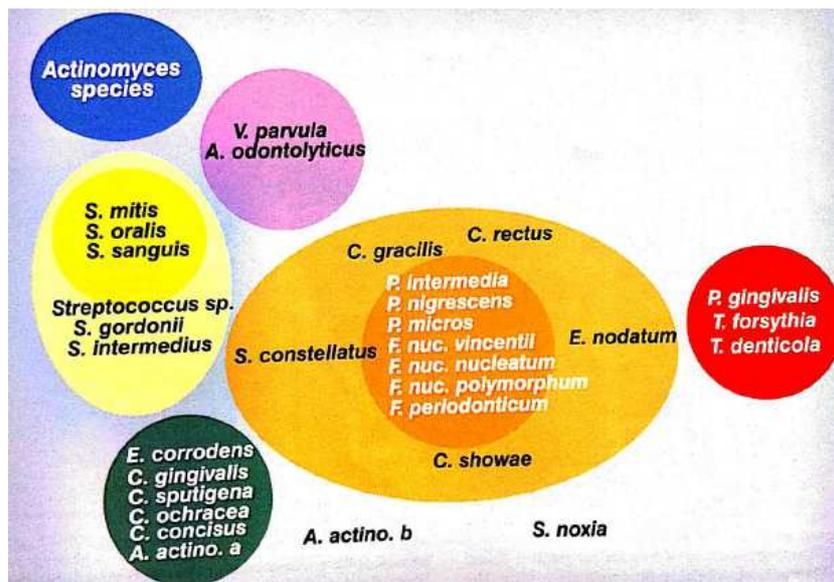


Fig 1.1 Les complexes bactériens de la plaque de Socransky et al. (1998)

1.2.2.3 Facteurs de virulence des parodontopathogènes

La virulence est la capacité d'un organisme à causer la maladie ou à interférer avec la fonction métabolique ou physiologique de l'hôte (Holt, 2005).

Les multiples facteurs de virulence des bactéries à potentiel pathogène peuvent être répartis en trois catégories : ceux assurant la colonisation de l'espace parodontal de l'hôte, où l'adhérence joue un rôle déterminant ; ceux intervenant dans le processus de destruction tissulaire ; et ceux participant à la neutralisation des défenses immunitaires de l'hôte (Dufour et al, 2005).

1.2.2.3.1 Facteurs contrôlant la colonisation

Pour qu'une bactérie colonise l'espace sous-gingival, elle doit être capable :

- De se fixer à une surface disponible : le rôle de structures comme les fimbriae ou la capsule, ou encore des adhésines est primordial. La plupart des bactéries parodontopathogènes possèdent à leur surface des adhésines requises pour reconnaître les substrats tels que : cellules épithéliales, fibroblastes, leucocytes, membrane basale du tissu conjonctif....

Les fimbriae permettent aussi la coagrégation bactérienne qui explique l'extrême diversité microbienne de la plaque dentaire.

- De s'y multiplier : les bactéries doivent se procurer les nutriments nécessaires à leur survie et à leur multiplication, qui proviennent en grande partie des tissus de l'hôte (par exemple le collagène du tissu conjonctif), et du fluide gingival.

Pour cela, elles possèdent un équipement enzymatique en protéases très efficace.

- De vaincre la compétition des autres espèces voulant s'établir dans le même habitat grâce aux bactériocines.

Ce sont des protéines synthétisées par le micro-organisme qui possèdent des propriétés soit bactéricides (c'est-à-dire éliminer certains micro-organismes) soit bactériostatiques (inhiber la croissance de certains micro-organismes).

1.2.2.3.2 Destruction tissulaire

Les bactéries à potentiel pathogène accumulées dans la poche peuvent entraîner une lyse tissulaire du parodonte directement ou indirectement, par plusieurs mécanismes.

- Directement, par
 - Libération d'enzymes lytiques

On parle de protéases quand elles sont non spécifiques, et protéinases quand elles le sont. Citons par exemple la collagénase et les analogues de la trypsine qui dégradent les protéines du tissu conjonctif. On trouve aussi des phospholipases, phosphatases acides et alcalines, hyaluronidases actives sur la substance intercellulaire....

-Libération de cytotoxines

Les bactéries sécrètent des acides butyriques et propioniques, ammoniacque et composés sulfurés volatils qui sont directement toxiques pour les cellules de l'hôte.

- Indirectement
 - Facteurs entraînant la lyse tissulaire

Le lipopolysaccharide (LPS) a la capacité d'induire chez les macrophages, et accessoirement chez les fibroblastes, la production d'enzymes lytiques ; ces enzymes appartiennent à la famille des métalloprotéinases matricielles (MMP) qui dégradent les constituants de la matrice extracellulaire.

- Stimulation des médiateurs de l'inflammation

De nombreux antigènes bactériens induisent la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1,IL-6,IL-8, TNF α) par les lymphocytes et macrophages. Puis, les cytokines vont activer les mécanismes de dégradation tissulaire (MMP, phagocytose, résorption ostéoclastique). Ces molécules pro-inflammatoires sont également induites par l'exposition au LPS.

- Pénétration des bactéries dans les tissus parodontaux

La pénétration de deux espèces bactériennes dans les tissus parodontaux de l'hôte a été démontrée, il s'agit de *Aa* et *Pg* (Holt,2005 ;Fives-Taylor,1999).

1.2.2.3.3 Neutralisation des systèmes de défense de l'hôte

Les bactéries parodontopathogènes disposent de moyens leur permettant de contourner les barrières de protection et systèmes de défense locale de l'hôte infecté (Page, 1997).

- La capsule

Elle entoure les bactéries à Gram négatif et les protège de la phagocytose exercée par les monocytes et macrophages. Elle sert aussi de barrière de perméabilité contre les ions métalliques toxiques.

- Blocage des PNN

Certaines bactéries produisent une catalase ou une superoxyde dismutase qui inactive le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et les anions superoxydes des neutrophiles. Elles peuvent ainsi échapper à la bactériolyse.

- Leucotoxines

Certaines bactéries synthétisent des leucotoxines qui agissent, à forte concentration, sur les cellules cibles en formant des pores dans la membrane cytoplasmique, menant ainsi à une lyse osmotique de la cellule. A faible concentration, elles inhibent la formation des anticorps et provoquent des réactions inflammatoires. Celles synthétisées par *Aa* sont particulièrement actives sur les neutrophiles, mais aussi sur les lymphocytes B et T.

Leur présence semble conférer une virulence plus importante à la bactérie (Dufour, 2005).

- Les protéases

Il existe deux types de protéases retrouvées chez les bactéries parodontopathogènes : les protéases spécifiques des immunoglobulines et les protéases dégradant le complément.

Porphyromonas gingivalis, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas melaninogenica*, et *Capnocytophaga spp* possèdent des protéases dirigées spécifiquement contre les immunoglobulines (Ig) A et IgG. Ces protéases vont hydrolyser les immunoglobulines en peptides permettant à la bactérie de les utiliser comme nutriments.

D'autres protéases (également retrouvées chez *Pg*) ont la capacité d'inactiver le complément amené sur place par le fluide gingival (Mouton, 1990).

La figure 1.4 résume le mécanisme de pathogénicité des maladies parodontales :

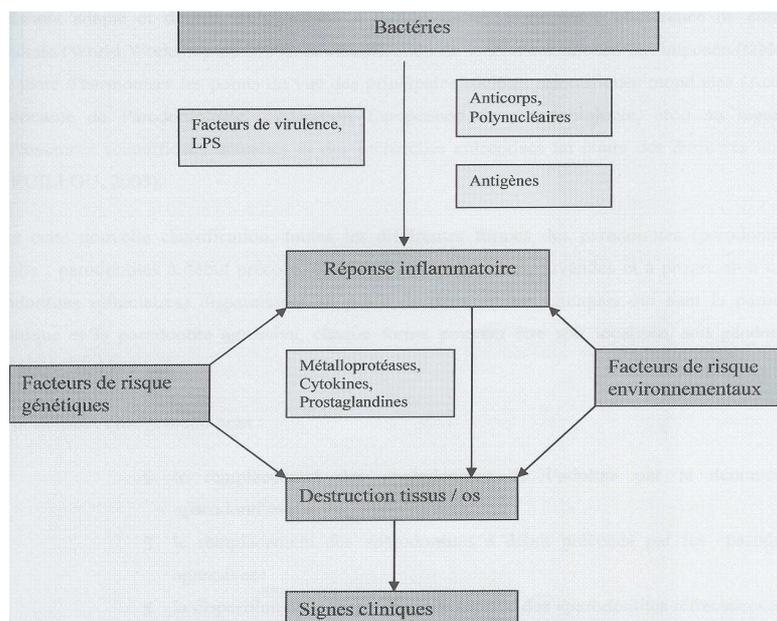


Fig 1.2 Mécanismes de pathogénicité des maladies parodontales (d'après Page,1997)

1.2.3 La réponse inflammatoire de l'hôte

Face à l'agression bactérienne, la réaction de l'organisme, sous le contrôle du système immunitaire, détermine l'évolution de la maladie :

- soit une guérison, les défenses immunitaires sont alors des facteurs de protection ;
- soit une progression de la maladie, les défenses immunitaires sont alors des facteurs de destruction. Ce sont des facteurs extrinsèques qui aggravent la maladie (Deo, 2010).

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 comme conséquence le relargage de cytokines par les lymphocytes et macrophages attirés sur place (Chardin, 2006). Les cytokines les plus actives sont l'interleukine-1 (IL-1) et le facteur de nécrose des tumeurs (TNF α). Ces cytokines peuvent activer une ou plusieurs voies de dégradation (métalloprotéases matricielles, résorption osseuse ostéoclastique...)

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 (Birkedal-Hansen, 1993).

L'interleukine-1 stimule la production de prostaglandines, en particulier la prostaglandine-E, un puissant médiateur de résorption osseuse (Roberts et al, 1997).

L'augmentation du nombre de bactéries entraîne une augmentation de l'inflammation avec des réponses de l'hôte non contrôlées, qui participent ainsi à la destruction des tissus parodontaux. Les pathogènes parodontaux initient les réponses inflammatoires de l'hôte qui entraînent la résorption des tissus de support des dents.

1.2.4 Facteurs de risque

Bien qu'ils jouent un rôle secondaire dans l'étiologie, il existe des facteurs locaux et généraux, qui peuvent moduler la pathogenèse de la maladie parodontale.

En effet, la réponse inflammatoire des tissus parodontaux est influencée par les facteurs environnementaux autant que par les facteurs génétiques (Kinane, 2006 ; Takashiba, 2006).

1.2.4.1 Facteurs de risque locaux

Des facteurs locaux de l'hôte peuvent influencer l'environnement sous-gingival en favorisant le développement du biofilm : malocclusion, occlusion traumatique, morphologie dentaire, tassements alimentaires, restaurations iatrogènes, prothèses... (Hirotoimi 2010, Kovács 2007)

Ce sont des facteurs de rétention de plaque qui entraînent une inflammation des tissus parodontaux et ainsi influencent le développement de la maladie parodontale. Ils semblent également modifier le microenvironnement du site, créant un stress écologique et favorisant le développement d'une flore complexe pathogène.

De même, les poches parodontales profondes favorisent l'accumulation bactérienne, et participent au déséquilibre de la composition du microbiome en faveur des espèces anaérobies.

Kovacs, dans son étude, a mis en évidence que les facteurs de rétention de plaque (caries non ou mal traitées, couronnes débordantes, tartre...) augmentaient la perte osseuse localisée.

1.2.4.2 Facteurs de risque généraux

Des facteurs systémiques ou généraux jouent aussi un rôle dans l'incidence et la progression des maladies parodontales. En effet, ces facteurs peuvent altérer la réponse immunitaire de l'hôte, et ainsi, l'équilibre entre l'hôte et les bactéries au niveau local.

Citons par exemple les facteurs hormonaux, génétiques, métaboliques, nutritionnels (obésité), le tabagisme, le stress ou encore certaines affections systémiques, et notamment celles qui entraînent une immunodéficiência (par exemple : l'infection VIH).

Ces modifications de l'hôte accroissent la susceptibilité des infections opportunistes.

- Facteur hormonal

En ce qui concerne le facteur hormonal, on admet en général que les modifications hormonales lors de la menstruation, grossesse, augmente la prédisposition aux gingivites. Les stéroïdes sexuels seraient des facteurs de croissance pour certaines bactéries, comme *Pi* (Kinane, 2006).

- Le tabagisme

Le tabagisme, comme le stress, sont des facteurs environnementaux qui augmentent la prédisposition aux maladies parodontales (en particulier la gingivite/parodontite ulcéro-nécrotique), ou aggravent une pathologie parodontale pré-existante (Stabholz, 2010).

La production de plaque, de tartre, la présence de poches parodontales et la perte osseuse, sont généralement plus importantes chez les fumeurs que chez les non-fumeurs. Les mécanismes ne sont pas encore entièrement élucidés, mais on sait que la nicotine agit sur les vaisseaux périphériques et provoque une vasoconstriction ; d'où des signes cliniques amoindris chez les fumeurs (inflammation et saignement). D'autre part, la nicotine peut inhiber le chimiotactisme et la phagocytose des polynucléaires.

Ryder (2007) propose que le tabagisme module les réponses inflammatoires du système immunitaire de l'hôte vers une réponse plus destructive.

En se basant sur un grand nombre d'études, les auteurs ont conclu que le tabagisme est un facteur de risque majeur des parodontites.

- Syndromes et maladies systémiques

On connaît une variété de syndromes ou de maladies systémiques qui augmentent le risque de voir se développer une destruction parodontale.

On peut citer par exemple le syndrome d'Ehlers-Danlos qui affecte le collagène ; ou encore des syndromes touchant les systèmes de défense de l'hôte, en particulier les leucocytes, comme dans la neutropénie cyclique ou le syndrome de Papillon-Lefèvre. Ces maladies rares sont souvent associées à une inflammation gingivale, une destruction parodontale sévère et parfois une perte précoce des dents (Kinane, 1999).

- Diabète

En ce qui concerne le diabète, de nombreuses études ont montré une relation directe avec la maladie parodontale. Il s'agit d'une relation bidirectionnelle. La prévalence et sévérité de la parodontite augmente avec un diabète non/mal contrôlé (Soskolne, 2001). A l'inverse, une parodontite non traitée peut déséquilibrer un diabète. Le dépistage est donc très important.

L'activité fonctionnelle des polynucléaires neutrophiles serait déprimée chez les patients diabétiques insulino-dépendants. De plus, l'accumulation des produits terminaux de la glycation mène à une sur-production de médiateurs inflammatoires tels que IL-1, TNF α et prostaglandine E₂.

Selon Loë (1993), la parodontite est la sixième complication du diabète.

- Déficits immunitaires

Les déficits immunitaires peuvent être dûs à des médicaments, comme les corticoïdes, ou encore suite à une chimio ou radio thérapie. Ils peuvent également apparaître lors d'infections, telle que l'infection au VIH, dans laquelle le sujet est confronté à une diminution de ses défenses immunitaires du fait de la diminution de ses cellules CD4+.

Différentes études ont montré que les maladies parodontales sont plus fréquentes et sévères chez les patients HIV+ que HIV- (Winkler, 1989).

2. LES BACTERIES PARODONTOPATHOGENES

2.1 Caractéristiques de chaque bactérie

Le World Workshop de parodontologie (Consensus report, 1996) a désigné *A.actinomycetemcomitans*, *P.gingivalis* et *T.forsythia* comme pathogènes parodontaux car ils satisfont aux postulats de Koch.

Nous allons détailler les caractères de ces pathogènes qui jouent un rôle assuré dans l'étiologie des maladies parodontales, ainsi que d'autres qui jouent un rôle probable.

2.1.1 Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Petit bacille à gram négatif, saccharolytique, capnophile, anaérobie facultatif. Il fait partie de la flore commensale de la cavité buccale de l'homme avec une fréquence d'environ 25% chez le sujet jeune et sain.

Toutes les études s'accordent à dire que *A.a* est un pathogène majeur des parodontites agressives localisées (Slots et al, 1980).

Cependant, il existe au moins six sérotypes de *Aa* dans la nature : a, b, c, d, e et f. Celui le plus fréquemment isolé dans les lésions de parodontites agressives localisées est le sérotype b ; alors que celui le plus souvent retrouvé dans les lésions de parodontites chroniques est le sérotype a (Zambon et al, 1983). Le sérotype c serait associé à un parodonte sain.

Par ailleurs, il existe un clone JP2 et un clone non-JP2 de *Aa*. Haubeck, dans son étude de 2008 sur des adolescents marocains, a montré que le clone JP2 était probablement un agent étiologique important de l'initiation de la perte d'attachement parodontale. La co-existence des deux clones (JP2 et non-JP2) de *Aa* réduit le risque de développement de parodontites, suggérant une compétition pour les niches écologiques entre les deux clones.

Aa peut être considéré comme un pathogène opportuniste qui produit une variété de facteurs de virulence comme :

- De multiples adhésines pour adhérer à tous les composants de la cavité orale (surfaces dentaires, cellules épithéliales, autres bactéries...)
- Une bactériocine très efficace pour vaincre la compétition entre espèces bactériennes.
- une leucotoxine capable de lyser les cellules immunitaires de l'hôte (polynucléaires neutrophiles et monocytes) et responsable de la libération d'enzymes qui vont léser les tissus environnants.
- Un lipopolysaccharide (LPS), qui active les leucocytes et induit la résorption osseuse.
- Une catalase, pour résister aux mécanismes de défense de l'hôte comme la production de peroxyde d'hydrogène.
- Et de nombreuses protéines qui altèrent le cycle des cellules de l'hôte et induisent la libération de cytokines et chemokines pro-inflammatoires (Fives-Taylor et al, 1999).

A.a peut s'attacher à des colonies d'autres espèces bactériennes par co-agrégation (Kolenbrander, 2000). Ce micro-organisme peut se déplacer de l'environnement supra-gingival à l'environnement sous-gingival. Cela lui permet ainsi d'envahir l'épithélium des poches parodontales et éventuellement pénétrer dans le tissu conjonctif sous-jacent (Rudney et al, 2001).

2.1.2 *Porphyromonas gingivalis*

Petit Gram négatif, anaérobie, il appartient au complexe rouge qui est le complexe contenant les pathogènes les plus agressifs. Il est l'un des agents étiologiques majeurs des maladies parodontales.

Ses facteurs de pathogénicité sont :

- des fimbriae, protéases, hémagglutinines, qui lui confèrent la capacité d'adhérer aux cellules et tissus de l'hôte, de les envahir et de se multiplier ;
- Son LPS (antigène) active les ostéoclastes et induit la production de cytokines ;
- altération des protéines de surface de l'hôte par des signaux envoyés par ses fimbriae → destruction des tissus de l'hôte ;
- Sécrétion d'enzymes protéolytiques : les protéinases de *Pg* sont un facteur de virulence majeur : elles dégradent le collagène I et IV de la matrice extracellulaire et le fibrinogène ;
- D'autres protéases dégradent le complément, rendant ainsi l'hôte plus susceptible à toute infection en diminuant ses défenses immunitaires ;
- Production de butyrate, propionate, acétate, succinate qui dégradent la muqueuse orale et permettent une meilleure pénétration des bactéries dans le biofilm ; contribuant ainsi à la destruction tissulaire (Holt, 2005).

Pg produit des composés sulfurés volatils lors de son métabolisme qui participent à l'halitose et peuvent être toxiques pour les cellules de l'hôte.

Ce pathogène participe activement à la destruction des tissus parodontaux, mais est encore plus efficace en conjonction avec *Tf* et *Td* (Onagawa, 1994). Or, on sait que *Pg* co-existe souvent avec d'autres bactéries parodontopathogènes comme *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *T. forsythia* ou *T. denticola* (Dzink, Haffajee, 1988).

2.1.3 *Tannerella forsythia* (*Tf*)

Micro-organisme à gram négatif, anaérobie, fusiforme, il appartient au complexe rouge. Il est peu présent dans les sites sains et les gingivites ; mais présent en grand nombre dans les sites actifs des parodontites sévères. On le retrouve fréquemment associé à *Pg*.

Tf possède une activité enzymatique très efficace pour rivaliser avec les autres bactéries présentes. Il produit des protéases (enzymes) qui dégradent la matrice extracellulaire, et des biomolécules qui inhibent les réponses de l'hôte (Holt, 2005).

La lipoprotéine de *Tf* active les fibroblastes gingivaux à synthétiser des niveaux élevés d'interleukine-6 et TNF α ; et contribue à induire la résorption osseuse par les ostéoclastes.

Tf a la capacité d'induire l'apoptose, ce qui lui permet de se défendre contre les leucocytes de l'hôte, d'envahir les tissus parodontaux avec *Pg*, et de faire progresser rapidement la maladie.

Plusieurs études montrent que *Tf* et *Pg* agissent en synergie et que leur combinaison dans les parodontites entraîne des lésions plus sévères (Takemoto et al, 1997).

2.1.4 *Treponema denticola* (*Td*)

Bactérie anaérobie stricte, à Gram négatif, mobile, sa présence est un critère important dans la progression des maladies parodontales.

En effet, chez un sujet en bonne santé orale, cette espèce n'existe quasiment pas ; alors qu'on le trouve chez 92,8% des patients atteints de maladies parodontales, et son nombre augmente avec la profondeur des poches.

Td fait partie des Spirochètes. Ils semblent pousser dans les poches adjacentes aux tissus inflammatoires, et leur présence exacerbe les dommages des tissus parodontaux (Ellen, 2005). Ils initient les réponses inflammatoires de l'hôte qui entraînent la résorption des tissus de support des dents.

Td possède une variété d'adhésines qui lui permettent d'adhérer aux autres espèces bactériennes, ainsi qu'aux cellules de l'hôte, assurant ainsi sa colonisation de l'espace sous-gingival. Il possède une protéase nommée « dentilisine » qui participe à la dégradation des protéines de la matrice extracellulaire de l'hôte, ce qui augmente leur pénétration tissulaire ainsi que celle des espèces voisines.

Les tréponèmes ont, en plus, la capacité de déclencher une cascade de mécanismes immunopathologiques dégradant les médiateurs de l'immunité.

Td, comme *Pg*, produit des composés sulfurés volatils toxiques pour les cellules humaines et responsables de l'halitose (Holt et Ebersole, 2005).

La présence de spirochètes seuls n'est pas un critère de sévérité de la maladie parodontale puisqu'une thérapeutique mécanique simple par détartrage/surfaçage radiculaire, éventuellement associée à un traitement antimicrobien, suffit à les éliminer. Ainsi la présence de *Td* seule ne nécessite pas de chirurgie. Mais il semble que le débridement pourrait entraîner une dissémination de ces pathogènes dans la cavité buccale (Ellen, 2005).

En revanche, lorsqu'il est associé à d'autres pathogènes, et notamment *Pg*, le caractère de la maladie s'aggrave. En effet des études ont montré que la co-infection de *Td* avec *Pg* augmente la virulence de chacune des espèces, probablement par leur capacité à former une communauté protectrice (Washizu et al, 2003). Kigure et son équipe (1995) rapportent la coexistence de *Pg* et *Td* de façon prédominante dans les poches parodontales supérieures à 4mm.

Cette co-aggrégation entre les deux espèces affecte la progression de la maladie parodontale et la rend plus sévère.

2.1.5 Espèces du complexe orange

Ce sont des espèces moins agressives que celles du complexe rouge.

2.1.5.1 *Fusobacterium nucleatum* (Fn)

Fusobactérie à gram négatif, anaérobie stricte, non mobile, elle fait partie de la flore commensale (non pathogène) de la cavité buccale de l'homme. C'est l'espèce la plus fréquemment isolée dans les cultures de plaque sous-gingivale. Elle serait la principale et la plus fréquente cause d'inflammation gingivale et initierait la maladie parodontale (Bolstad et coll, 1996). Sa détection augmente avec le degré d'atteinte parodontale.

Fusobacterium nucleatum (Fn) semble jouer un rôle central dans le développement du biofilm et l'augmentation de la diversité bactérienne en servant de pont de co-agrégation entre les espèces (Ramberg et al, 2003). En effet, elle possède la capacité de co-agrégation avec toutes les espèces. De plus, sa morphologie de long bacille permet à une seule cellule d'héberger à sa surface une variété de partenaires. C'est ce que l'on appelle des formations en « épi de maïs » (Listgarten, 1976).

L'inflammation déclenchée par Fn entraîne une augmentation du fluide gingival, ce qui favorise la croissance des autres espèces pathogènes.

Il produit des propionates, butyrates, et ions ammonium, issus de son catabolisme, qui inhibent la prolifération des fibroblastes gingivaux et compromettent la cicatrisation.

2.1.5.2 *Prevotella*

Les *Prevotella* sont des bacilles à gram négatif, anaérobies stricts, de culture difficile et de croissance lente.

P.intermedia, *P.denticola*, *P.melaninogenica*, *P.nigrescens* sont des espèces pigmentées en noir. Selon Socransky et Haffajee, seuls *P.intermedia* et *P.nigrescens* appartiennent au complexe orange.

P.intermedia est fréquemment retrouvée dans les gingivites ulcéronécrotiques et dans les sites actifs des parodontites.

Les *Prevotella* possèdent des fimbriae pour l'adhérence (Mouton et Robert, 1994).

Comme toutes les bactéries à gram négatif, ils portent des LPS. Celui de *Pi* participerait à l'inflammation dans les maladies parodontales, à la résorption de l'os alvéolaire (par son action sur les MMP) et à l'inhibition de la formation osseuse en agissant sur les ostéocytes.

Les *Prevotella* sont équipées d'enzymes diverses qui agissent sur le tissu conjonctif et favorisent l'invasion bactérienne.

2.1.5.3 *Peptostreptococcus micros* (Pm)

Cocci à gram positif, anaérobie, de petite taille, il est asaccharolytique. On le retrouve plus fréquemment dans les sites présentant une destruction que dans les sites sains (Moore, 1994). Sa concentration est élevée dans les sites actifs et diminue dans les sites traités avec succès.

Les sujets atteints de parodontites sévères ont des taux d'anticorps élevés contre cette espèce.

2.2 Les profils microbiens

Si tous les sujets présentant une parodontite chronique ont plus ou moins les mêmes symptômes et signes cliniques, à des degrés divers, certains auteurs se sont aperçus qu'il existait des différences de composition de leur flore sous-gingivale.

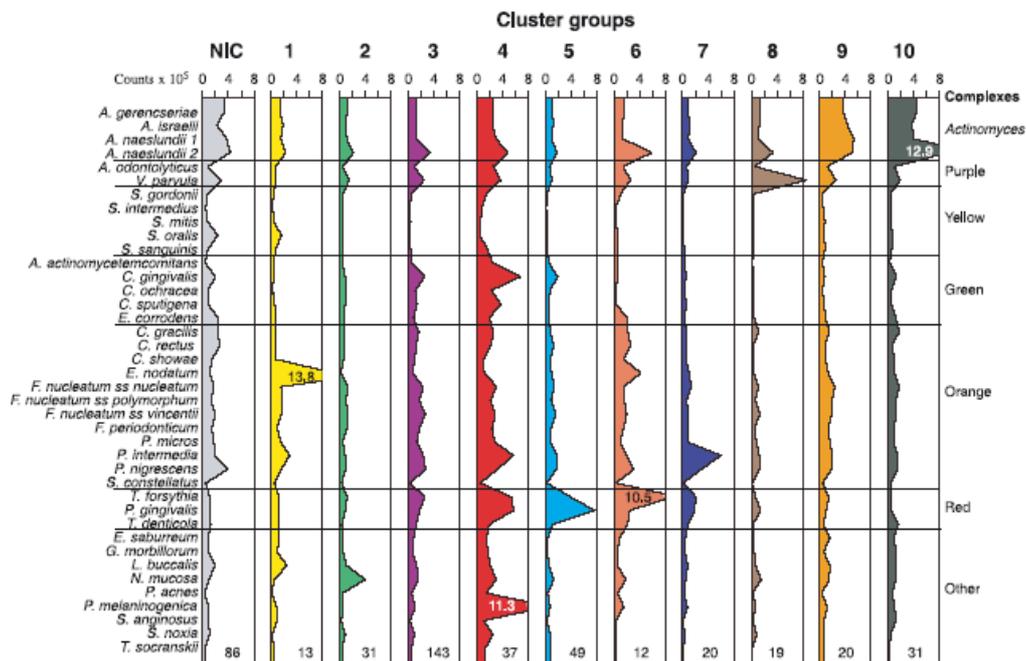


Fig. 4. Mean counts $\times 10^5$ for the mean microbial profiles in the resulting clusters and the not-in-cluster group (NIC) described in Fig. 3. The species have been arranged according to the microbial complexes (207). The numbers at the bottom of each panel represent the number of subjects in the cluster. The profiles for clusters 1, 4, 6 and 10 have been truncated for certain species with high mean counts to permit better visualization of the profiles. The numbers in these profiles represent the actual mean counts ($\times 10^5$) for 'truncated' species.

Fig 2.1 Profils microbiens mis en évidence par Teles et al (2006)

Teles et ses collaborateurs ont analysé 40 espèces de la flore sous-gingivale de 461 sujets avec parodontites chroniques. Les principaux profils microbiens émergents sont présentés dans la figure 2.1 et forment 10 « clusters » avec plus de 43% de similitude.

Le groupe NIC représente les sujets n'appartenant à aucun cluster.

Bien que ces sujets aient le même niveau de maladie parodontale, ils présentent de fortes différences de composition de flore sous-gingivale.

Le plus grand cluster est le cluster 3 avec 143 sujets, caractérisés par des niveaux modérés de la plupart des espèces testées.

Le complexe rouge pathogène est prédominant dans 5 clusters (3, 4, 5, 6 et 7) ; mais est trouvé en faible nombre dans les clusters 1, 2, 9 et 10.

Le cluster 1 est prédominé par *E.nodatum*.

Le cluster 5 est prédominé par le complexe rouge.

Ces données soulignent le fait que les individus diffèrent en microflore sous-gingivale et peuvent avoir différents pathogènes parodontaux responsables de leur maladie. Des différences de réponse aux

traitements sont donc attendues pour les différents individus. Il faudra donc établir la thérapie la plus appropriée à chaque individu en fonction de sa flore.

2.3 Traitements spécifiques aux clusters

Aux vues de ces données, Teles et ses collaborateurs (2006) ont étudié les réponses des différents clusters aux différents traitements.

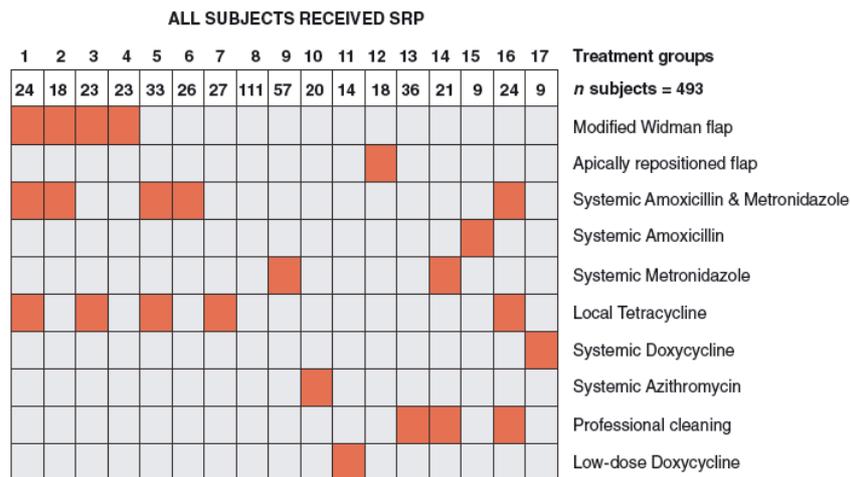


Fig. 1. Treatment groups included in the analyses. The columns represent 17 treatment groups. The rows indicate the treatments employed for each group, as indicated by the red boxes. The number of subjects in each treatment group is presented in row 1. SRP, scaling and root planing.

Fig 2.2 Les différents traitement entrepris (17) dans l'étude- Teles 2006

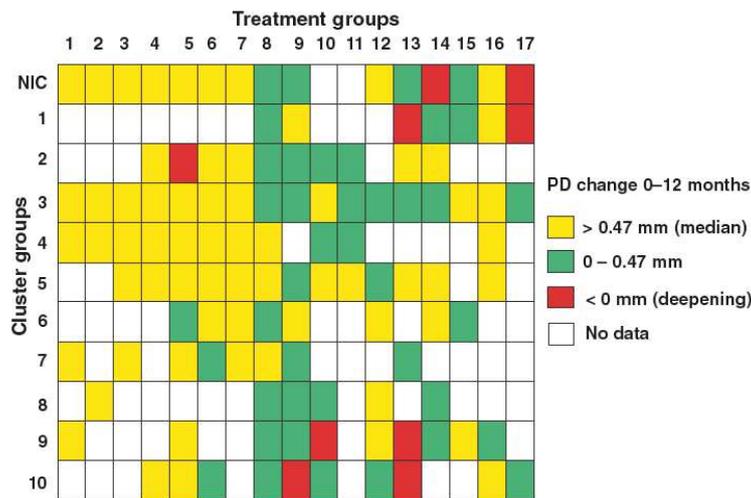


Fig. 46. Grid plot showing mean pocket depth change from baseline to 12 months for 461 chronic periodontitis subjects subset according to microbial cluster group and periodontal treatment groups. The layout of the plot is as described in Fig. 45, except that the threshold for pocket depth change was 0.47 mm (median for the entire group). PD, pocket depth. NIC, not in cluster.

Fig 2.3 Les réponses aux différents traitements concernant la profondeur de poche-Teles 2006

Le cluster 5, caractérisé par une forte proportion d'espèces du complexe rouge et qui présente le meilleur gain d'attache clinique post-thérapie, est traité efficacement par différentes thérapies. Les traitements les moins efficaces pour ce cluster sont : l'administration de métronidazole seule, ou azithromycine seule.

Le cluster 7 qui présente une forte proportion de *Pi*, donne de bons résultats uniquement avec un DSR. On peut en déduire que *Pi* ne nécessite pas de traitement chirurgical, ni d'antibiothérapie. A l'inverse, on note que le cluster 1 qui est dominé par *E.nodatum* (complexe orange) n'est pas réceptif à un DSR seul, ce qui suggère que pour éliminer ce pathogène, il faudra recourir à d'autres moyens.

Le traitement non chirurgical (DSR + nettoyage professionnel) est efficace seulement sur les clusters 2 (dominé par *N.mucosa*), 5 et 7 (dominé par *Pi/Pn*).

Comme attendu, les traitements chirurgicaux sont très efficaces sur la réduction des profondeurs de poches parodontales ; néanmoins, leur corollaire est une perte d'attache clinique. Cet inconvénient est à relativiser aujourd'hui car les techniques utilisées ne sont plus forcément les mêmes ; on privilégie aujourd'hui les lambeaux repositionnés apicalement plutôt que les lambeaux de Widman.

Le traitement chirurgical par lambeau de Widman modifié associé au DSR est efficace sur les clusters 2, 3, 4 (caractérisé par un fort taux d'espèces oranges en particulier *Pi*, de *Pg*, *Tf*, *Aa* et *C.gingivalis*) 5, et 10 (caractérisé par une forte proportion d'*Actinomyces*).

La chirurgie par lambeau repositionné apicalement associé au DSR agit bénéfiquement sur les clusters 6 (dominé par *Tf*, *Pi/Pn*, *E.nodatum* et *Actinomyces naeslundii*) 8 et 9 (dominés par le genre *Actinomyces* et *V.parvula*).

Le traitement par Amoxicilline+métronidazole est efficace sur les clusters 2,3,4,5,6 et moyennement sur 7 et 10 ; les résultats pour les autres clusters ne sont pas communiqués. Le traitement par amoxicilline seule est efficace sur les clusters 3 et 9. Le traitement par métronidazole seul est efficace sur 1 et 6 et moyennement sur 2, 3, 5,7,8 et 9 ; il agit donc sur 7 clusters sur 10, mais avec des effets inférieurs à ceux de l'association amoxicilline/métronidazole en terme de réduction de profondeur de poches.

Le traitement par doxycycline seul n'est pas efficace sur le cluster 1, et peu efficace sur les clusters 3 et 10 ; les résultats des autres clusters n'étant pas disponibles. Il montre donc relativement peu de bénéfices. Le traitement incluant une antibiothérapie locale à la tétracycline, seule ou non, montre de bons résultats sur la réduction de la profondeur de poche.

En résumé, le traitement non chirurgical a une action bénéfique minimale sur tous les clusters ; mais plus importante sur les clusters 4, 5 et 7 ; c'est-à-dire sur certaines espèces du complexe rouge, *Pi* , et *P.melaninogenica*.

Le traitement chirurgical seul (sans adjonction d'antibiotiques) montre une efficacité en terme de réduction de profondeur de poches, sur les clusters 2,3,4,5,6,8,9 et 10 ; soit sur 8 clusters sur 10. La chirurgie sera donc nécessaire dans la majorité des cas.

La figure 2.4 présente notamment l'amélioration de la profondeur de poches liée à la baisse de la charge de *Pg* grâce à la chirurgie.

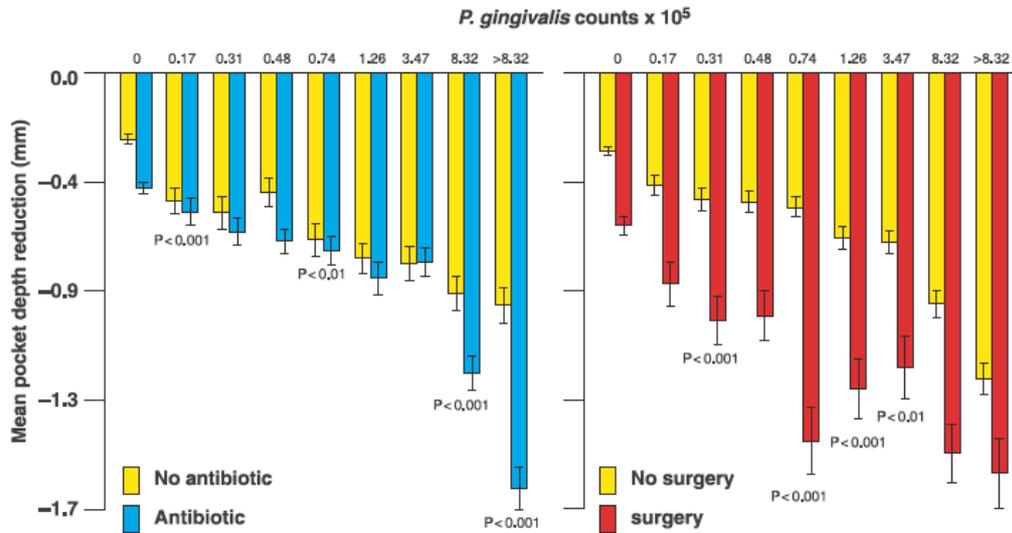


Fig 2.4 Influence de la chirurgie et des antibiotiques sur la réduction de la profondeur de poche et corrélation avec la charge de Pg. (Teles 2006)

Les effets du traitement par antibiotique sont très variables en fonction des clusters, donc des pathogènes. Cette constatation nous montre bien l'intérêt des prélèvements bactériens pour pouvoir adapter l'antibiothérapie aux parodontopathogènes présents et ainsi optimiser la thérapeutique.

L'association amoxicilline/métronidazole permet de couvrir cinq clusters sur dix (2,3,4, 5 et 6) ; c'est pourquoi elle est utilisée aujourd'hui, en pratique quotidienne par de nombreux praticiens, car les tests bactériens restent rarement utilisés.

On remarque que certains profils microbiens, comme ceux dominés par les espèces *Actinomyces genre 2* ou *E.nodatum*, répondent faiblement à différentes thérapies parodontales et peuvent nécessiter une adjonction d'antimicrobiens spécifiques. D'autres profils peuvent être plus faciles à traiter par les procédures mécaniques avec ou sans agents antimicrobiens.

Ces données suggèrent qu'il n'y a pas UN traitement efficace pour tous les profils microbiens rencontrés dans la population, et pour toutes les parodontites chroniques. Il semble donc nécessaire de détecter, chez un patient atteint de parodontite, son profil microbien, afin de proposer le traitement le plus efficace et de limiter les traitements superflus.

2.4 Profils bactériens spécifiques aux pays ?

Nous savons aujourd'hui, en comparant plusieurs études réalisées dans différents pays, que les résistances bactériennes aux antimicrobiens varient selon les populations, du fait de leurs habitudes de prescription, leur mode de vie, leur alimentation...

Si un antibiotique est très prescrit au cours des années dans une population donnée, celle-ci est susceptible de développer une résistance à cet antibiotique. Cette constatation suppose des réponses aux traitements différentes selon les pays.

On peut voir sur la figure 2.5 les grandes variabilités de doses d'antibiotiques prescrites en fonction des pays (Van Winkelhoff, 2005).

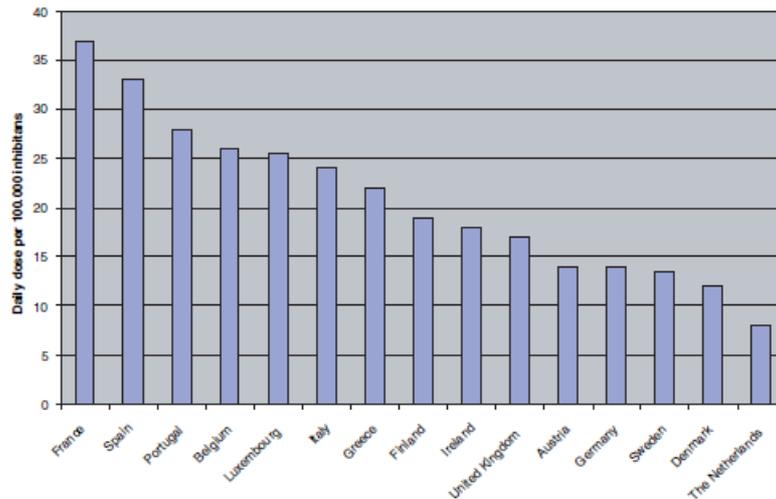


Fig 2.5 Doses journalières d' antibiotiques pour 100000 habitants dans différents pays en Europe.
(Van Winkelhoff,2005)

Il faut aussi s'interroger sur l'éventualité de l'existence de profils microbiens spécifiques aux populations ; car il est probable que des sujets présentant des profils microbiens différents répondent différemment à une thérapie parodontale donnée.

Si tel est le cas, les recommandations thérapeutiques devront être adaptées à chaque pays.

Socransky et Haffajee, dans un article publié en 2005, ont comparé la prévalence des bactéries pathogènes et commensales chez des patients de différents pays : Brésil (58 patients), Chili (26 patients), Boston (114 patients) et Suède (101 patients). Il est important de noter que les patients étaient tous atteints de parodontites chroniques, et qu'ils ne présentaient pas de différences significatives au niveau des paramètres cliniques de leur maladie.

Concernant le complexe rouge, on constate une plus grande proportion de *Pg* chez les chiliens, de *Td* pour les brésiliens. Aucune différence significative n'a été détectée parmi les groupes pour les proportions de *Tf*.

Aa est présent entre 5 et 7% chez les américains et les suédois de l'étude ; mais seulement à 2% chez les brésiliens. Pour *Fn*, les mêmes proportions sont retrouvées dans toutes les populations étudiées, autour de 3%. *Pi* est le plus élevé chez les américains et brésiliens (6%), puis chez les suédois (4 à 5%), et enfin chez les chiliens avec 2%.

Ces différences de composition bactérienne peuvent s'expliquer par des habitudes d'hygiène bucco-dentaires différentes, par une alimentation et des modes de vie différents.

Il faut également prendre en compte la présence de fumeurs dans cette étude (2% au Brésil, 62% en Suède). En effet, cette composante modifie la prévalence des Bactéroïdes et peut donc agir sur toute la flore buccale.

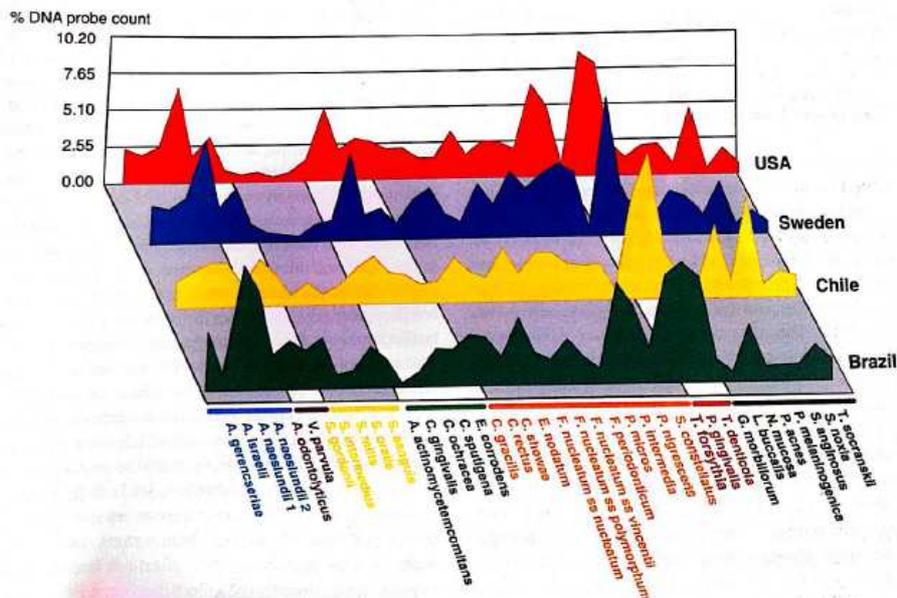


Fig2.6 Socransky and Haffajee, Periodontology 2000,2005 ; vol 38.

Les différences de composition de la flore microbienne observées entre divers pays ne reflètent pourtant pas une différence dans les signes cliniques de la maladie.

Cela suppose aussi qu'il est impossible d'établir un protocole uniforme de traitement des maladies parodontales entre les pays, et principalement concernant l'utilisation des antibiotiques.

Il faut donc rester prudent quant-à l'extrapolation des résultats de Teles et ses collaborateurs à la France, car son étude a été réalisée sur des américains.

Or, l'étude de Verner (2007), réalisée sur une population française, a montré une forte proportion de résistance au métronidazole avec 89% ; tandis que l'amoxicilline serait la molécule présentant le moins de résistances.

Ces résultats sont en concordance avec ceux de l'équipe de Sanz en Espagne : "Microbiological testing : changing the target. Exploring antibiotic resistences in a sample of periodontal patients in Spain", dans laquelle on constate que les sensibilités bactériennes des espagnols sont plus proches de celles des français comparé aux américains.

On peut également citer Feres et al, qui ont montré, en 2002, sur des patients brésiliens, une résistance des pathogènes parodontaux au métronidazole dans plus de 53% des cas étudiés en moyenne et pouvant aller jusqu'à 79%. Pour l'amoxicilline, la résistance des bactéries n'est que de 0,5%. Son étude a montré que l'administration systémique d'antibiotiques augmentait transitoirement le pourcentage d'espèces sous-gingivales résistantes. Cependant, le pourcentage de résistance aux antibiotiques revient aux valeurs initiales 90 jours après l'administration.

Baehni et ses collaborateurs ont également fait des recherches à propos des différents profils microbiens : une importante étude a été réalisée en Suisse, en 1993, sur 300 patients souffrant de parodontites (parodontite précoce, parodontite à progression rapide et parodontite réfractaire). Les

quatre poches parodontales les plus profondes de chaque quadrant ont été analysées sur chaque patient, avant et après traitement. Les bactéries recherchées étaient *Aa*, *Tf*, *Pg* et *Td*. Le nombre total de bactéries (TBL) a aussi été quantifié.

Ainsi, environ 1800 poches ont été analysées, ce qui représente l'une des études microbiologiques les plus importantes menées sur la parodontite ; ce qui a permis, au moyen d'analyses statistiques importantes, de classer les poches parodontales en différents groupes suivant leur population bactérienne.

L'étude de Baehni et al., en 2007, a donc démontré qu'il existe cinq types de poches parodontales correspondant à cinq profils bactériens différents. **Ces types ou familles de poches ont l'avantage de résumer en une seule donnée la complexité des résultats microbiologiques et d'analyser plus simplement leur signification clinique.**

Les graphiques ci-dessous montrent les types (cluster) formés par les germes pathogènes *Aa* (*A. actinomycetemcomitans*), *Tf* (*Tannerella forsythia*), *Pg* (*P. gingivalis*) et *Td* (*T. denticola*) :

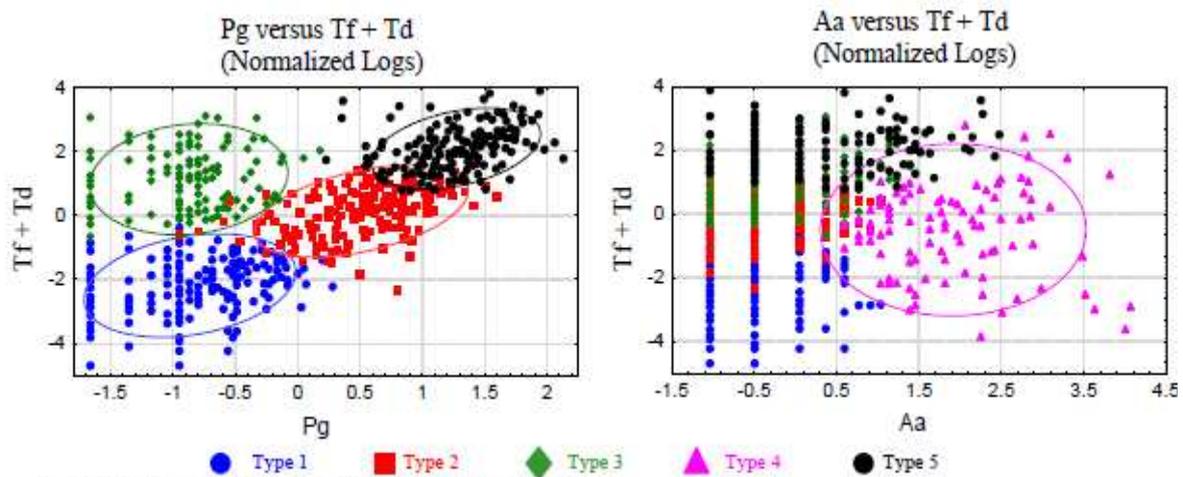


Fig 2.7 Projection bidimensionnelles des cinq types de poches parodontales du point de vue microbiologique. (Baehni,2007)

Les cinq types de poches peuvent être décrits de la manière suivante :

- **Types 1** : Très peu de tous les parodontopathogènes. La quantité globale de bactérie est très faible et ne représentent pas une menace pour la santé parodontale.
- **Type 2** : Quantité moyenne des pathogènes *Pg*, *Tf* et *Td*. *Aa* est absent. Risque d'aggravation rapide si aucun traitement n'est entrepris.
- **Type 3** : Quantité de *Tf* et *Td* moyenne à haute, *Pg* est absent ou en très petite quantité. *Aa* est présent à un niveau bas à moyen. Risque d'aggravation rapide si aucun traitement n'est entrepris.
- **Type 4** : Niveau élevé de *Aa*, avec une présence basse à moyenne des autres pathogènes. Parodontite très sérieuse qui doit être impérativement soignée. Les poches parodontales sont profondes. Une réduction de la charge bactérienne est impérative.

• **Types 5** : Les parodontopathogènes sont, en proportion, très importants par rapport à l'ensemble de la flore bactérienne totale, qui est elle-même très élevée. Seul Aa est représenté de manière faible à moyenne. La forte présence des pathogènes montre une intense activité destructrice des tissus de soutien de la dent. Les poches parodontales sont profondes. Une réduction de la charge bactérienne est impérative.

Le type 5 existe aussi sans Aa, ce qui ne signifie pas pour autant que Aa soit absent du parodonte. Aa a la capacité d'envahir les tissus environnants et rentrer dans la circulation sanguine ; c'est pourquoi on peut ne pas le trouver dans la poche où l'on a fait le prélèvement.

Aux vues de ces découvertes, Baehni et ses collaborateurs préconisent des traitements spécifiques à chaque profil bactérien :

Type 1: Etat **microbiologiquement satisfaisant** ; qui reste stable en général si le patient assure un bon contrôle de plaque supragingival. Il doit cependant être suivi régulièrement.

Type 2: Détartrage/Surfaçage Radiculaire (DSR).

La nature et surtout la répartition des pathogènes identifiés ne justifie pas le recours à l'antibiothérapie.

Type 3: Détartrage/Surfaçage Radiculaire (DSR) + antibiotiques (selon la situation clinique)

Les antibiotiques systémiques améliorent la situation microbiologique, mais contribuent peu à l'amélioration des paramètres cliniques comme la profondeur de poche, ce qui n'est pas le cas de la voie locale, compte tenu des fortes concentrations obtenues *in situ*.

Type 4: Détartrage/Surfaçage Radiculaire (DSR) + antibiotiques

Parodontite présentant un nombre élevé de Aa. La prescription d'amoxicilline ou de ciprofloxacine (en cas d'allergie aux β -lactamines) suffit dans les cas où les anaérobies strictes, Tf, Td et Pg sont en très faible quantité. Dans les autres cas, il faut utiliser la combinaison « amoxicilline + métronidazole/clindamycine » ou doxycycline seule en cas d'allergie aux β -lactamines. Par voie locale, métronidazole ou minocycline peuvent être utilisés, à la réévaluation, dans les lésions ≥ 4 mm.

Type 5 : Détartrage/Surfaçage Radiculaire (DSR) + antibiotiques

Parodontite dominée par des anaérobies stricts. La prescription de métronidazole est généralement suffisante. Dans les cas où Aa est également présent il convient de prescrire l'association « amoxicilline + métronidazole/clindamycine » ou doxycycline seule en cas d'allergie aux β -lactamines . Par voie locale, métronidazole ou minocycline peuvent être utilisés, à la réévaluation, dans les lésions ≥ 4 mm.

La connaissance de ces profils aide à optimiser et à diriger le traitement des parodontites.

Elle permet une identification précoce des patients à risque, une diminution des traitements superflus et l'administration d'une antibiothérapie dirigée. Un seul nombre, le type, donne au chirurgien-dentiste l'information à propos d'une situation microbiologique complexe et de sa signification clinique, ainsi que le traitement à adopter.

Des études supplémentaires seraient nécessaires en France, pour dresser des profils types de patients, et établir des recommandations de traitement spécifique à chaque profil.

3. EFFETS DES THERAPIES PARODONTALES SUR LA FLORE BUCCALE SELON LA LITTERATURE

3.1 Objectifs de la thérapie

L'objectif principal du traitement de la parodontite est d'arrêter la progression de la maladie en contrôlant la flore pathogène et les autres facteurs étiologiques.

Idéalement, la thérapie parodontale doit réduire ou éliminer les espèces pathogènes qui causent et/ou entretiennent la maladie, et doit maintenir les espèces hôte-compatibles qui sont bénéfiques à l'hôte (Socransky, Haffajee, Teles 2006).

Aujourd'hui, ces objectifs ne sont que partiellement atteints.

On sait aujourd'hui que l'étiologie des maladies parodontales est multifactorielle, et qu'il ne faut pas chercher une seule et unique bactérie responsable. C'est l'organisation des diverses espèces bactériennes en biofilm qui leur confère un potentiel pathogène et une résistance accrue vis-à-vis des défenses de l'hôte et des différents moyens chimiques que l'on peut employer dans nos thérapeutiques. Celles-ci devront donc être orientées vers la désorganisation de ce biofilm, afin de remettre les bactéries sous leur forme planctonique originelle, et les rendre à nouveau susceptibles face à l'hôte.

Pour atteindre nos objectifs, différentes approches sont possibles :

- Des thérapies mécaniques (détartrage, surfaçage radiculaire, chirurgie) ont pour but d'améliorer les conditions cliniques en réduisant la charge microbienne,
- Des approches antimicrobiennes : utilisation d'antiseptiques et/ou d'antibiotiques pour cibler directement des espèces spécifiques.

3.2 Le contrôle de plaque

La suppression de la plaque dentaire, comme initialement recommandé par Miller WD, est la pierre angulaire du traitement et de la prévention de ces pathologies (Kuramitsu, 2007).

Des études rapportent que le contrôle de la plaque supra-gingivale diminue l'inflammation et le flux du fluide créviculaire gingival, ayant pour conséquence de diminuer les apports nutritionnels aux organismes sous-gingivaux (Daly, 1996).

En effet, Dahlén et ses collaborateurs (1992) ont montré que le contrôle de plaque supra-gingivale avait un effet significatif sur la composition de la flore sous-gingivale pour les poches inférieures à 6mm, alors qu'il n'avait pas d'effet sur celles de plus de 6mm.

La suppression de la plaque supra-gingivale seule n'est pas suffisante pour mener à une flore compatible avec la santé parodontale, ni pour arrêter la progression de la maladie dans les cas sévères (Teles et al, 2006), mais est nécessaire pour maintenir une bonne santé parodontale après traitement.

3.3 Détartrage et surfaçage radiculaire (DSR)

« Le traitement parodontal basic (DSR) est efficace dans l'arrêt de la progression de la maladie chez la plupart des adultes avec parodontite chronique » (Badersten, 1987).

Le débridement sous-gingival est de loin la thérapie anti-infectieuse la plus communément utilisée. Son rôle principal est de retirer les dépôts microbiens mous et durs de la surface de la racine, ayant pour conséquence immédiate une perturbation importante du biofilm sous-gingival, avec une réduction de sa masse totale.

Plusieurs études rapportent des résultats significatifs après DSR :

- diminution significative du pourcentage de sites infectés par Aa, Pg, Pi (Shiloah et Patters, 1994),
- diminution significative du pourcentage de sites positifs à Pi, Tf, Td (Darby, 2005)
- réduction significative du pourcentage de spirochètes et bacilles à gram négatif, avec simultanément une augmentation du pourcentage de cocci (Baehni, 1992),
- une amélioration des paramètres cliniques (réduction de la profondeur de poche, diminution du nombre de sites saignant au sondage) (Haffajee, 1997).

Haffajee et al (1997) ont montré qu'après 12 mois, avec des détartrages réguliers, les niveaux de *Pg*, *Td* et *Tf* sont significativement réduits, et on observe une augmentation du niveau des espèces bénéfiques à l'hôte (*V.parvula*, *Actinomyces naeslundii*). Cependant, pour Beikler et ses collaborateurs (2004), ces améliorations ne sont que transitoires et il y aurait un risque de dissémination des pathogènes parodontaux dans la cavité orale.

Les résultats obtenus pour Aa et Pg sont variables selon les auteurs :

Takamatsu et ses collaborateurs rapportent que les niveaux de Aa ne sont pas affectés après DSR, mais la fréquence de détection de Pg et Tf est réduite. Darby et al rapportent une prévalence de Aa et Pg faiblement affectée. Koshy et son équipe (2004) rapportent qu'il est difficile d'éliminer Aa des poches parodontales par DSR seul, probablement à cause de sa capacité à envahir les tissus gingivaux. La chirurgie des tissus gingivaux serait nécessaire pour éradiquer ce pathogène. Plusieurs autres études confirment que Aa est encore trouvé en forte proportion après débridement mécanique, dans les sites initialement infectés (Renvert et al, 1990).

Le DSR seul peut affecter la quantité sous-gingivale de *Pg*. Cette décroissance est associée à l'amélioration des symptômes cliniques. Mais de hauts niveaux de cette bactérie peuvent être retrouvés dans les sites répondant faiblement au traitement (Renvert et al, 1990).

Toutes les études montrent la difficulté à éliminer *Tf* par traitement non chirurgical. Le pourcentage de sites colonisés par *Tf* selon les auteurs :

	Avant thérapie	Après thérapie non chirurgicale
Haffajee et al. (1997)	43%	27%
Takamatsu et al.(1999)	77,9%	35,6%

En ce qui concerne les spirochètes (*Td*), de nombreuses études montrent qu'ils sont sensibles au débridement mécanique et que leur proportion diminue sans besoin d'agents antimicrobiens (Baehni, 1996).

Selon Levy, le DSR aurait un effet mineur sur les espèces du complexe orange, telles que *E.nodatum*, *F.nucleatum*, *P.nigrescens* et *S.constellatus*, lesquels seraient significativement réduits par chirurgie.

Le débridement mécanique de la racine est un pré-requis pour contrôler l'infection parodontale. Il est reconnu pour améliorer les paramètres cliniques. Les bénéfices cliniques et microbiologiques atteints peuvent durer au-delà des 3 premiers mois post-thérapie, à condition d'un bon contrôle de plaque et d'une maintenance régulière. Cependant, la réduction des espèces des complexes rouge et orange est plus marquée dans les poches inférieures à 4 mm (Levy, 2002) ; et le DSR seul ne peut pas éradiquer toutes les bactéries pathogènes de l'écosystème sous-gingival.

Les sites aux poches profondes, les furcations, les concavités sont difficiles d'accès. La chirurgie s'imposera alors ; de même que pour certains pathogènes qui ont la capacité d'envahir les cellules épithéliales gingivales, le tissu conjonctif (*Aa*, *Pg*, *Tf*) (Rudney et al, 2001).

De plus, les résultats des études convergent à dire que ces modifications cliniques et microbiologiques sont majeures chez les sujets n'ayant jamais reçu de thérapie parodontale. Il faut également prendre en compte le fait que les résultats varient en fonction des patients, dû à des facteurs environnementaux, génétiques, immunitaires, et au facteur opérateur effectuant la thérapie.

L'élimination incomplète des pathogènes parodontaux par traitement non chirurgical peut entraîner une recolonisation relativement rapide et la récurrence de la maladie. L'adjonction d'une désinfection buccale par antiseptique augmente l'impact du DSR sur la flore sous-gingivale et limite le risque de colonisation d'autres sites (Umeda, 2004).

3.4 Procédures chirurgicales

La chirurgie est la thérapie parodontale qui affecte le plus la flore sous-gingivale.

Selon Baehni (2004), les procédures chirurgicales représentent le traitement de choix pour corriger les défauts anatomiques, atteindre une réduction des poches ainsi qu'un recouvrement de la racine.

Elle est réalisée dans le cas où des poches parodontales profondes (supérieures à 5mm) persistent après le traitement initial, dans le but de réduire la charge bactérienne et faciliter l'accès au contrôle de plaque par les patients (Haffajee et al, 2006) ; ou bien dans les cas de furcation radiculaire pour accéder à la lésion selon Baehni (2004). Elle est également une indication pour certains pathogènes tels que *Aa* qui est une espèce envahissant les tissus, et qui nécessitera une excision chirurgicale des tissus infectés.

Comparé au DSR, la chirurgie permet un meilleur accès pour nettoyer la surface des racines, et ainsi permettre une réduction des poches plus avantageuse. De nombreuses études rapportent que cette thérapeutique apporte des modifications bénéfiques de la flore sous-gingivale supérieures à celles obtenues par DSR seul. L'inconvénient de cette technique est qu'elle risque souvent d'entraîner des récessions gingivales inesthétiques.

Levy et son équipe, dans leur étude (2002), ont obtenu grâce à la chirurgie et à une maintenance régulière, une meilleure réduction des niveaux de toutes les espèces du complexe rouge et certaines du complexe orange comparé au DSR.

Danser et al (1996) ont effectivement montré une réduction de la prévalence des pathogènes *Aa*, *Pg* et *Pi* trois mois après la chirurgie ; cependant, les prélèvements effectués sur les muqueuses orales étaient positifs pour ces pathogènes, notifiant que les muqueuses peuvent être un réservoir de pathogènes, et une source de réinfection.

Mombelli (1995) rapporte, dans une étude à long-terme, que *Fn*, *Pi* et *Weillonnella recta* étaient moins fréquemment retrouvés après chirurgie ; avec à l'inverse, une augmentation des espèces supposées bénéfiques (*Capnocytophaga spp*, *Actinomyces odontolyticus*). Cependant, son étude de 2000 a montré une corrélation positive entre le nombre de sites profonds résiduels (supérieurs à 4 mm) et la prévalence des sites positifs à *Pg*. Les chances de détecter *Pg* augmentent d'un facteur 2,47 pour chaque millimètre supplémentaire de profondeur de poche. Les sites positifs à *Pi/P.nigrescens* sont corrélés avec des saignements au sondage.

Le but de la chirurgie osseuse est d'éliminer les cratères osseux et défauts angulaires, permettant un déplacement apical des tissus gingivaux et diminuer ainsi la profondeur des poches parodontales. Tuan et ses collaborateurs (2000) ont étudié les effets de l'élimination de la poche par lambeau repositionné apicalement avec et sans ostéotomie :

- 6 mois après la résection osseuse, *Aa* et *Pg* n'étaient pas retrouvés
- *Tf* était réduit à un niveau faible
- *Pi*, *Fn*, *W.recta*, *P.micros* sont fortement réduits par la chirurgie osseuse, alors que la chirurgie non osseuse a un effet mineur sur ces espèces.

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

Au niveau des paramètres cliniques, la chirurgie est efficace dans la réduction des profondeurs de poches, mais elle entraîne souvent des pertes du niveau d'attache clinique.

De façon unanime, ces études suggèrent que les changements environnementaux résultant d'une chirurgie parodontale peuvent mener à une modification de la flore sous-gingivale vers une composition plus compatible avec la santé parodontale.

3.5 Les antibiotiques

L'utilisation des agents antimicrobiens peut parfois s'avérer nécessaire pour éliminer la flore pathogène en complément des thérapies mécaniques, notamment dans les zones inaccessibles à l'instrumentation telles que les poches parodontales profondes, les furcations radiculaires, ainsi que sur les tissus mous où ces bactéries sont parfois retrouvées. Ils vont aider à la suppression des pathogènes parodontaux, et réduire ainsi le risque de récurrence de la maladie, et les besoins de chirurgie (Van Winkelhoff, 2005).

Cette approche est généralement utilisée dans les cas de parodontites agressives, ou dans les cas de faible réponse au traitement conventionnel, se traduisant par une faible réduction de profondeur de

poches, un faible gain d'attache clinique, et un pourcentage encore important de sites saignant au sondage en dépit d'une bonne hygiène orale.

Nous savons que les espèces bactériennes organisées en biofilm sont 500 fois plus résistantes aux antibiotiques que si elles sont à l'état planctonique (Sbordone,2003). La désorganisation mécanique du biofilm doit donc précéder ou accompagner la thérapie systémique antibiotique pour permettre aux antimicrobiens d'agir pleinement sur les espèces cibles.

Haffajee et ses collaborateurs ont montré clairement, en 2006, qu'une antibiothérapie permettait d'obtenir un meilleur gain d'attache clinique lors des traitements parodontaux.

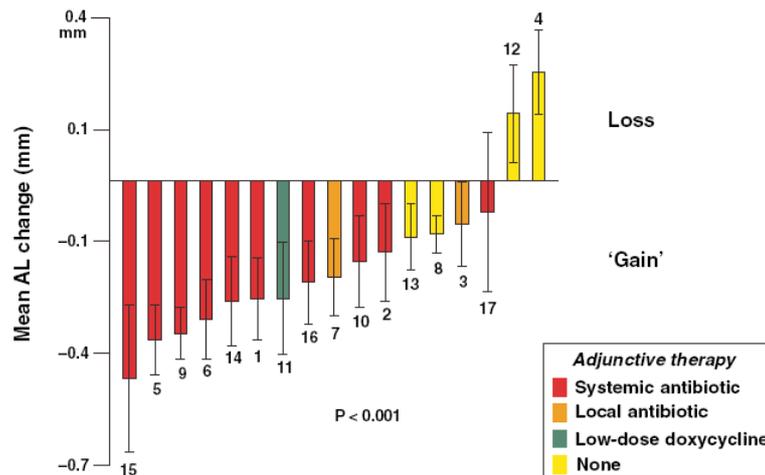


Fig 3.1 Variation du niveau d'attache clinique selon les thérapies antibiotiques (Haffajee et al. 2006)

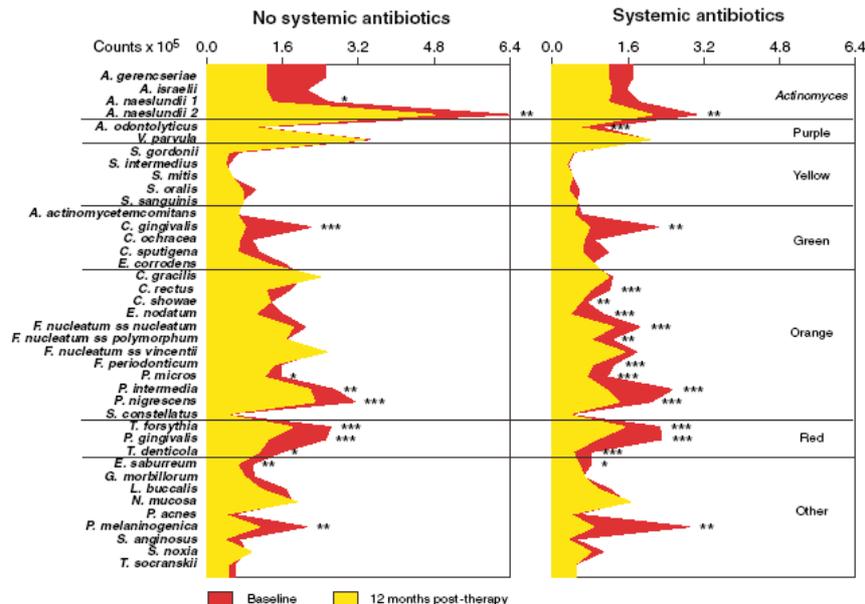


Fig. 32. Profiles of mean counts ($\times 10^5$) of 40 taxa in subgingival plaque samples taken at baseline and 12 months post-therapy from subjects who did not (left panel) or did (right panel) receive systemic antibiotics as part of their periodontal therapy. Plaque samples were taken from the mesial aspect of each tooth and analyzed separately for their content of 40 species of bacteria. Data for each

species were averaged within each subject and then across subjects in the two treatment groups for each time-point separately. Significance of differences over time was sought using the Wilcoxon test and adjusted for multiple comparisons (32); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$. Species were ordered according to microbial complexes (31).

Fig 3.2 Réponse des espèces bactériennes à la thérapie antibiotique (Haffajee et al,2006)

Ils ont observé que les sujets ne recevant pas d'antibiothérapie systémique en complément de leur thérapie montraient quand même une réduction des proportions des espèces du complexe rouge (*Pg*, *Tf*, *Td*) et certaines du complexe orange (*Peptostreptococcus micros*, *Pi*, *P.nigrescens*) ; mais que l'antibiothérapie systémique était plus efficace dans les réductions avec un spectre élargi à 9 des 12 espèces du complexe orange en plus de celles du complexe rouge (fig 3.2). Cependant, on peut remarquer, sur la figure 3.2, que l'antibiothérapie n'est pas réellement efficace sur *Tf*.

Néanmoins, ces études n'utilisent pas la composition microbienne de la plaque sous-gingivale comme critère de choix de la molécule antibiotique ; le choix est empirique et basé sur l'expérience du clinicien. De telles approches ne prennent pas en compte la possibilité que certains pathogènes puissent exposer des résistances à ces médicaments.

A ce stade, les cliniciens peuvent utiliser les tests microbiens pour guider l'antibiothérapie.

Le tableau 3.3 résume les principales molécules utilisables, leurs caractéristiques et limites.

3.5.1 Les bêta-lactamines (Sixou, 2005)

Elles comprennent les pénicillines et les céphalosporines. Ce sont les molécules utilisées en première intention, en odontologie, et notamment l'amoxicilline.

Leur spectre inclut les cocci à gram positif et négatif, les bacilles à gram positif, les anaérobies à gram positif, et *Fusobacterium nucleatum*, les spirochètes, *Porphyromonas* sp. et *Prevotella* sp. de façon variable.

Cependant, elles peuvent être inactivées par les β -lactamases produites par certaines bactéries. Dans ce cas, elles peuvent être associées soit à l'acide clavulanique, qui est un inhibiteur des bêta-lactamases, soit au métronidazole. Cette combinaison est particulièrement indiquée dans le traitement de la parodontite agressive (Sixou et al,2005).

Ces molécules présentent une bonne diffusion tissulaire. Leur mode d'action est bactéricide. L'allergie aux pénicillines est l'effet indésirable le plus commun ; environ 12% des patients se disent allergiques.

D'après l'étude de Verner (2007), réalisées sur des patients français, c'est la molécule qui présenterait le moins de résistances bactériennes en France, et qui doit donc être prescrite en première intention (sauf en cas d'allergie aux bêta-lactamines). *Pi* semble être la bactérie la plus résistante aux pénicillines (Sixou et al,2005).

3.5.2 Les imidazolés (métronidazole)

De tous les antibiotiques étudiés, le métronidazole semble avoir le meilleur effet bénéfique sur les paramètres cliniques parodontaux et sur la composition de la plaque sous-gingivale.

Il est attractif pour le traitement des parodontites chroniques de par son spectre étroit qui agit spécifiquement sur la flore anaérobie stricte des maladies parodontales (les *Bacteroides* sp. , *Fusobacterium* sp. , *Porphyromonas* sp. , *Prevotella* sp.).

De plus, il a été démontré que cet agent pénètre dans le fluide créviculaire gingival et atteint des concentrations supérieures aux Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) établies *in vitro* pour la plupart des parodontopathogènes (Poulet,1999).

En revanche, il n'est pas efficace contre les bactéries micro-aérophiles et les capnophiles telles que *Aa*, *Eikenella corrodens*, et les espèces *Capnocytophaga* (Shaddox et Walker, 2009).

Des effets indésirables gastro-intestinaux surviennent chez environ 12% des patients.

3.5.3 Les macrolides (érythromycine, azithromycine, spiramycine, josamycine...)

Les macrolides ont un spectre antimicrobien relativement étroit, agissant sur les bactéries à gram positif aéro-anaérobies. Ils sont peu ou pas actifs sur les bactéries à gram négatifs, c'est-à-dire les bactéries impliquées dans les maladies parodontales. De plus, ils présentent de nombreuses interactions avec d'autres médicaments.

En revanche, l'azithromycine, molécule plus récente, présenterait un spectre un peu plus large avec une action contre les Gram négatifs anaérobies, et l'avantage de posséder une demi-vie de 20h. In vitro, cette molécule a démontré une bonne activité contre les pathogènes parodontaux à gram négatif dont tous les sérotypes de *Aa* et *Pg* (Walker et Baehni, 2004).

La littérature montre classiquement une résistance connue de *Fn* aux macrolides.

Selon une étude de Verner (2007), l'azithromycine présente, dans 44% des cas, une activité inhibitrice plus efficace que les autres macrolides (érythromycine, clindamycine et spiramycine). De plus, la posologie est en faveur de cette molécule puisque trois jours de traitement suffisent, ce qui peut améliorer l'observance des patients.

Les données sont insuffisantes pour pouvoir évaluer son efficacité dans le traitement des parodontites. Cependant, grâce à ses propriétés pharmacocinétiques et son spectre d'activité, elle peut offrir un bénéfice dans certaines circonstances.

3.5.4 Les macrolides apparentés

Ils regroupent les lincosamides (clindamycine) et les streptogramines (pristinamycine).

Les lincosamides ont un spectre d'action identique aux macrolides, élargi aux anaérobies à Gram positif et négatif, et seraient particulièrement actifs contre les anaérobies associés à la flore parodontale (Walker, 1985). Cependant, *E. corrodens* et *Aa* seraient résistants à ces molécules. Ils engendrent de nombreux effets indésirables, en particulier des problèmes digestifs.

Les streptogramines, eux, ont un spectre identique à celui des macrolides avec, semble-t-il, une meilleure efficacité sur les bactéries anaérobies. Leur avantage est qu'ils présentent peu de résistances bactériennes.

Les macrolides et apparentés sont souvent utilisés en deuxième intention ou en cas d'allergie aux β -lactamines. Cependant, culture et antibiogramme sont fortement recommandés pour détecter la présence de *E. corrodens* et *Aa*, lesquels contre-indiquent l'utilisation de la clindamycine.

3.5.5 Les tétracyclines (doxycycline, tétracycline...)

Elles possèdent un large spectre d'action efficace sur la flore sous-gingivale, et sur *Aggregatibacter sp.* ; malheureusement elles sont de moins en moins efficaces à cause d'émergences de résistances.

Doxycycline et minocycline sont actives sur les bactéries anaérobies facultatives et les anaérobies strictes, ainsi que sur la collagénase produite par les bactéries.

Elles présentent une bonne pénétration dans les cellules bactériennes, ce qui permet de diminuer les doses administrées (Walker et Baehni,2004).

Bien que l'administration systémique de tétracycline puisse apporter des bénéfices chez certains patients, notamment dans le cas de parodontites agressives, il semble actuellement y avoir de meilleurs choix d'antibiotiques pour le traitement des parodontites.

3.5.6 Tétracyclines en délivrance locale

Les tétracyclines peuvent aussi être utilisées en délivrance locale, ce qui permet d'atteindre des concentrations sulculaires de médicaments supérieures à 1mg/mL, niveau considéré comme bactéricide pour la majorité des bactéries montrant des résistances aux concentrations délivrées de façon systémique (Walker et Baehni, 2004). De plus, cela permet de limiter l'impact des antibiotiques sur la flore résidant dans d'autres parties du corps. Ces systèmes à délivrance locale semblent idéaux pour le traitement de parodontites récurrentes et/ou réfractaires, et le traitement de sites individuels qui ne répondent pas de façon satisfaisante à la thérapie conventionnelle.

Les tétracyclines sont aussi des inhibiteurs des MMP (métalloprotéinases matricielles). Or, comme nous l'avons vu précédemment, les MMP jouent un rôle crucial dans les maladies parodontales puisqu'elles dégradent les molécules de la matrice extra-cellulaire, comme le collagène.

Des essais cliniques en double aveugle, contre-placebo, ont montré que l'administration de faibles doses de doxycycline (20mg) produisait une amélioration des indices cliniques, sans causer aucun effet détectable sur la flore sous-gingivale, ni d'augmentation des résistances antibiotique (Caton et al, 2000).

Ce traitement représente une approche différente pour contrôler l'activité de la maladie, et peut être plus bénéfique pour des patients avec maladie systémique immunosuppressive en évitant les sur-infections par perturbation de la flore.

Attention cependant : les tétracyclines peuvent entraîner une photosensibilisation (éviter l'exposition directe au soleil). Elles sont également contre-indiquées chez la femme enceinte ou qui allaite.

Selon Baehni et coll (2007), Molécules actives et bactéries :

Bactéries		Molécules actives	Antibiotiques (exemples)	Prescription
<i>Actinobacillus actinomycetem-comitans</i>	Anaérobe facultative	Amoxicilline Minocycline Doxycycline Ciprofloxacine	Clamoxyl® or Vibramycin®	
<i>Tannerella forsythia</i> (ex <i>Bacteroides forsythius</i>)	Anaérobies strictes	Métronidazole Clindamycine	Tiberal® or Flagyl® or Vibramycin®	Selon le résultat du test microbiologique à la fin d'un traitement mécanique ou en phase chirurgicale.
<i>Porphyromonas gingivalis</i>				Comme rappel après traitement.
<i>Treponema denticola</i>				

Fig.3.3. Indications des molécules antibiotiques (Baehni,2007)

Les thérapies parodontales ont un effet modifiant sur l'écosystème sous-gingival, qui peut être temporaire ou définitif.

Il faut réaliser la thérapie parodontale optimale à chaque sujet pour développer un équilibre hôte-bactéries et une stabilité parodontale à long terme.

Or, la maladie parodontale est différente pour chaque sujet car influencée par de nombreux facteurs ; tout comme les réponses aux traitements.

Le traitement parodontal ne devrait donc t-il pas être individualisé ?

4. LES TESTS BACTERIENS

Nous savons aujourd'hui qu'un nombre limité de bactéries est responsable des maladies parodontales. La détection des pathogènes parodontaux spécifiques aux sites impliqués semble important pour le traitement de certaines parodontites, notamment les parodontites précoces ou chez les sujets qui ne répondent pas à la thérapie parodontale conventionnelle.

L'analyse de ces éléments a conduit au développement de tests microbiens permettant l'identification des pathogènes suspectés.

4.1 Quels tests ?

Un test de biologie moléculaire doit être d'utilisation aisée, facilement interprétable, reproductible et rapide. Il doit également avoir un important pouvoir discriminant.

Le résultat obtenu dépend de ses performances, notamment en termes de sensibilité et de spécificité. Ainsi, il faudra tenir compte de l'éventualité d'un résultat faussement positif ou faussement négatif.

4.1.1 La culture bactérienne

Parmi les méthodes de détection microbienne, la culture bactérienne est considérée comme le « gold standard » (Zambon, 1995). Elle reste la méthode de référence pour déterminer la composition microbienne de la plaque sous-gingivale.

4.1.1.1 Principe

Des échantillons de plaque prélevés dans des poches parodontales sont mis en culture pour isoler et identifier les bactéries présentes. La technique de prélèvement par pointes de papier stérile est considérée comme la technique de choix en raison de sa reproductibilité (Dahlén, 1996) et de son efficacité dans la collecte des bactéries anaérobies (Zambon et coll, 1985).

Le prélèvement clinique est transporté au laboratoire où il est mis en culture pour permettre le développement et l'identification des bactéries présentes. Le choix du milieu et des conditions de culture dépend de la recherche à effectuer (type de gélose, conditions aérobies/anaérobies, milieu sélectif ou non...) Un milieu de culture non sélectif permettra de détecter des espèces bactériennes non suspectées, à condition que ces espèces puissent croître dans des conditions non spéciales. La « flore prédominante cultivable » sera identifiée.

L'identification d'une bactérie repose sur la comparaison de divers caractères phénotypiques que présente la souche étudiée par rapport à une souche de référence : caractères morphologiques, moléculaires, métaboliques.

L'objectif est d'établir la liste des espèces bactériennes retrouvées dans les poches, typiques de chaque forme clinique de maladie parodontale.

4.1.1.2 Avantages (ANAES, 2002)

L'aspect non ciblé de la technique permet l'identification d'une majeure partie des composants de la flore bactérienne, y compris des organismes inhabituels ou sur-infectants comme le *Candida albicans*.

La culture permet d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques et ainsi la réalisation d'un antibiogramme permettant de déterminer quel sera l'antibiotique le plus efficace ainsi que la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Slots, 1997).

4.1.1.3 Inconvénients (ANAES, 2002)

Cependant, les méthodes de culture demandent du temps (5 à 6 semaines), sont difficiles à réaliser et sont relativement coûteuses. Certaines espèces sont difficilement cultivables, voire incultivables (Tréponèmes comme *Td* car ils ne forment pas de colonies). Des estimations suggèrent que moins de 50% de la flore totale des échantillons peut être cultivée (Loesche et al, 1992).

Cette technique nécessite des bactéries vivantes, cela suppose donc des contraintes importantes lors du transport au laboratoire : il doit être le plus bref possible, et un milieu de conservation adapté, avec des conditions proches du milieu d'origine, est nécessaire pour assurer la survie des bactéries et éviter toute modification du contenu de l'échantillon. Le seuil de détection pour cette technique est de 10^3 à 10^5 micro-organismes, c'est donc une méthode peu sensible. Enfin, c'est une méthode opérateur-dépendant avec une variabilité selon les compétences et l'expérience du microbiologiste.

4.1.1.4 Intérêts cliniques

Un des avantages majeurs de la culture bactérienne est sa capacité à détecter les plus grand nombre de pathogènes présents dans un échantillon. Ceci est intéressant pour mettre en évidence des pathogènes inhabituels que l'on peut retrouver dans certaines formes de parodontites, et notamment chez les sujets ne répondant pas au traitement.

La possibilité d'obtenir un antibiogramme en fait une méthode de choix pour déterminer la susceptibilité d'un pathogène donné à un antibiotique donné. Selon Van Winkelhoff (2003), le choix de l'antibiotique doit toujours se faire après une analyse microbiologique complète et sérieuse dans le but d'adapter au mieux le traitement et de limiter les résistances bactériennes.

Ces techniques ne sont pas indiquées pour le diagnostic microbien parodontal car elles demandent trop de temps et sont trop coûteuses. Néanmoins, elles restent valables pour étudier les micro-organismes associés aux maladies parodontales (Baehni, 1996).

4.1.2 Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Les avancées techniques récentes ont permis d'utiliser des sondes d'acides nucléiques et techniques d'amplification pour l'identification de l'ADN des pathogènes parodontaux.

La PCR, qui cible le gène d'une région spécifique du pathogène, est désormais utilisée pour sa haute sensibilité et sa détection spécifique des pathogènes parodontaux (Riggio, 1996). Cette technique réalise la répllication et la multiplication des fragments d'ADN ou ARN présents dans l'échantillon en utilisant une polymérase, et permet d'obtenir des données quantitatives.

Elle se déroule en trois étapes :

- Dénaturation thermique de l'ADN double brin en simple brin
- Hybridation des amorces de part et d'autre de la séquence à amplifier
- Elongation enzymatique à partir des amorces, permettant la synthèse d'un brin d'ADN complémentaire, par une ADN polymérase.

Un nombre considérable de copies identiques est ainsi généré (jusqu'à 10^9 copies). La PCR peut détecter les organismes avec des clones virulents en ciblant le gène lié à la pathogénèse ; ainsi que les micro-organismes difficiles voire impossible à cultiver.

4.1.3 La PCR en temps réel

L'évolution de la technique de la PCR a permis le développement de la PCR en temps réel. Elle permet de mesurer l'accumulation du produit de PCR à chaque cycle, et donne ainsi une quantification exacte du nombre de copies d'ADN présents dans l'échantillon. Cette méthode est notamment utilisée pour détecter et quantifier plusieurs pathogènes parodontaux et le nombre de bactéries total dans les échantillons cliniques (Paster, 2009).

Deux méthodes de prélèvements sont utilisables :

- avec un cône papier inséré dans la poche : le prélèvement contiendra essentiellement une flore « non adhérente », située entre la surface de la racine et l'épithélium ;
- avec une curette venant gratter la surface de la racine : en plus de la flore « non adhérente », on récupère les micro-organismes associés à la surface de la racine.

Selon Socransky et Haffajee (2002), les micro-organismes associés à la racine semblent être composés d'espèces *Actinomyces*, des membres des complexes jaune, vert et violet. Les micro-organismes « faiblement adhérents » semblent être majoritairement des membres du complexe orange ; tandis que le biofilm associé à l'épithélium hébergerait de hauts niveaux de membres du complexe rouge.

4.1.3.1 Avantages (ANAES, 2002)

C'est une méthode très sensible et très spécifique (Chardin, 2006). Le principe même de sa technique permet d'abaisser le seuil de détection entre 10 et 100 cellules, ce qui lui confère le niveau de sensibilité le plus élevé de tous les tests microbiologiques (la PCR permet de détecter un organisme unique).

Elle permet une analyse quantitative des résultats.

C'est une méthode rapide puisque les résultats peuvent être obtenus en quelques heures.

Les échantillons ne nécessitent pas de conditions anaérobies pour être maintenues durant le transport (travail sur des bactéries non vivantes).

Il s'agit d'une méthode reproductible et facile à automatiser.

Enfin, le coût de cette technique est modéré.

4.1.3.2 Inconvénients (ANAES, 2002)

La recherche ciblée de micro-organismes ne permet pas de détecter les cas de parodontites atypiques.

Cette technique ne permet pas de déterminer la susceptibilité des bactéries aux ATB (on ne peut pas détecter tous les gènes de résistance existants dans la flore sous-gingivale par ces méthodes) (Shaddox, 2009).

Il y a un risque de contamination des échantillons, pouvant donner des résultats faux-positifs. Il faut donc prendre des mesures de prévention spécifiques.

Il y a également un risque d'apparition de mutation dans les séquences cibles, car la Taq polymérase ne possède pas d'activité de correction ; pouvant être responsables de faux-négatifs.

4.1.3.3 Intérêts cliniques

L'intérêt principal de cette technique est qu'il n'est pas nécessaire de préserver la vitalité cellulaire, contrairement à la culture bactérienne, ce qui supprime certaines contraintes. Cela va également permettre de détecter des germes non viables ou difficilement cultivables, ce qui permet de découvrir des pathogènes nouveaux. La capacité de la PCR à détecter des bactéries mortes permet de souligner l'histoire bactérienne de la poche (Verner, 2006).

De plus, la rapidité de l'obtention des résultats permet de réagir vite dans notre thérapeutique, grâce à la quantification précise des bactéries présentes dans la flore prélevée.

La PCR permet également de détecter des séquences codantes pour un facteur de virulence. Ceci a le double avantage de dépister des bactéries et de participer à l'étude de la pathogénie de la maladie. Ainsi, Haubek et coll (2008) ont utilisé la PCR pour distinguer deux clones de *Aa* dans les échantillons de plaque d'adolescents marocains atteints de parodontite agressive : le clone JP 2 et le non-JP 2. Le clone JP2 produit en quantité élevée une leucotoxine responsable de la destruction des tissus parodontaux. Les sujets porteurs du clone JP2 de *Aa* sont donc soumis à une perte d'attache plus rapide et significativement plus élevée que les sujets porteurs du clone non-JP2. Cette étude démontre l'intérêt de la PCR dans la distinction de différents clones bactériens responsables de différentes formes cliniques de parodontites.

Au regard de ses nombreux avantages, Verner et coll (2006) considèrent que la PCR en temps réel est la technique la plus appropriée pour la détection et la quantification des pathogènes persistants, pendant les phases de maintenance et de réévaluation du traitement parodontal.

4.2 Justification des tests bactériens

Selon l'AFSSAPS, « les prélèvements microbiologiques ne sont pas justifiés en pratique courante dans la majorité des cas » ; ils ne peuvent être proposés qu'en cas de parodontite agressive et parodontite récurrente et/ou réfractaire au traitement. « Le choix des antibiotiques doit être fait en fonction des bactéries pathogènes **supposées** présentes » (...)

Or, nous avons vu précédemment que la composition de la flore sous-gingivale, ainsi que les niveaux d'espèces pathogènes, varient considérablement d'un sujet à l'autre, et même d'un site à l'autre. C'est la première raison qui justifie l'utilisation des tests microbiens, selon Haffajee et Socransky (2006).

La deuxième raison est que l'état clinique observable ne reflète pas nécessairement l'étendue et le stade de l'infection qui peut être très avancé alors que l'aspect extérieur du parodonte ne l'est pas encore (Baehni, 1996). Il est donc essentiel de pouvoir détecter de manière quantitative la présence de certaines bactéries pathogènes, le plus tôt possible, même sans état clinique grave. En effet, plus les

bactéries sont détectées tôt, moins l'infection sera étendue et grave, et moins le traitement sera lourd et invasif. Un test microbiologique précis qui quantifie les germes pathogènes, même en nombre très faible, et montre l'étendue de l'infection bactérienne est donc essentiel.

La condition pour l'utilisation de ces tests est que la connaissance de la flore sous-gingivale doit avoir un impact positif soit sur le diagnostic de la maladie, soit sur le plan de traitement et/ou les résultats de traitement ; ces derniers devant être supérieurs à ceux obtenus sans ces tests.

Ainsi, les bénéfices que l'on peut tirer de cette pratique sont :

4.2.1 Guider la thérapie parodontale

Le diagnostic microbiologique devrait améliorer notre capacité à identifier les sujets à risque de développer une maladie parodontale; il devrait améliorer le diagnostic parodontal et orienter les décisions de traitement (Baehni, 1996).

Chez les patients présentant un risque, ces méthodes de détection bactérienne permettent d'anticiper l'apparition et l'évolution des lésions parodontales et d'en limiter ainsi les destructions tissulaires.

La décision de prescrire ou non un traitement antibiotique et le choix de la molécule seront déterminés par les résultats de l'analyse. Par exemple, les patients positifs à *Aa* et *Pg* doivent être les premiers candidats à un traitement antimicrobien systémique (Van Winkelhoff, 2005).

Les résultats de l'analyse nous permettront d'identifier les différents profils microbiens des différents types d'infections parodontales, et ainsi adapter à chaque cas la thérapie parodontale la plus appropriée.

A chaque patient correspond UN traitement. Et même si les signes cliniques de la maladie sont importants au départ, cela n'implique pas forcément un traitement agressif, mais un traitement adapté aux espèces bactériennes présentes.

4.2.2 Adapter l'antibiothérapie à chaque cas: choix de la molécule

Les tests microbiens, grâce à l'identification des pathogènes présents, vont permettre d'optimiser l'utilisation des antibiotiques en évitant des prescriptions probabilistes.

La culture est dans ce cas la méthode de choix car l'antibiogramme fourni nous donne l'information sur l'antibiotique le plus approprié selon les espèces trouvées dans l'échantillon.

Pour l'analyse moléculaire, les thérapies antimicrobiennes sélectionnées sont généralement basées sur des profils de susceptibilité connus des micro-organismes cibles et sur l'efficacité documentée de la littérature ; la référence en France étant les recommandations de l'AFSSAPS juillet 2001.

Or, l'étude de Verner (2007) a montré qu'il existait une forte différence entre le choix de l'antibiotique basé sur le résultat d'un test de sensibilité aux antibiotiques, et celui basé sur les recommandations de l'AFSSAPS. Seulement 18% de corrélation existait entre les deux méthodes.

4.2.3 Eviter une antibiothérapie non justifiée

Une antibiothérapie (systémique ou locale) n'est pas anodine, elle ne devrait pas être entreprise sans investigation préalable par un test microbiologique. De plus, une distribution aveugle augmente les taux de résistances des bactéries, ce qui représente un problème essentiel et grandissant en médecine.

Flemmig et al (1998) ont montré qu'en l'absence de *Aa*, l'adjonction d'une thérapie antibiotique n'apporte pas de bénéfice clinique supérieur au débridement mécanique seul. Cette observation importante indique que la détection des patients positifs à *Aa* est utile et qu'un traitement complémentaire par antibiotique peut être évité chez les sujets n'hébergeant pas ce pathogène.

Winkel et al (2001) ont confirmé ces résultats avec *Pg* en notant que l'administration d'Amoxicilline + Métronidazole chez les patients négatifs à *Pg* avant le traitement n'apportait pas d'amélioration significative en terme de profondeur de poches et de nombre de sites avec poches supérieures à 5mm, comparé au groupe traité par placebo.

Ces observations soulignent que le traitement antibiotique adjoint à la thérapie mécanique ne bénéficie qu'à un groupe sélectionné de patients et confirment la notion que les tests microbiens avant la mise en place du traitement sont une approche diagnostique rationnelle dans les parodontites.

Ainsi, les mésusages des antibiotiques peuvent être réduits, contribuant à éviter l'augmentation des résistances antimicrobiennes (Van Winkelhoff, 2005).

4.2.4 Permettre un traitement plus ciblé

L'utilisation d'un test microbien avant la thérapie initiale permettra également de diminuer le coût du traitement et d'éviter certains traitements.

Comme nous l'avons vu précédemment, si des espèces telles que *Pi*, ou *Td* sont détectées seules, une thérapie mécanique par détartrage/surfaçage radiculaire suffira à traiter la maladie. A l'inverse, on sait que si l'on découvre la présence de *Pg* dans la flore du patient malade, il faudra nécessairement recourir à la chirurgie. Cela évitera le passage habituel par un DSR, puis la phase de cicatrisation de 6 mois et donc c'est un gain de temps pour le patient, et un moindre coût.

De plus, il a été démontré que l'utilisation appropriée des antibiotiques réduit le nombre total de dents ayant besoin de chirurgie (Loesche, 1991) ; alors que des débridements mécaniques répétés chez des patients avec une maladie continuellement active sont coûteux, longs, souvent inefficaces (Badersten, 1987), et peuvent de surcroît entraîner des récessions gingivales dans les sites peu profonds.

4.2.5 Vérifier l'efficacité du traitement, prévenir les récurrences et permettre la reconstruction

Les tests microbiens pourront également être utilisés pour vérifier l'efficacité du traitement mécanique entrepris et la stabilité de la maladie. Ils permettront de vérifier l'absence de pathogènes parodontaux au-dessus des seuils de détection car c'est un facteur de prédiction de progression et/ou de non résolution de la maladie (Van Winkelhoff, 2005).

Les faibles réponses au traitement chez les adultes avec parodontites ont été reliées à la présence de certaines espèces bactériennes. En effet, Dahlén et al (1996) rapportent que les sujets présentant une récurrence de la maladie démontraient une ré-émergence d'espèces bactériennes « marqueurs » (*Aa*, *Pg*, *Pi*) dans la plupart des sites, et que la présence de ces pathogènes était associée à une perte d'attache récurrente. Selon Van Winkelhoff (2005), *Aa* a été identifié comme facteur de risque microbien pour les faibles réponses au traitement, et la persistance de ce micro-organisme est associée à une récurrence de la maladie dans les parodontites juvéniles localisées.

De telles études suggèrent que la détection et/ou le niveau de certaines espèces peut être utilisé pour guider la maintenance thérapeutique. Ainsi, si les résultats des tests bactériens lors des phases de

maintenances sont bons, on pourra alors proposer au patient des phases de restaurations telles que l'implantologie ou l'ODF, en limitant les risques d'échec.

4.3 A quels stades les utiliser ?

Les analyses microbiologiques doivent être utilisées lorsque les informations ont le pouvoir de diriger le clinicien vers la stratégie de traitement la plus efficace (Van Winkelhoff, 2005).

Cliniquement, elles trouvent leur intérêt à différents stades du traitement parodontal.

4.3.1 Phase de diagnostic

L'analyse de la flore sous-gingivale permet d'aboutir à un diagnostic microbiologique. Comme nous l'avons vu précédemment, un diagnostic microbien est parfois désirable dans la phase diagnostique pour évaluer le type et le degré d'intervention thérapeutique nécessaire. Il permet ainsi de sélectionner le traitement le plus approprié basé sur les besoins de traitement individuels des patients, en fonction de leur composition de flore sous-gingivale.

Cependant, selon Baehni (1996), les tests microbiologiques ne doivent pas s'appliquer aux patients présentant une parodontite chronique car, dans ce cas, le traitement conventionnel (DSR avec ou sans chirurgie) montre l'arrêt de la progression de la maladie dans la plupart des cas (Lindhe, 1989).

4.3.2 Phase de réévaluation et maintenance

Le diagnostic microbien permet de contrôler la progression de la maladie. Parce qu'une diminution marquée des pathogènes parodontaux est associée à une stabilité parodontale, une analyse microbienne de la flore sous-gingivale peut être réalisée à la fin de la phase active de traitement pour tester les pathogènes restants et aider à évaluer l'efficacité des mesures anti-infectieuses (Van Winkelhoff, 2005). La fin de la thérapie sera déterminée par les résultats de l'analyse microbiologique, et non par de simples observations visuelles.

Des études suggèrent que les niveaux élevés de certaines espèces, comme *Aa*, *Pg*, *Tf*, *Pi*, sont associées à une augmentation du risque d'une nouvelle perte d'attache (Haffajee et al, 1991).

Les patients présentant une récurrence de la maladie pendant la phase de maintenance peuvent bénéficier d'un nouveau débridement mécanique et/ou de procédures chirurgicales, ou d'administration d'antimicrobien. Les tests microbiens vont alors guider le choix de l'antibiothérapie. Les patients positifs à *Aa* et/ou *Pg* ou présentant de hauts niveaux de *Tf*, devront bénéficier d'une antibiothérapie. Cela permettra également d'estimer les délais des rendez-vous de maintenance.

4.3.3 Cas des parodontites réfractaires

Les patients avec parodontites réfractaires peuvent bénéficier de tests microbiologiques pour identifier les espèces bactériennes présentes, ainsi que leur niveau, qui pourront être ciblées dans le futur traitement antimicrobien.

4.3.4 Phase de restauration

Il est essentiel de rétablir une santé parodontale avant de réaliser des restaurations telles que régénération osseuse, implantologie ou ODF, afin d'assurer la réussite de ces traitements. Une analyse

microbiologique permettra de vérifier la suppression des pathogènes parodontaux à la fin de la phase thérapeutique, permettant la réalisation de ces interventions (Van Winkelhoff, 2005).

Elle peut aussi aider à diagnostiquer les patients ayant besoin d'un traitement parodontal avant la mise en place d'implants, notamment chez les sujets avec des antécédents de parodontites. En effet, il a été démontré dans de nombreux articles que la flore de l'environnement oral déterminait largement la composition de la flore se développant autour des implants.

Ainsi, selon les travaux de la Fédération Européenne de Parodontologie (2008), des conditions pathologiques de l'environnement oral, comme la persistance d'une parodontite incomplètement traitée, peuvent favoriser la colonisation des sites implantaire par des micro-organismes pathogènes, et induire le développement d'une péri-implantite.

Dans leur étude de 2008, Lindhe et Meyle ont conclu que les péri-implantites se développent sur 28 à 56% des sujets étudiés. Les facteurs de risque les plus importants sont une hygiène orale insuffisante, des antécédents de parodontite et la consommation de tabac. Or, les péri-implantites sont l'une des principales causes d'échec de traitement implantaire.

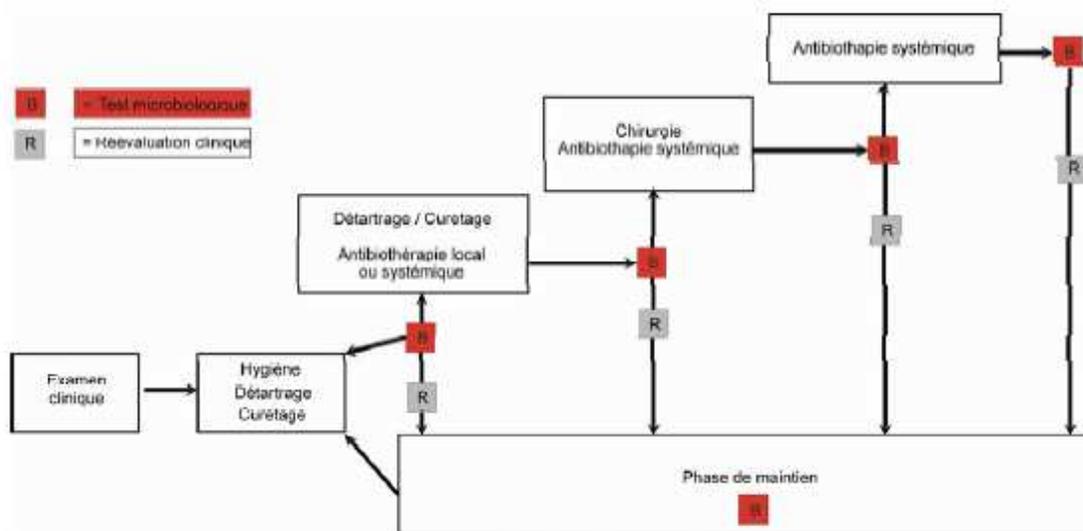


Fig 4.1 Place des tests bactériologiques dans le traitement (Baehni,2007)

4.4 Précautions d'interprétation

L'interprétation des résultats d'analyses microbiologiques joue un rôle majeur dans la décision thérapeutique. En effet, la présence de certains pathogènes, indiqués par les résultats de l'analyse, peut mener le clinicien à croire que les antibiotiques sont nécessaires pour leur élimination ; ainsi, les tests microbiens peuvent mener à une augmentation des prescriptions d'antibiotiques. Or, beaucoup d'espèces détectées dans les sites malades sont fréquemment isolées, mais en faible nombre, chez des sujets sains. Par conséquent, la colonisation par ces micro-organismes n'est pas toujours synonyme de

maladie (Baehni, 1996). Les tests microbiens ne doivent donc pas être utilisés sans une évaluation attentive de l'histoire du patient et de son statut clinique.

Deuxièmement, les isolats d'une espèce bactérienne donnée n'ont pas tous le même degré de virulence. Par exemple, l'expression de la leucotoxine peut varier entre les souches de *Aa* ; les diverses souches de *Pg* peuvent varier dans leur production d'enzymes protéolytiques. Ceci explique pourquoi des espèces supposées être pathogènes peuvent être détectées dans des sites sains.

C'est pourquoi les tests diagnostiques ne devraient pas se limiter à cibler les espèces, mais plutôt les souches virulentes des espèces. De même, il faut absolument tenir compte de la charge bactérienne totale, ainsi que des charges bactériennes de chaque espèce recherchée.

4.5 Conclusion

Au cours des dernières années, des avancées technologiques remarquables ont été faites dans le domaine de la microbiologie orale, permettant d'approfondir nos connaissances sur les facteurs étiologiques des maladies parodontales.

Des méthodes de détection des pathogènes suspectés ont été mis à disposition des cliniciens pour tenter de mettre ce savoir en pratique et d'optimiser nos thérapeutiques ; nous devons profiter de cette chance pour le bien de nos patients.

Un choix de traitement judicieux et adéquat à chaque patient dépend d'un diagnostic précis, basé sur les données cliniques et microbiologiques.

5. ANALYSE BACTERIENNE DE LA FLORE PARODONTOPATHOGENE : ETUDE CLINIQUE

5.1 Introduction

Les maladies parodontales sont des maladies infectieuses opportunistes se développant sur des hôtes susceptibles. Les signes cliniques des parodontites chroniques sont sensiblement les mêmes chez tous les sujets, à divers degrés : inflammation gingivale, saignement spontané ou provoqué, présence de poches parodontales, perte osseuse, halitose ... mais tous ne sont pas retrouvés systématiquement. Malgré cette apparente similitude, la flore microbienne sous-gingivale des patients peut présenter de grandes différences.

Cela aura-t-il un impact sur les traitements entrepris, qui sont généralement les mêmes pour toutes les parodontites chroniques ?

Faudrait-il prévoir des traitements adaptés à la flore microbienne des patients ?

Les traitements actuellement réalisés sont-ils efficaces sur tous les pathogènes parodontaux ?

C'est ce que nous avons tenté d'étudier.

Cette étude réalisée grâce au soutien du département de Parodontologie de la faculté de Nantes, a pour objectif d'étudier quantitativement et qualitativement la flore sous-gingivale de patients atteints de parodontites chroniques. Des prélèvements ont été effectués avant et après le traitement dans le but de comparer les résultats, et ainsi voir l'efficacité du traitement entrepris.

Dans cette étude, le traitement consistait uniquement en un surfaçage à l'aveugle des secteurs atteints, puis à une réévaluation au minimum 60 jours après le traitement. Il n'y a pas eu de traitement chirurgical, ni de traitement antibiotique.

Nous pourrions également essayer de classer les sujets en fonction de leur profil microbien en comparant avec ceux établis par Verner dans son étude de 2007 sur des patients nantais et toulousains.

5.2 Matériels et méthode

5.2.1 Patients et sites de prélèvements

Des prélèvements bactériens ont été réalisés au départ sur 19 patients (à J0) par l'opérateur 1. Seulement 12 ont été revus à la réévaluation (J60) par l'opérateur 1, car les autres n'ont pas souhaité réaliser les surfaçages.

Nous avons donc utilisé les résultats d'un deuxième opérateur, dont les prélèvements bactériens avaient été faits pour une autre étude, dans les mêmes conditions. Cela comprend 9 patients atteints de parodontites chroniques et non fumeurs.

La population finale étudiée est composée de 21 patients (12 femmes, 9 hommes) atteints de parodontites chroniques, âgés de 39 à 65 ans. La moyenne d'âge est 55,7 ans.

Deux prélèvements sont réalisés par patient : 1 pour la culture, 1 pour la PCR. Le même site est prélevé pour les deux prélèvements. Mais les résultats de la culture ne seront pas utilisés dans cette étude. Le site de prélèvement choisi est celui qui semble le plus actif par sa profondeur de poche (au moins égale à 5mm) et son saignement au sondage ; la poche la plus profonde est généralement choisie, sauf si elle est difficile d'accès, auquel cas on choisira la deuxième poche la plus profonde.

5.2.2 Critères d'inclusion

- Les patients se présentant au CSD de Nantes ayant été diagnostiqués atteints de parodontite chronique (diagnostic clinique),
- Les patients ayant accepté de participer à l'étude, sans limite d'âge.

5.2.3 Critères de non inclusion

- Les patients ayant subi un traitement antibiotique depuis moins de 3 mois qui pourrait fausser les résultats ;
- Les patients ayant moins de trois sites actifs ;
- Les patients ayant reçu un traitement parodontal depuis moins d'un an ;
- Les parodontites agressives par manque de représentation ;
- Les femmes enceintes.

5.2.4 Protocole clinique

Le prélèvement est réalisé après le sondage parodontal, avant le détartrage.

Le site choisi est nettoyé à l'aide d'une compresse stérile et de sérum physiologique pour éliminer le biofilm bactérien supra-gingival. On isole le site avec des compresses stériles.

L'échantillon est prélevé avec un cône de papier stérile, de diamètre 40, inséré dans la poche parodontale à l'aide de précelles non stériles, et maintenu 15 secondes.

Le cône est rapidement déposé dans l'un des 2 tubes, choisi de façon aléatoire.

Deux tubes sont fournis par le laboratoire :

- L'un pour la culture (bouchon rouge), contenant un milieu de transport
- L'autre pour la PCR (bouchon vert).

La même opération est répétée avec un deuxième cône de papier stérile inséré dans la même poche parodontale, et déposé dans l'autre tube.

Dans le tube rouge, le cône de papier doit être au contact du milieu liquide de transport.

Les deux tubes sont fermés hermétiquement.

Le tout est envoyé au laboratoire d'analyse par la poste.

Le même protocole sera réalisé lors de la réévaluation, à J60.

5.2.5 Le laboratoire d'analyse

Le laboratoire choisi est le laboratoire Blanc, situé à Carcassonne dans l'Aude.

Il analyse la présence de neuf bactéries : *Aa*, *Pg*, *Tf*, *Td*, *Pi*, *Pm*, *Fn*, *Cr*, *Ec*, et quantifie la charge bactérienne totale.

Le détail des procédures d'analyses pour la culture et la PCR ne nous ont pas été communiqués par le laboratoire pour des raisons de confidentialité.

Les résultats de l'analyse sont reçus une semaine après l'envoi. Le laboratoire propose des recommandations thérapeutiques en matière de prescription d'antibiotiques pour chaque patient.

5.3 Résultats

5.3.1 Charge bactérienne totale

La moyenne de la charge bactérienne totale des 21 patients est :

J0 : $32.10^8 \pm 3,9$

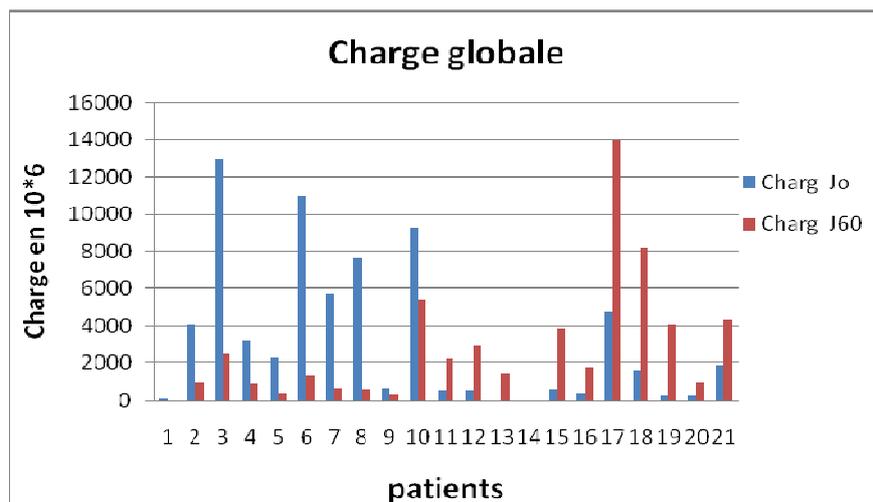
J60 : $27.10^8 \pm 3,3$.

La diminution de la charge bactérienne est de 15,8% à la réévaluation. Mais aux vues des écarts-types, ces valeurs sont difficilement exploitables.

Si l'on regarde les médianes, qui étudient la distribution de la population, voici ce que nous obtenons :

J0 : 1640

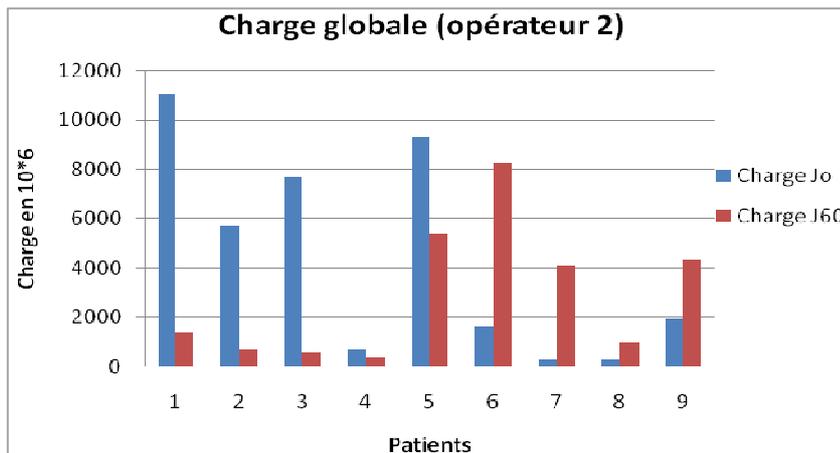
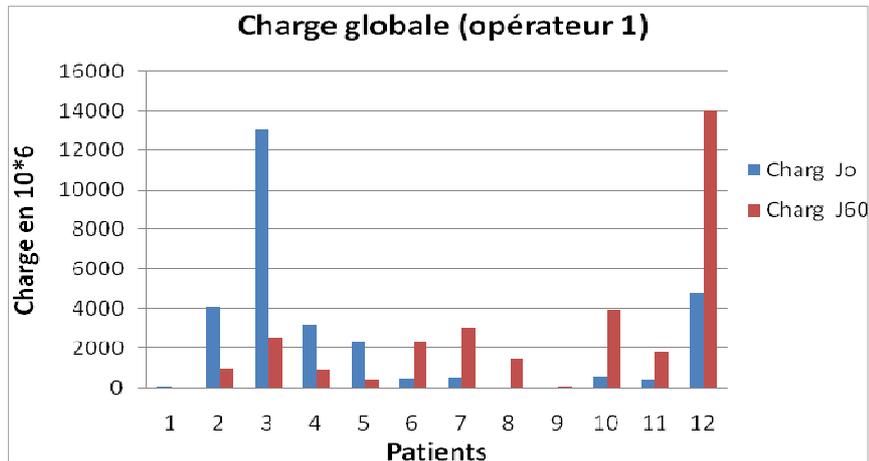
J60 : 1500.



A la réévaluation (J60), on constate une diminution de la charge bactérienne totale dans 10 cas, soit pour 47,6% des cas ; et une augmentation de la charge bactérienne totale dans 11 cas, soit pour 52,4% des cas.

Une étude statistique par le Wilcoxon non apparié nous indique que la différence entre J0 et J60 n'est pas significative ($p > 0,05$).

Existe-t-il une différence de résultats entre les opérateurs 1 et 2 ?



Pour l'opérateur 1, la charge bactérienne totale a diminué chez 5 patients sur 12, soit dans 41,6% des cas. Pour l'opérateur 2, elle a diminué chez 5 patients sur 9, soit dans 55,5% des cas.

Le test Mann Whitney nous indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les données de l'opérateur 1 et celles de l'opérateur 2 ($p > 0,05$).

5.3.2 Pourcentage de parodontopathogènes totaux

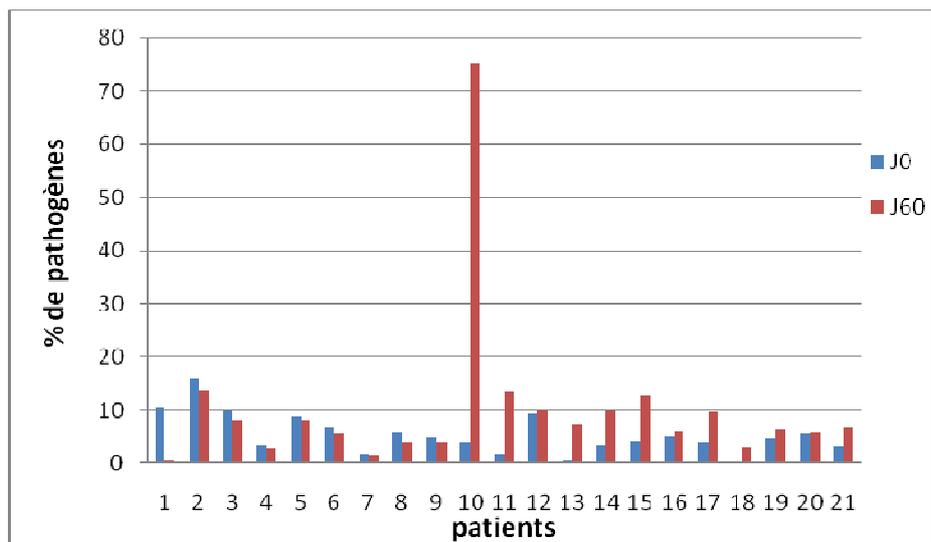
La moyenne pour les 21 patients, du pourcentage de pathogènes par rapport à la charge bactérienne totale, est :

A J0 : 5,4% \pm 3,7

A J60 : 10,2% \pm 15,4.

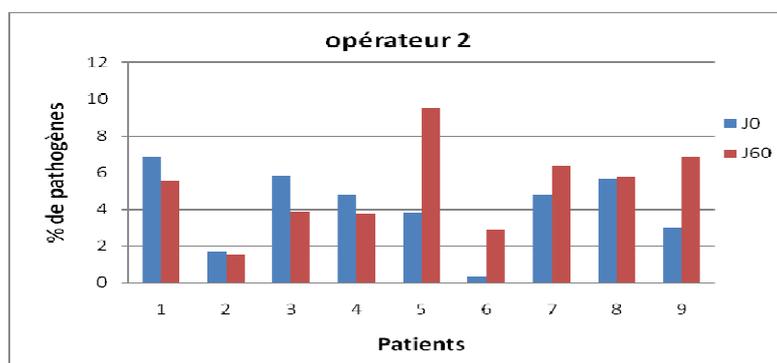
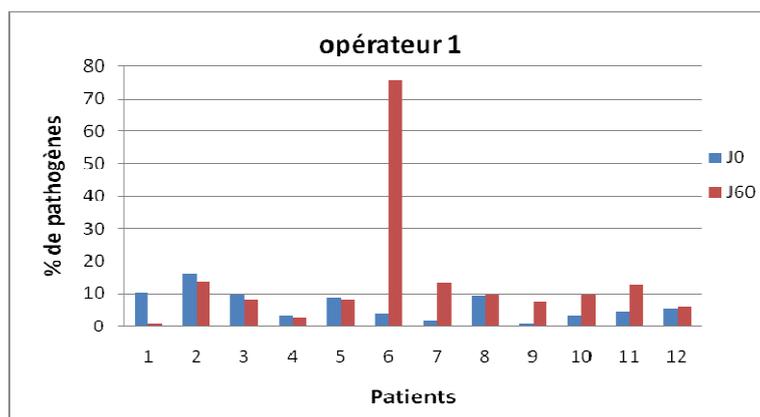
L'augmentation de la charge de pathogènes à la réévaluation serait de 88%. Mais l'étude des données par le test Wilcoxon nous indique que les résultats ne sont pas significatifs ($p > 0,05$).

Etudions le pourcentage de parodontopathogènes recherchés totaux, par rapport à la charge bactérienne totale, sur chacun des patients.



Ce pourcentage est diminué à la réévaluation chez 9 patients sur 21, soit dans 42,8% des cas.

Pour l'opérateur 1, il est diminué chez 5 patients, soit dans 41,6% des cas. Ces patients ne sont pas systématiquement les mêmes que ceux pour lesquels la charge bactérienne totale a diminué. Deux patients seulement correspondent.



Pour l'opérateur 2, il est diminué chez 4 patients sur 9, soit dans 44,4% des cas. Ces patients ne sont pas systématiquement les mêmes que ceux pour lesquels la charge bactérienne totale a diminué. Trois patients seulement correspondent.

Le test Mann Whitney nous indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux opérateurs, à J0 et J60.

5.3.3 Pourcentage de parodontopathogènes individuels

Les données entre J0 et J60 ont été analysées par le Wilcoxon apparié.

Données brutes :

	Pg J0	Pg J60	Tf J0	Tf J60	Td J0	Td J60	Pi J0	Pi J60	Pm J0	Pm J60	Fn J0	Fn J60
	0	2,7	0	1	0	0	0	0	0,15	1,1	3,43	3,9
	0	0,695	0	0,6	0	0,86	0	5,21	0,67	0,317	1,14	4,78
	0	0	0	3,16	1,28	0,36	6,94	4	0,21	0,06	1,05	1,6
	0	0	0	0,18	0	0,37	0	0,05	0,08	0,45	0,68	4,04
	0	0,0	0	1,6	0,02	1,4	0	0	0,59	0,22	2,63	3,7
	0	0	0	0,02	0	0	0,01	0,015	0,02	0,002	8,84	0,405
	2,59	2,82	0	0,46	6,83	6,41	2,91	2	0,31	0,023	3,3	1,667
	0,88	4	0	1,94	1,8	3,33	0	0,077	0,01	0,61	0,47	2,1
	2,42	1,85	0,91	0,62	0,84	0,78	2,17	2,07	0,28	0,57	3,09	1,93
	0	1,08	0,09	0,092	0,15	0,1	2,55	0	0,15	0,004	0,2	1,08
	0	0	1,8	2,47	1,2	0,2	0	0	0,49	0,314	0,45	1,57
	3,01	4	0,38	1,25	2,79	1,9	0,05	0	0,33	0,035	2,24	0,825
	0,45	0,19	0,68	0,57	0,1	0,43	0,007	0,030	0,54	0,22	5,03	3,78
	0,08	0,001	0,2	0,005	0,28	0,005	0,22	0,06	0,005	0,00	0,09	0,84
	1,11	1,87	0,9	1,51	0,01	0,67	0,02	1,46	0,04	0,51	1,11	3
	0	0,01	0	0,4	0,0000	0,003	0	1,04	0,0	0,12	0,22	1,2
	0	0	0,15	0,24	0,02	0,3	0,003	0,00	0,16	0,05	2,88	2,66
	0	0	0,48	0,32	0,16	0,18	0,001	0,0000	0,16	0,11	3,66	2,02
	0,69	1,07	0,18	0,6	0,77	1,53	0,05	0,44	0,19	0,03	1,52	2,19
	1,15	0,07	0,96	0,54	0,46	1,81	0,28	0,13	0,02	0,25	2,73	2,28
	0,47	2,5	0,73	0,62	0,5	0,42	0	0,0003	0,07	0,08	1,01	2,41
nb de cas diminués en nombre et en %		4 19%		6 28,5%		8 38%		8 38%		13 62%		8 38%

Tableau 5.1 Nombre de patients avec diminution du pourcentage de pathogènes

Dans ce tableau, il n'y a que les cases jaunes et rose qui sont importantes à observer : elles représentent les cas où le pourcentage de l'espèce semble avoir diminué après traitement.

Le Wilcoxon nous indique que pour tous les parodontopathogènes, excepté *Tf*, il n'y a pas de différence significative entre J0 et J60 ($p > 0,05$). On ne peut donc rien conclure pour *Pg*, *Td*, *Pi*, *Pm*, et *Fn*, mais seulement supposer.

Concernant le complexe rouge, on constate que quand *Pg* diminue, *Tf* et *Td* diminuent aussi. Ce qui confirme les données de la littérature concernant les co-infections de *Pg* avec *Tf* et/ou *Td*.

D'après le tableau, *Td* serait réduit chez 38% des patients, alors que pour les autres espèces du complexe rouge, la réduction serait moindre (28,5% et 19%). *Td* semble donc mieux répondre au traitement mécanique que *Pg* et *Tf*, ce qui confirme que *Td* ne nécessite pas forcément de chirurgie, comme ce qui est décrit dans la littérature (Ellen, 2005).

Le pourcentage de *Pg* a diminué chez 4 patients, chez 6 patients pour *Tf*, chez 8 patients pour *Td* ; sur un total de 21 patients. Cela représente en moyenne 28% des patients.

La moyenne, pour les 21 patients, de chacun des pathogènes étudiés a été calculée :

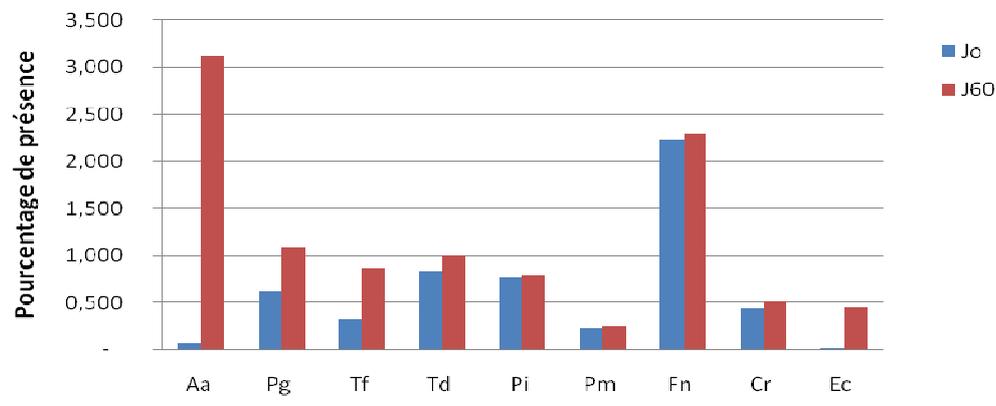
	J0	J60	Augmentation
Aa	0,07 ±0,2	3,1±1,4	5066%
Pg	0,61±0,97	1,1±1,4	80%
Tf	0,36±0,5	0,9±0,8	150%
Td	0,82±1,6	1±1,5	22%
Pi	0,72±1,72	0,79±1,4	10%
Pm	0,21±0,2	0,24±0,3	14%
Fn	2,18±2	2,29±1,2	5%
Cr	0,43±0,7	0,52±0,4	21%
Ec	0,03±0,07	0,45±0,78	1400%

Tableau 5.2 Variation de la moyenne de chacun des pathogènes

Les valeurs concernant Aa sont à relativiser du fait qu'à la réévaluation, un patient présente 64% de Aa, ce qui modifie considérablement la moyenne.

La moyenne sur l'ensemble des patients, de chacun des 9 parodontopathogènes a été calculée à J0 et à J60.

Moyenne des pathogènes

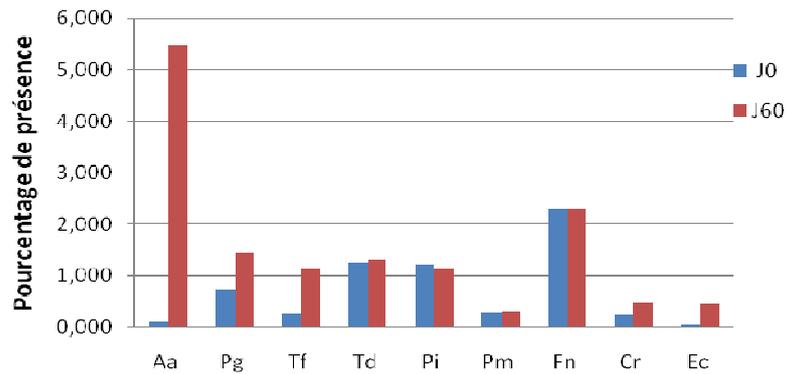


Par exemple, la charge de Pg à J0 représente, en moyenne, 0,62% de la charge de tous les parodontopathogènes. A J60, elle représente 1,1% de la charge de tous les parodontopathogènes.

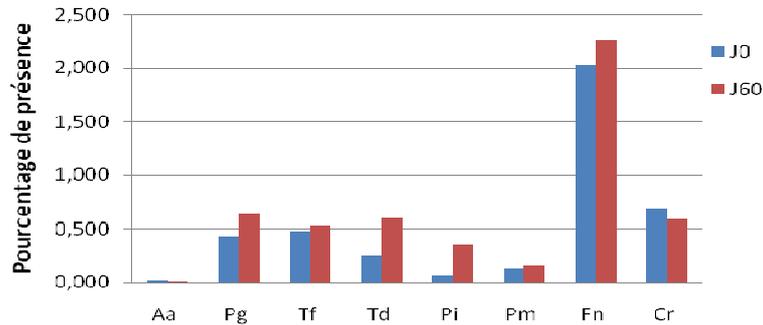
Pour tous les pathogènes, on constate une augmentation du pourcentage de présence à la réévaluation.

A-t-on des différences de résultats entre les opérateurs 1 et 2 ?

Opérateur 1



Opérateur 2



Il n'y a pas de différence significative entre les opérateurs 1 et 2 ($p > 0,05$).

5.3.4 Etude du complexe rouge

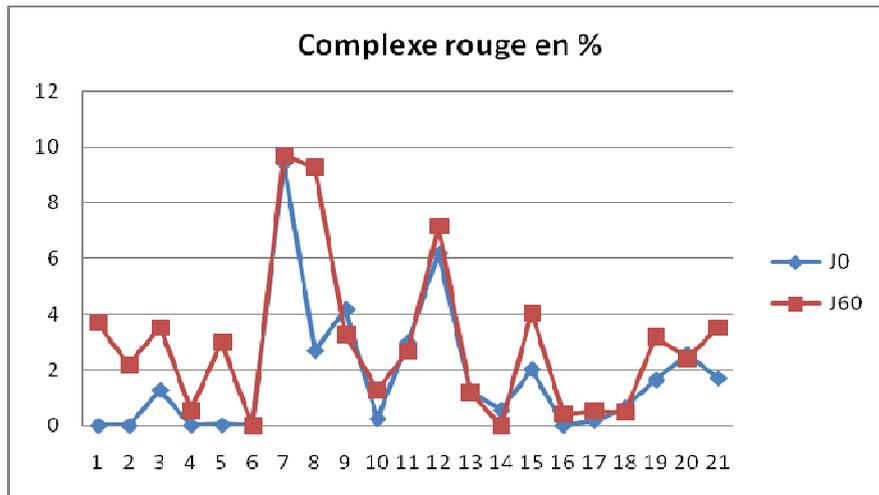
La moyenne, pour les 21 patients, du pourcentage des 3 espèces du complexe rouge (Pg+Tf+Td) est :

A J0 : 1,79%

A J60 : 2,94%

On observe une augmentation de 64%.

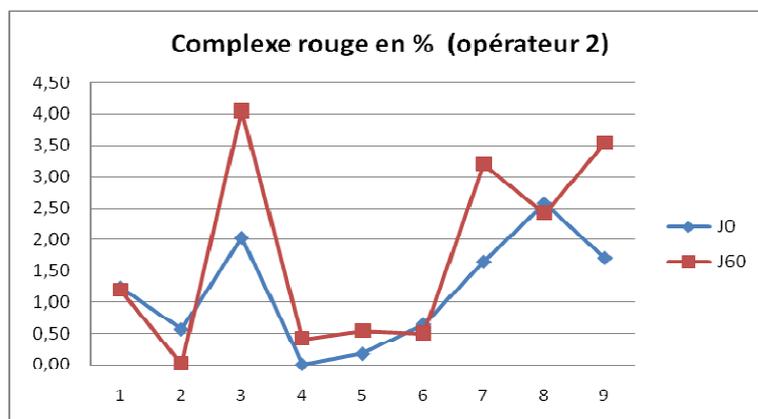
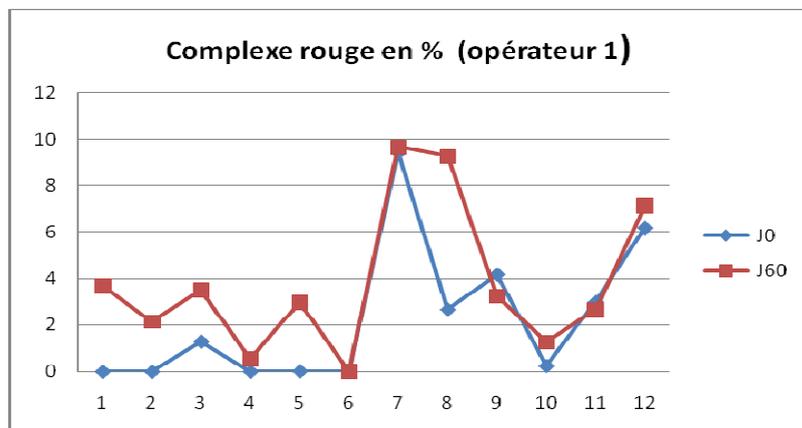
Etudions le pourcentage, par rapport à la charge bactérienne totale, de complexe rouge (Pg+Tf+Td) présent pour chacun des patients ; et voyons comment il évolue après le traitement.



On constate que le jour de la réévaluation, c'est-à dire après les surfaçages à l'aveugle, la charge de complexe rouge n'a diminué que chez 6 patients sur 12, soit dans 28,5% des cas.

Pour l'opérateur 1, la charge de complexe rouge a diminué chez 2 patients (n° 9 et 11) sur 12, soit dans 16,6% des cas. Pour l'opérateur 2, elle a diminué chez 4 patients (n°1,2,6 et 8) sur 9, soit dans 44,4% des cas.

On note une différence assez importante entre les deux opérateurs ; ce qui suggère un biais probable dans l'étude lié à l'opérateur.



5.3.5 Etude du complexe orange

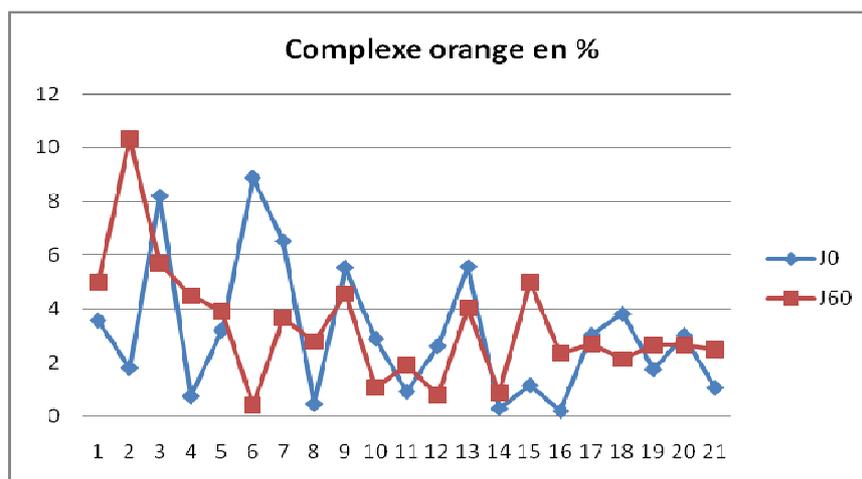
La moyenne, pour les 21 patients, du pourcentage des 3 espèces du complexe orange ($Pi+Pm+Fn$) est :

A J0 : 3,12%

A J60 : 3,31%

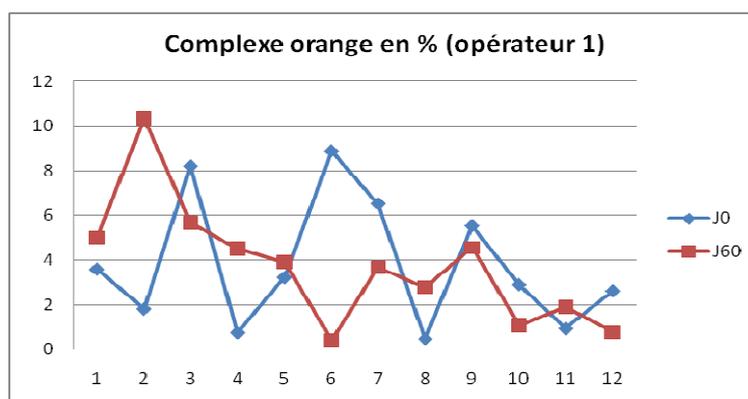
On observe une très légère augmentation de 6%.

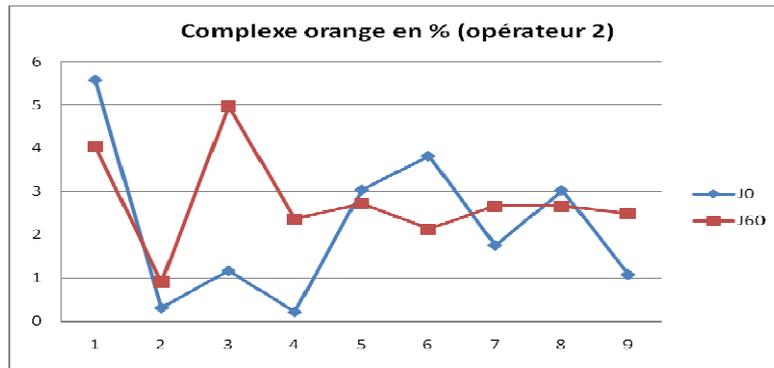
Etudions le pourcentage, par rapport à la charge bactérienne totale, de complexe orange ($Pi+Pm+Fn$) présent pour chacun des patients ; et voyons comment il évolue après le traitement.



A la réévaluation, on constate que le pourcentage des espèces du complexe orange a diminué chez 10 patients sur 21, soit dans 47,6% des cas. Il a augmenté chez 11 patients, soit dans 52,4% des cas.

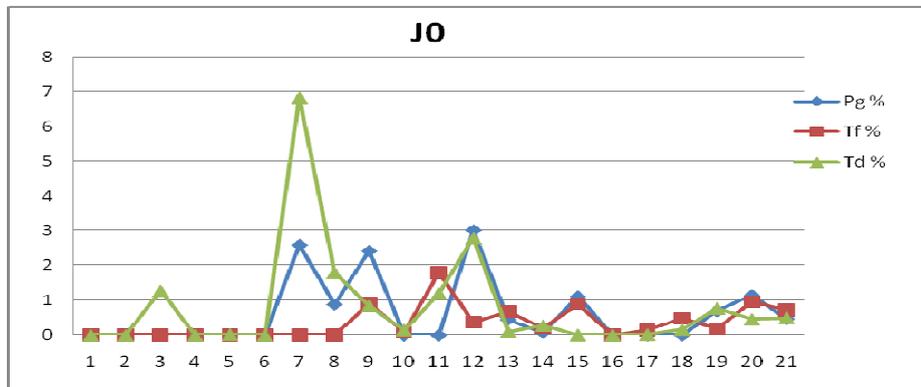
Pour l'opérateur 1, la charge de ces espèces a diminué chez 6 patients sur 12, soit dans 50% des cas. Pour l'opérateur 2, elle a diminué chez 4 patients sur 9, soit dans 44,4% des cas. On peut noter que la diminution est la même que pour le complexe rouge, mais une étude sur 9 patients n'est pas vraiment significative.



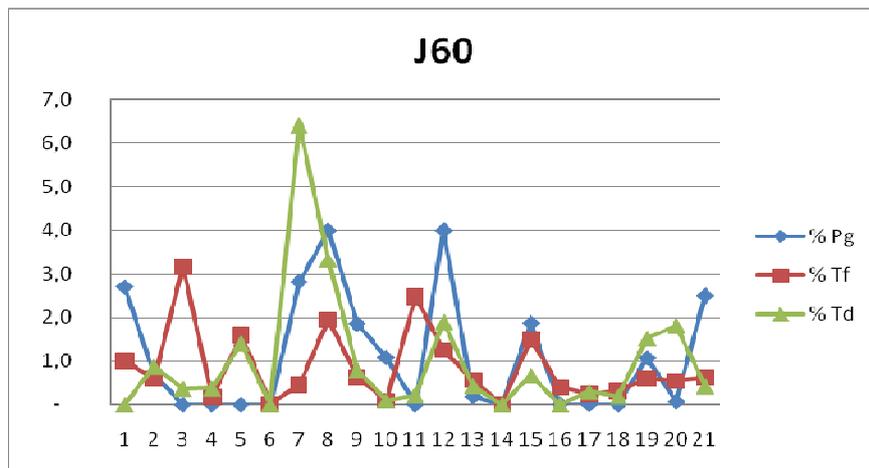


5.3.6 Fréquence de présence des pathogènes individuellement

5.3.6.1 Complexe rouge



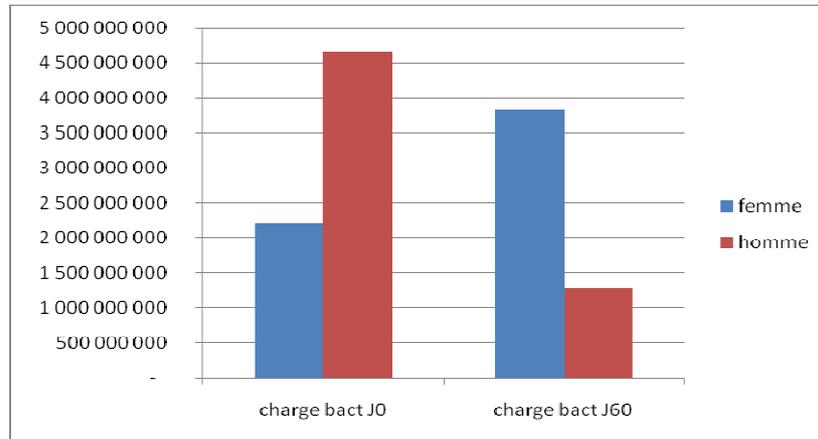
Td est l'espèce qui présente le plus d'écart entre les patients. *Tf* est l'espèce qui présente le moins d'écart.



5.3.6.2 Complexe orange

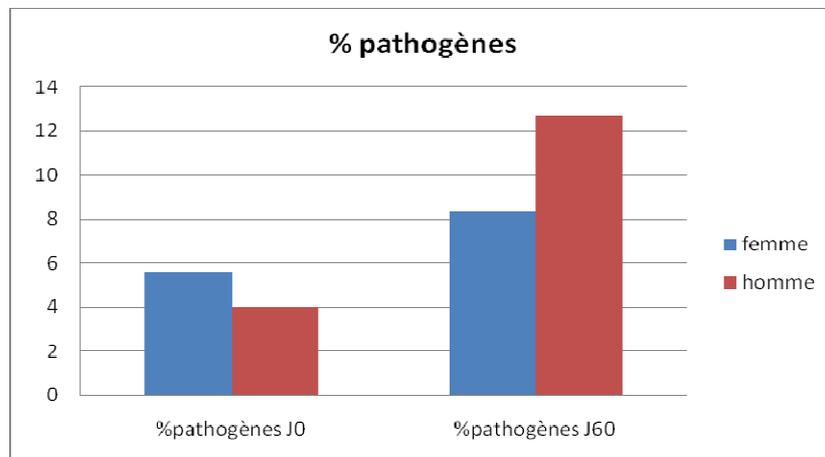
En comparant toutes les espèces entre elles, on note que *Fn* est bien l'espèce la plus présente et celle qui présente le plus de variation.
Pm est l'espèce la plus linéaire.

5.3.7 Influence du sexe



A J0, la charge bactérienne est presque deux fois plus importante chez les hommes que chez les femmes. A la réévaluation, la charge bactérienne chez les hommes a diminué de 72,6%. Chez les femmes, elle a augmenté de 74%.

Etudions le pourcentage de pathogènes présents, par rapport à la charge bactérienne totale, chez les hommes et les femmes.



Dans les deux cas, on observe une augmentation du pourcentage de parodontopathogènes.

Chez les femmes, le pourcentage de pathogènes est multiplié par 1,5.

Chez les hommes, il est multiplié par 3.

On observe une augmentation des pathogènes chez les hommes, alors qu'il y a simultanément une diminution de la charge bactérienne totale.

On peut penser que c'est l'éducation à l'hygiène bucco-dentaire, réalisée systématiquement dans le cadre du traitement par le praticien, qui est à l'origine d'une diminution de la charge bactérienne totale

chez les hommes ; ces derniers étant temporairement plus appliqués dans leur hygiène dentaire sous l'effet de l'explication de leur maladie parodontale.

Alors que chez les femmes, on peut penser qu'initialement, avant même la première consultation, la méthode de brossage est meilleure, et que la motivation au contrôle de plaque influe peu sur leurs habitudes. De ce fait, la différence de charge bactérienne est beaucoup moins nette.

Cette hypothèse a été vérifiée dans la littérature : En effet, Ziebolz et ses collaborateurs (2008) ont étudié la santé orale chez 90 femmes allemandes, d'âge moyen 21,7 ans, et 90 hommes allemands (d'âge moyen 21,4ans). Il en résulte que les femmes montrent significativement une meilleure hygiène orale que les hommes ; et que des poches plus profondes sont plus souvent observées chez les hommes que chez les femmes.

De même, Kawamura, dans une étude de 2008, a montré que les filles présentaient des indices d'hygiène orale plus élevés que chez les garçons.

Cependant, dans les deux cas, l'augmentation du pourcentage de parodontopathogènes montre que les traitements réalisés ont été inefficaces pour stabiliser la maladie.

5.3.8 Etude des profils bactériens

Au cours d'une étude réalisée en 2007, au laboratoire de Toulouse, sur 157 patients, Verner et coll. ont déterminés cinq profils bactériens retrouvés les plus fréquemment chez les patients, à partir de l'étude du pourcentage de présence des bactéries pathogènes.

Nous avons classé nos patients selon ces profils pour comparer nos résultats à cette étude.

Profils bactériens	Pourcentage J0	Pourcentage J60	Pourcentage Verner
Profil 1: <i>Pg, Tf, Td, Pi, Fn</i>	23,80%	38%	53,5%
Profil 2: <i>Pg, Tf, Td, Fn</i>	4,80%	9,50%	13%
Profil 3: <i>Aa, Pg, Tf, Td, Pi, Fn</i>	9,50%	14%	9,5%
Profil 4: <i>Tf, Td, Pi, Fn</i>	9,50%	9,50%	6,3%
Profil 5: <i>Tf, Td, Fn</i>	4,80%	9,50%	3,82%
Sans profil	47,60%	19%	

Tableau 5.3 Pourcentage de présence des profils bactériens identifiés par Verner

Les patients de la catégorie « sans profil » ne présentent aucun des profils déterminés par Verner.

Les résultats de la réévaluation sont plus proches de ceux de Verner que les résultats de J0. Ceci peut s'expliquer par une amélioration de la technique de prélèvement à la réévaluation.

Comparons maintenant le pourcentage de présence des bactéries pathogènes, c'est-à-dire, quelle est l'espèce la plus souvent présente ?

Bactéries pathogènes	Pourcentage J0	Pourcentage J60	Pourcentage Verner
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	28,5%	28,5%	17%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	47,6%	66,6%	84%
<i>Tannerella forsythia</i>	57,1%	100%	100%
<i>Treponema denticola</i>	76,2%	90,4%	92%
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	100%	100%	99%
<i>Prevotella intermedia</i>	61,9%	66,6%	72%
<i>Peptostreptococcus micros</i>	95,2%	90,4%	
<i>Campylobacter rectus</i>	57,1%	95,2%	

Tableau 5.4 Pourcentage de présence des bactéries pathogènes

Nous constatons que pour *Fn*, *Pm* et *Tf* J60, nos résultats sont très proches.

Les espèces les plus souvent rencontrées sont *Fusobacterium nucleatum* et *Tannerella forsythia*.

Ce résultat est en accord avec la littérature qui indique que *Fn* est l'espèce la plus fréquemment rencontrée dans la flore bactérienne des sujets sains et avec parodontite.

5.4 Discussion

Certains résultats peuvent sembler incohérents, mais il faut tenir compte des biais de l'étude.

5.4.1 Les biais de l'étude

5.4.1.1 Echantillon

Le biais le plus important de l'étude est sans aucun doute le faible nombre de patients étudiés. La majeure partie de nos résultats ne sont pas significatifs car l'échantillon est insuffisant pour avoir une représentation permettant de réaliser des statistiques et tirer des conclusions significatives.

5.4.1.2 Expérience

Le deuxième biais possible de l'étude est l'expérience de l'opérateur quant-à la technique de prélèvement. Il s'agissait, pour l'opérateur 1, de ses premiers prélèvements bactériens. Aux vues des résultats, on peut supposer qu'il y a eu une amélioration de la technique au fil des prélèvements. En effet, on remarque que les six premiers prélèvements indiquent une absence totale de *Pg* et *Tf*, et que *Td* est présent seulement dans deux prélèvements ; alors qu'à la réévaluation, on trouve ces espèces.

La littérature nous indique que les espèces du complexe rouge sont fréquemment retrouvées dans les parodontites. Or, nos résultats ne vérifient pas ce consensus, particulièrement pour les résultats à J0. On peut considérer qu'il s'agit d'une incohérence liée à la technique.

De même, en ce qui concerne le pourcentage de présence des bactéries pathogènes, les résultats de la réévaluation sont plus proches de ceux de l'étude de Verner que les données résultant des premiers prélèvements.

C'est la raison pour laquelle nous avons comparé les résultats avec un autre opérateur.

5.4.1.3 Technique d'échantillonnage

- Le prélèvement a été effectué à partir d'une pointe de papier stérile. C'est une technique reproductible mais elle contient principalement la plaque sous-gingivale non adhérente, et ne peut pas inclure la présence de *Aa* et *Pg* ayant envahi les tissus gingivaux.
- Un seul site a été échantillonné. Or, des études sur la distribution topographique des bactéries pigmentées en noir ont montré que ces micro-organismes n'étaient pas distribués dans la bouche de la même façon, mais qu'ils étaient concentrés en « clusters » dans certains endroits (Mombelli et al, 1991).

De plus, de nombreux auteurs s'accordent à dire que la poche la plus profonde et saignant au sondage contient probablement le plus d'espèces suspectées pathogènes (Mombelli et al, 1991) ; mais d'autres auteurs suggèrent que plusieurs sites doivent être échantillonnés pour avoir une détection fiable des espèces telles que *Aa* et *Pg* (Baehni, 1996).

- Contamination possible de l'échantillon par défaut de manipulation (sonde parodontale) ou de transport ; ou bien collecte insuffisante (parfois, plusieurs tentatives de prélèvements dans la poche parodontale avant la définitive).

5.4.1.4 Traitement parodontal

Il faut également tenir compte du fait que les surfaçages ont été réalisés par des étudiants, manquant d'expérience en ce domaine. Néanmoins ce paramètre est à relativiser puisque le travail effectué par les étudiants est toujours supervisé par des professeurs.

5.4.1.5 Compliance du patient

Pour une réussite du traitement parodontal, il est indispensable d'obtenir une bonne coopération du patient. Il doit être réceptif lors de nos instructions d'hygiène bucco-dentaire afin de maintenir au mieux son contrôle de plaque. Il doit suivre ses rendez-vous de maintenance. Or, lors de la réalisation de nos prélèvements, nous avons pu nous apercevoir que certains patients de l'étude n'étaient pas suffisamment motivés. Cela a forcément un impact sur le contrôle de plaque, donc sur nos résultats microbiologiques.

5.4.2 Différence entre les opérateurs

Concernant la charge bactérienne totale, l'opérateur 1 a obtenu une diminution dans 41,6% des cas ; et l'opérateur 2 dans 55% des cas. On observe une différence d'environ 14%.

Concernant le pourcentage de pathogènes par rapport à la charge bactérienne totale, l'opérateur 1 présente une diminution dans 41,6% des cas ; et l'opérateur 2 dans 44% des cas.

Concernant le pourcentage d'espèces du complexe rouge, l'opérateur 1 a obtenu une diminution dans 16,6% des cas, et l'opérateur 2 dans 44,4% des cas. La différence constatée ici est assez importante : 27,8%.

Concernant le pourcentage d'espèces du complexe orange, l'opérateur 1 a obtenu une diminution dans 50% des cas ; et l'opérateur 2 dans 44% des cas.

Sur les deux premiers paramètres, le Mann Whitney test indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux opérateurs. On peut donc mélanger les deux pools de prélèvements, et considérer qu'il n'y a pas de biais lié à l'opérateur.

5.4.3 Impact du traitement sur la flore bactérienne de la poche parodontale

Le traitement parodontal entrepris sur les 21 patients de l'étude a été un surfaçage à l'aveugle des dents atteintes par la maladie (poches supérieures à 4mm), en plusieurs séances ; c'est la thérapeutique initiale. Une éducation à l'hygiène bucco-dentaire et une explication du processus de la maladie est adjointe au traitement. Ni traitement antibiotique, ni traitement chirurgical n'a été entrepris. La réévaluation a été faite au minimum 2 mois après la fin des surfaçages.

Résumons nos résultats à la réévaluation :

Les surfaçages ont permis une diminution de la charge bactérienne totale dans 47,6% des cas ; c'est-à-dire que pour 52,4% des patients, il y a eu une augmentation.

Le pourcentage de pathogènes totaux est diminué dans 42,8% des cas à la réévaluation, soit moins de la moitié des patients.

En moyenne :

- Concernant la charge bactérienne totale : diminution de 15,8%.
- Concernant le pourcentage de pathogènes totaux : augmentation de 88%.
- Concernant le pourcentage de Pg : augmentation de 80%.
- Concernant le pourcentage de Tf : augmentation de 150%.
- Concernant le pourcentage de Td : augmentation de 22%.
- Concernant le pourcentage de Pi : augmentation de 10%.
- Concernant le pourcentage de Pm : augmentation de 14%.
- Concernant le pourcentage de Fn : augmentation de 5%.
- Concernant le pourcentage de Cr : augmentation de 21%.
- Concernant le pourcentage de Ec : augmentation de 1400%.
- Concernant le pourcentage de Aa : augmentation de 5066%.

Les résultats concernant Aa ne sont pas significatifs puisque 6 patients seulement présentent ce pathogène, dont 1 présente 64% de ce pathogène à la réévaluation. Cette valeur fausse la moyenne. En effet, la moyenne obtenue à la réévaluation est de 3,1, et l'écart-type de 14 ! L'importance de l'écart-type montre que l'interprétation de cette moyenne est difficile.

On remarque que, en moyenne, toutes les espèces pathogènes recherchées ont augmenté à la réévaluation ; et notamment les espèces du complexe rouge qui sont caractéristiques des maladies parodontales. Cependant, ces résultats correspondent à une moyenne calculée pour l'ensemble des patients ; moyenne qui peut être faussée par certaines valeurs aberrantes à cause du faible nombre de patients.

Regardons maintenant ce qui se passe pour chaque patient et chaque pathogène :

	Pg	Tf	Td	Pi	Pm	Fn
Nb de cas avec diminution	4	6	8	8	13	8
Pourcentage de cas avec diminution	19%	28,5%	38%	38%	62%	38%

Ce tableau indique que *Pg* a été diminué dans 19% des cas seulement ; c'est l'espèce la moins affectée par le traitement. Après *Pg* l'espèce la moins affectée est *Tf* avec 28,5% des cas seulement.

On peut supposer, aux vues de ces résultats, que ces deux espèces sont relativement résistantes aux surfaçages à l'aveugle, et que la chirurgie sera nécessaire pour les éliminer ; ce qui est en concordance avec les données de la littérature (Rudney et al, 2001). En effet, il s'agit des espèces les plus résistantes et les plus destructrices dans les parodontites. Un test bactérien précoce peut donc permettre un gain de temps dans le traitement en proposant un traitement chirurgical d'emblée.

La littérature nous indique également que *Td*, bien qu'elle appartienne au complexe rouge, n'est pas un critère de sévérité de la maladie parodontale puisque c'est une espèce qui s'élimine facilement par un traitement mécanique simple, et que la chirurgie n'est pas nécessaire si cette espèce n'est pas associée à *Pg* ou *Tf* (Ellen, 2005). Les résultats de l'étude vont dans le même sens puisqu'ils nous indiquent que *Td* est diminué dans presque 40% des cas.

Pm est l'espèce qui a été la plus affectée par les surfaçages puisqu'on observe une diminution de la charge dans 62% des cas, ce qui montre que cette espèce est facilement éliminée par les surfaçages.

Une autre donnée intéressante que l'on peut tirer du tableau 5.1 est le fait que quand *Pg* diminue, on remarque que *Tf* et *Td* diminuent simultanément. Or, la littérature nous dit que *Pg* co-existe souvent avec *Tf* et/ou *Td*, dans les maladies parodontales, et que cette association aggrave le caractère de la maladie (Kigure, 1995). En effet des études ont montré que la co-infection de *Td* avec *Pg* augmente la virulence de chacune des espèces, probablement par leur capacité à former une communauté protectrice (Washizu et al, 2003).

Les résultats microbiologiques présentés ici sont en accord avec cette théorie et confère à notre étude une certaine crédibilité.

Si l'on met de côté les biais de l'étude, on peut donc dire que les traitements entrepris sur ces patients n'ont pas permis de stabiliser la maladie parodontale :

- Soit parce qu'ils s'avéraient insuffisants dans ces cas, car non adaptés à la flore pathogène présente ;
- Soit par manque de compliance des patients (hygiène bucco-dentaire) ;
- Soit par défaut de réalisation des surfaçages par les étudiants.

Néanmoins, même si les deux derniers facteurs cités ci-dessus ont nécessairement un impact sur nos résultats microbiologiques, ils ne sont pas suffisants à eux seuls pour expliquer nos résultats.

Quoiqu'il en soit, dans les cas où les résultats ne sont pas satisfaisants, il sera nécessaire de passer à un traitement chirurgical puisque les surfaçages à l'aveugle n'ont pas permis d'éliminer les parodontopathogènes ; et principalement les plus agressifs : le complexe rouge.

5.4.4 Existence de profils bactériens

En comparant nos résultats avec ceux de l'étude de Verner, on peut supposer une similitude dans l'existence de profils bactériens et dans leur répartition. Mais aucune étude statistique n'a été effectuée, nous ne pouvons donc rien conclure à ce sujet.

D'autres études devraient être menées en France sur l'existence de profils bactériens spécifiques, avec une population plus importante pour pouvoir être significatives. Cela pourrait amener à modifier nos thérapeutiques en fonction du type de profil bactérien, c'est-à-dire en fonction des espèces pathogènes présentes.

5.5 Conclusion

Cette étude a été réalisée selon nos moyens et comporte vraisemblablement de nombreux biais. Elle n'est pas comparable avec les études publiées dans la littérature. C'est pourquoi les conclusions que l'on peut tirer des résultats ne peuvent que suggérer des pistes de réflexion.

Néanmoins, la plupart de nos résultats s'avèrent être en concordance avec ceux de la littérature et avec ceux de l'étude de Verner, ce qui confère une certaine crédibilité à nos conclusions.

Ainsi, nous pouvons conclure que le traitement non chirurgical n'a pas permis d'atteindre nos objectifs microbiologiques sur les patients étudiés, c'est-à-dire une diminution de la charge des espèces parodontopathogènes à un niveau compatible avec la santé parodontale ; et principalement les espèces les plus agressives. On note même souvent des augmentations d'espèces pathogènes.

Un traitement chirurgical sera nécessaire chez tous les patients n'ayant pas répondu favorablement, c'est-à-dire plus de la moitié.

Un test microbiologique réalisé à J0 et mettant en évidence un certain type de profil bactérien aurait peut-être permis à l'opérateur de proposer directement un traitement chirurgical en sachant que pour certains parodontopathogènes, il est inévitable.

Cela suggère la nécessité de peut-être modifier notre approche de la maladie et inclure plus souvent des tests bactériens, afin de poser un diagnostic microbiologique et d'identifier un certain type de profil bactérien.

Quand la thérapie la plus appropriée est appliquée à un profil microbien spécifique, les réductions des complexes pathogènes sont meilleures et plus reproductibles menant à une stabilité clinique à long terme.

Le but étant de mieux connaître les responsables de la maladie, savoir quoi combattre pour mieux combattre, et ainsi traiter au mieux la maladie, le plus rapidement possible pour éviter des dégâts irréversibles, toujours dans l'intérêt du patient.

CONCLUSION

Les parodontites sont des maladies inflammatoires d'origine infectieuse.

Les bactéries responsables de la maladie sont aujourd'hui bien connues ; mais sont-elles toutes connues ?

Dans ce travail, nous nous sommes concentrés uniquement sur le facteur bactérien comme responsable de la maladie. Mais la maladie concerne une personne dans sa globalité, et peut, par conséquent, être influencée par nombre de paramètres qui nous échappent (système immunitaire, stress, maladie générale...) Les remarques tirées de ce travail concernant les traitements parodontaux sont donc à relativiser, et à utiliser en fonction du contexte (personne, signes cliniques, environnement, motivation...)

Considérant que la réponse inflammatoire de l'hôte est aussi néfaste pour le parodonte que les bactéries (destruction des tissus parodontaux), il faudrait peut-être envisager d'adjoindre au traitement antibactérien des traitements visant à moduler la réponse de l'hôte, afin d'être encore plus efficace dans nos thérapeutiques contre cette maladie.

De nombreux progrès ont été faits durant les dernières décennies, mais les parodontites comportent encore beaucoup d'inconnues.

Il est donc nécessaire de continuer les recherches, qui pourront peut-être nous amener à modifier nos thérapeutiques et ainsi être plus efficace dans le traitement de nos patients.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **AGENCE FRANÇAISE DE SECURITE SANITAIRE DES PRODUITS DE SANTE (AFSSAPS)**
Prescription des antibiotiques en odontologie et stomatologie.
Juillet 2001.
<http://afssaps.sante.fr>
2. **AGENCE NATIONALE D'ACCREDITATION ET D'EVALUATION EN SANTE (ANAES)**
Parodontopathies : Diagnostic et traitements.
Rapport.
Paris: ANDEM, 2002.
3. **BADERSTEN A, NILVEUS R et EGELBERG J.**
4-year observations of basic periodontal therapy.
J Clin Periodontol 1987;**14**(7):438-444.
4. **BAEHNI PC, BOLIVARI I, WOLF H et MOMBELLI A.**
Clusters of selected pathogens in a population with severe periodontitis.
Annual Meeting of the International Association for Dental Research, San Francisco, 1996
5. **BAEHNI PC, DUFFAU F, WOLF H et BOLIVARI I.**
Association between selected periodontal pathogens in subgingival plaque.
Oral Microbiol Immunol Submitted.2007
6. **BAEHNI P et GIOVANNOLI JL.**
Patient profile and decision-making in periodontal practice.
Periodontol 2000 2004;**36**:27-34.
7. **BAEHNI P 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.
8. **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**:455-459.
9. **BEIKLER T, ABDEEN G, SCHNITZER S et coll.**
Microbiological shifts in intra and extraoral habitats following mechanical periodontal therapy.
J Clin Periodontol 2004;**31**(9):777-783.
10. **BIRKEDAL-HANSEN H.**
Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases.
J Periodontol 1993;**64**(5):474-484.
11. **BOLSTAD AI, JENSEN HB et BAKKENT V.**
Taxonomy, biology, and periodontal aspect of *Fusobacterium nucleatum*.
Clin Microbiol Rev 1996;**9**(1):55-71.

12. **BOURGEOIS D, BOUCHARD P et MATTOU C.**
Epidemiology of periodontal status in dentate adults in France, 2002-2003.
J Periodont Res 2007;**42**(3):219-227.
13. **BOUTIGNY H et DELCOURT-DEBRUYNE E.**
Etiologie des parodontites.
Encycl Med Chir (Paris), Stomatologie-Odontologie II, 23-435-A-10,1996,**8**.
14. **CALDWELL DE, ATUKU E, WILKIE DC, KARTHIKEYAN S et coll.**
Germ theory vs. community theory in understanding and controlling the proliferation of biofilms.
Adv Dent Res 1997;**11**(1):4-13.
15. **CATON JG, CIANCIO SG, BLIEDEN T et coll.**
Treatment with sub-antimicrobial dose doxycycline (Periostat®) improves the efficacy of scaling and root planing in patients with adult periodontitis.
J Periodontol 2000;**71**(4):521-532.
16. **CHARDIN H, BARSOTTI O et BONNAURE-MALLET M.**
Microbiologie en odonto-stomatologie.
Paris : Maloine, 2006.
17. **CONSENSUS REPORT.**
Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors.
Ann Periodontol 1996;**1**:926-932.
18. **DAHLEN G, LINDHE J, SATO K et coll.**
The effect of supragingival plaque control on the subgingival microbiota in subjects with periodontal disease.
J Clin Periodontol 1992;**19**(10):802-809.
19. **DAHLEN G, WIKSTROM M et RENVERT S.**
Treatment of periodontal disease based on microbiological diagnosis. A 5-year follow-up on individual patterns.
J Periodontol 1996;**67**(6):879-887.
20. **DALY CG et HIGHFIELD JE.**
Effect of localized experimental gingivitis on early supragingival plaque accumulation.
J Clin Periodontol 1996;**23**(3):160-164.
21. **DANSER MM, TIMMERMAN MF, VAN WINKELHOFF AJ et coll.**
The effect of periodontal treatment on periodontal bacteria on the oral mucous membranes.
J Periodontol 1996;**67**(5):478-485.
22. **DARBY IB, HODGE PJ, RIGGIO MP et KINANE DF.**
Clinical and microbiological effect of scaling and root planing in smoker and nonsmoker chronic and aggressive periodontitis patients.
J Clin Periodontol 2005;**32**(2):200-206.
23. **DEO V et BHONGADE ML.**
Pathogenesis of periodontitis : role of cytokines in host response.
Dent Today 2010;**29**(9):60-66.

24. **DUFOUR T et SVOBODA JM.**
Pathogénie bactérienne des parodontolyses.
Encycl Med Chir (Paris), Odontologie, 23-435-E-10,2005,**9**.
25. **DZINK JL, SOCRANSKY SS et HAFFAJEE AD.**
The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases.
J Clin Periodontol 1988;**15**(5):316-323.
26. **EHMKE B, MOTER A, MILIAN E et coll.**
Adjunctive antimicrobial therapy of periodontitis: long-term effects on disease progression and oral colonization.
J Periodontol 2005;**76**(5):749-759.
27. **ELLEN RP et GALIMANAS VB.**
Spirochetes at the forefront of periodontal infections.
Periodontol 2000 2005;**38**:13-32.
28. **FERES M, HAFFAJEE AD, ALLARD KA et coll.**
Change in subgingival microbial profiles in adult periodontitis subjects receiving either systemically administered amoxicillin or metronidazole.
J Clin Periodontol 2001;**28**(7):597-609.
29. **FERES M, HAFFAJEE AD, ALLARD KA et coll.**
Antibiotic resistance of subgingival species during and after antibiotic therapy.
J Clin Periodontol 2002;**29**(8):724-735.
30. **FERRON A.**
Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine.
Paris : Edition C et R, 1984.
31. **FIVES-TAYLOR PM, MEYER DH et BRISSETTE C.**
Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.
Periodontol 2000 1999;**20**:136-167.
32. **FLEMMIG TF, MILIAN E, KARCH H et coll.**
Differential clinical treatment outcome after systemic metronidazole and amoxicillin in patients harboring *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and/or *Porphyromonas gingivalis*.
J Clin Periodontol 1998;**25**(5):380-387.
33. **GENCO RJ.**
Host responses in periodontal diseases: current concepts.
J Periodontol 1992;**63**:338-355.
34. **GILBERT PJD et FOLEY I.**
Biofilm susceptibility to antimicrobials.
Adv Dent Res. 1997;**11**(1):160-167.
35. **GORDON J et WALKER C.**
The effect of clindamycin on the microbiota associated with refractory periodontitis.
J Periodontol 1990;**61**(11):692-698.

36. **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.
37. **HAFFAJEE AD, SOCRANSKY SS, SMITH C et coll.**
Microbial risk indicators for periodontal attachment loss.
J Periodont Res 1991;**26**(3):293-296.
38. **HAFFAJEE AD, TELES RP et SOCRANSKY SS.**
Microbiological goals of periodontal therapy.
Periodontol 2000 2006a;**42**:180-218.
39. **HAFFAJEE AD, TELES RP et SOCRANSKY SS.**
The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota.
Periodontol 2000 2006b;**42**:219-258.
40. **HAFFAJEE AD, UZEL NG, ARGUELLO EI et coll.**
Clinical and microbiological changes associated with the use of combined antimicrobial therapies to treat “refractory” periodontitis.
J Clin Periodontol 2004;**31**(10):869-877.
41. **HAUBEK D, ENNIBI OK, POULSEN K et coll.**
Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in Morocco : a prospective longitudinal cohort study.
Lancet 2008;**371**:237-242.
42. **HERRERA D, SANZ M, JEPSEN S et coll.**
A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planning in periodontitis patients.
J Clin Periodontol 2002;**29**(3):136-159.
43. **HIROTOMI T, OGAWA H et MIYAZAKI H.**
Tooth-related risk factors for periodontal disease in community-dwelling elderly people.
J Clin Periodontol 2010;**37**(6):494-500.
44. **HOLT SC et EBERSOLE JL.**
Porphyromonas gingivalis, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the ‘red complex’, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis.
Periodontol 2000 2005;**38**:72-122.
45. **KAWAMURA M, TAKASE N, SASAHARA H et coll.**
Teenagers’ oral health attitudes and behavior in Japan: comparison by sex and age group.
J Oral Sci 2008;**50**(2):167-174.
46. **KIGURE T, SAITO A, SEIDA K et coll.**
Distribution of *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* in human subgingival plaque at different periodontal pocket depths examined by immunohistochemical methods.
J Periodont Res 1995;**30**(5):332-341.
47. **KINANE DF.**
Periodontitis modified by systemic factors.
Ann Periodontol 1999;**4**(1):54-64.

48. **KINANE DF, PETERSON M, STATHOPOULOU PG.**
Environmental and other modifying factors of the periodontal diseases.
Periodontol 2000 2006;**40**:107-119.
49. **KOLENBRANDER PE.**
Intergeneric coaggregation among human oral bacteria and ecology of dental plaque.
Annu Rev Microbiol 1988;**42**:627-656.
50. **KOLENBRANDER PE.**
Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems.
Ann Rev Microbiol 2000;**54**:413-437.
51. **KOLENBRANDER PE, ANDERSEN RN et HOLDEMAN LV.**
Coaggregation of oral *Bacteroides* species with other bacteria: central role in coaggregation bridges and competitions.
Infect Immun 1985;**48**:741-746.
52. **KOLENBRANDER PE, ROBERT JP, ALEXANDER HR et coll.**
Bacterial interactions and successions during plaque development.
Periodontol 2000 2006;**42**:47-79.
53. **KOSHY G, CORBET EF et ISHIKAWA I.**
A full-mouth disinfection approach to non-surgical periodontal therapy – prevention of reinfection from bacterial reservoirs.
Periodontol 2000 2004;**36**:166-178.
54. **KOVACS V, TIHANYI D et GERA L.**
The incidence of local plaque retentive factors in chronic periodontitis
Fogorv Sz 2007;**100**(6):295-300.
55. **KURAMITSU H et HE X.**
Interspecies interactions within oral microbial communities
Microbiol Mol Biol Rev 2007;**71**(4):653-670.
56. **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.
57. **LINDHE J.**
Treatment of localized juvenile periodontitis.
In: GENCO RJ, MERGENHAGEN SE, Host-parasite Interactions in Periodontal Disease.
Washington, DC: Am Soc Microbiol, 1981:382-394.
58. **LINDHE J.**
Textbook of clinical periodontology. 2nd ed.
Copenhagen: Munksgaard, 1989.
59. **LINDHE J et MEYLE J.**
Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology.
J Clin Periodontol 2008;**35**(8):282-285.

60. **LISTGARTEN MA.**
Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study.
J Periodontol 1976;**47**(1):1-18.
61. **LISTGARTEN MA.**
Formation of dental plaque and other oral biofilms.
Dental Plaque Revisited.
Cardiff: Bionline, 1999:187-210.
62. **LOE H.**
Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus.
Diabetes Care 1993;**16**(1):329-334.
63. **LOE H, THEILADE E et SILNESS B.**
Experimental gingivitis in man.
J Periodontol 1965;**36**:177-187.
64. **LOESCHE WJ, LOPATIN DE, STOLL J et HUJOEL PP.**
Comparison of various detection methods for periodontopathic bacteria – Can culture be considered the primary reference standard?
J Clin Microbiol 1992;**30**(2):370-376.
65. **LOESCHE WJ, SCHMIDT E, SMITH BA et coll.**
Effects of metronidazole on periodontal treatment needs.
J Periodontol 1991;**62**(4):247-257.
66. **MOMBELLI A, Mc NABB H, LANG NP.**
Black-pigmenting Gram-negative bacteria in periodontal disease. I. Topographic distribution in the human dentition.
J Periodont Res 1991;**26**(4):301-307.
67. **MOMBELLI A, NEIMAN S, BRAGGER U et coll.**
Clinical and microbiological changes associated with an altered subgingival environment induced by periodontal pocket reduction.
J Clin Periodontol 1995;**22**(10):780-787.
68. **MOMBELLI A, SCHMIT B, RUTAR A et LANG NP.**
Persistence patterns of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* after mechanical therapy of periodontal disease.
J Periodontol 2000;**71**(1):14-21.
69. **MOORE WEC et MOORE LVH.**
The bacteria of periodontal diseases.
Periodontol 2000 1994;**5**:66-77.
70. **MOUTON C.**
Les bacteroides de la cavité buccale. Pathogénicité et facteurs de virulence.
Med Mal Infect 1990;**20**:153-164.
71. **MOUTON C et ROBERT JC.**
Bactériologie bucco-dentaire.
Paris : Masson, 1994.

72. **ONAGAWA M, ISHIHARA K et OKUDA K.**
Coaggregation between *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*.
Bull Tokyo Dent Coll 1994;**35**(4):171-181.
73. **PAGE RC, OFFENBACHER S, SCHROEDER HE et coll.**
Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions.
Periodontol 2000 1997;**14**:216-248.
74. **PASTER BJ et DEWHIRST FE.**
Molecular microbial diagnosis.
Periodontol 2000 2009;**51**:38-44.
75. **POULET PP, DUFFAUT D et LODTER JP.**
Metronidazole susceptibility testing of anaerobic bacteria associated with periodontal disease.
J Clin Periodontol 1999;**26**(4):161-263.
76. **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.
77. **RAMBERG P, SEKINO S, UZEL NG et coll.**
Bacterial colonization during de novo plaque formation.
J Clin Periodontol 2003;**30**(11):990-995.
78. **RAMS TE et KEYES PH.**
A rationale for the management of periodontal diseases: effects of tetracycline on subgingival bacteria.
J Am Dent Assoc 1983;**107**(1):37-41.
79. **RENVERT S, WIKSTROM 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.
80. **RIGGIO MP, MACKENZIE D, SMITH AJ et KINANE D.**
Comparison of polymerase chain reaction and culture methods for detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in subgingival plaque samples.
J Periodont Res 1996;**31**(7):496-501.
81. **ROBERTS FA, RICHARDSON GJ et MICHALEK SM.**
Effects of *Porphyromonas gingivalis* and *Escherichia coli* lipopolysaccharides on mononuclear phagocytes.
Infect Immun 1997;**65**(8):3248-3254.
82. **RUDNEY JD et CHEN R.**
Human salivary function in relation to the prevalence of *Tannerella forsythia* and other periodontal pathogens in early supragingival biofilm.
Arch Oral Biol 2004;**49**(7):523-527.

83. **RUDNEY JD, CHEN 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.
84. **RYDER MI.**
The influence of smoking on host responses in periodontal infections.
Periodontol 2000 2007;**43**:267-277.
85. **SBORDONE L et BORTOLAIA C.**
Oral microbial biofilms and plaque-related diseases: microbial communities and their role in the shift from oral health to disease.
Clin Oral Invest 2003;**7**(4):181-188.
86. **SEDLACEK MJ et WALKER C.**
Antibiotic resistance in an *in vitro* subgingival biofilm model.
Oral Microbiol Immunol 2007;**22**(5):333-339.
87. **SHADDOX LM et WALKER C.**
Microbial testing in periodontics : value, limitations and future directions.
Periodontol 2000 2009;**50**:25-38.
88. **SHILOAH J et PATTERS MR.**
DNA probe analyses of the survival of selected periodontal pathogens following scaling, root planing, and intra-pocket irrigation.
J Periodontol 1994;**65**(6):568-575.
89. **SIXOU M.**
Prescrire en odontologie.
Paris: Cdp, 2005.
90. **SIXOU M, PINEILL JL et LAKHSSASSI N.**
Antimicrobial susceptibility variation of 50 anaerobic periopathogens in aggressive periodontitis: an interindividual variability study.
Oral Microbiol Immunol 2005;**20**(4):244-252.
91. **SLOTS J, REYNOLD HS et GENCO RJ.**
Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease: a cross-sectional microbiological investigation.
Infect Immun 1980;**29**(3):1013-1020.
92. **SLOTS J et TING M.**
Microbiological diagnostics in periodontics.
Compend Contin Educ Dent 1997;**18**(9):861-876.
93. **SLOTS J, TING M.**
Systemic antibiotic in the treatment of periodontal diseases.
Periodontol 2000 2002;**28**:106-176.
94. **SOCRANSKY SS et HAFFAJEE AD.**
The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts.
J Periodontol 1992;**63**(4):322-331.

95. **SOCRANSKY SS et HAFFAJEE AD.**
Dental biofilms: difficult therapeutic targets.
Periodontol 2000 2002;**28**:12-55.
96. **SOCRANSKY SS et HAFFAJEE AD.**
Periodontal microbial ecology.
Periodontol 2000 2005;**38**:135-187.
97. **SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD, CUGINI MA et coll.**
Microbial complexes in subgingival plaque.
J Clin Periodontol 1998;**25**(2):134-144.
98. **SOSKOLNE WA et KLINGER A.**
The relationship between periodontal diseases and diabetes: an overview.
Ann Periodontol 2001;**6**(1):91-98.
99. **STABHOLZ A, SOSKOLNE W et SHAPIRA L.**
Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis.
Periodontol 2000 2010;**53**:138-153.
100. **TAKAHASHI, N.**
Acid-neutralizing activity during amino acid fermentation by *Porphyromonas gingivalis*,
Prevotella intermedia and *Fusobacterium nucleatum*.
Oral Microbiol Immunol 2003;**18**:109-113.
101. **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.
102. **TAKASHIBA S et NARUISHI K.**
Gene polymorphisms in periodontal health and disease.
Periodontol 2000 2006;**40**:94-106.
103. **TAKEMOTO T, KURIHARA H et DAHLEN G.**
Characterization of *Bacteroides forsythus* isolates.
J Clin Microbiol 1997;**35**(6):1378-1381.
104. **TELES RP, HAFFAJEE AD et SOCRANSKY SS**
Microbiological goals of periodontal therapy.
Periodontol 2000 2006;**42**:180-218.
105. **TINANOFF N, GROSS A, BRADY JM.**
Development of plaque on enamel: parallel investigations.
J Periodont Res 1976;**11**(4):197-209.
106. **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.
107. **UMEDA M, TAKEUCHI Y, ISHIKAWA I et coll.**
Effects of nonsurgical periodontal therapy on the microbiota.
Periodontol 2000 2004;**36**:98-120.

108. **VAN WINKELHOFF AJ.**
Microbiology in diagnosis and treatment planning in periodontics.
Int J Dent Hyg 2003;**1**(3):131-137.
109. **VAN WINKELHOFF AJ, HERRERA GD, WINKEL EG et coll.**
Antimicrobial resistance in the subgingival microflora in patients with adult periodontitis. A comparison between The Netherlands and Spain.
J Clin Periodontol 2000;**27**(2):79-86.
110. **VAN WINKELHOFF AJ et WINKEL EG.**
Microbiological diagnostics in periodontics: biological significance and clinical validity.
Periodontol 2000 2005;**39**:40-52.
111. **VERNER C.**
Utilisation des prélèvements bactériens lors de la prise en charge des maladies parodontales.
Thèse pour le Doctorat d'Université, Nantes 2007.
112. **VERNER C, LEMAITRE P, DANIEL A et coll.**
Carpegen® real-time polymerase chain reaction vs. anaerobic culture for periodontal pathogen identification.
Oral Microbiol Immunol 2006;**21**(6):341-346.
113. **WALKER CB, GORDON JM, COHEN S et coll.**
Antibiotic susceptibilities of periodontal bacteria. *In vitro* susceptibilities to eight antimicrobial agents.
J Periodontol 1985;**56**(Suppl):67-74.
114. **WALKER CB, KARPINIA K et BAEHNI P.**
Chemotherapeutics: antibiotics and other antimicrobials.
Periodontol 2000 2004;**36**:146-165.
115. **WASHIZU M, ISHIHARA K, HONMA K et coll**
Effects of a mixed infection with *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* on abscess formation and immune responses in mice.
Bull Tokyo Dent Coll 2003;**44**:141-147.
116. **WINKEL EG, VAN WINKELHOFF AJ, TIMMERMAN MF et coll.**
Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study.
J Clin Periodontol 2001;**28**(4):296-305.
117. **WINKEL EG, VAN WINKELHOFF AJ et VAN DER VELDEN U.**
Additional clinical and microbiological effects of amoxicillin and metronidazole after initial periodontal therapy.
J Clin Periodontol 1998;**25**(11):857-864.
118. **WINKLER JR, MURRAY PA, GRASSI M et coll**
Diagnosis and management of HIV-associated periodontal lesions.
J Am Dent Assoc 1989;**119**(suppl):25S-34S.
119. **WILSON M.**
Susceptibility of oral bacterial biofilms to antimicrobial agents.
J Med Microbiol 1996;**44**(2):79-87.

120. **ZAMBON JJ, CHRISTERSSON LA et SLOTS J.**
Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease. Prevalence in patient groups and distribution of biotypes and serotypes within families.
J Periodontol 1983;**54**(12):707-711.
121. **ZAMBON JJ et HARASZTHY.**
The laboratory diagnosis of periodontal infection.
Periodontol 2000 1995;**7**:69-82.
122. **ZIEBOLZ D, SCHWERDTFEGER B, BRUNNER E et coll.**
Oral health in young adults in Germany: a comparison between women and men of the German army.
Schweiz Monatsschr Zahnmed 2008;**118**(10):944-950.

ARNAULT (Emilie).- Evolution de la flore bactérienne avant et après traitement parodontal : étude clinique.

-78 f. ; 40 ill. ; 122 ref. ; 30 cm. (Thèse : Chir. Dent. ; Nantes ; 2011)

RESUME :

Les parodontites sont des maladies inflammatoires d'origine infectieuse. Des moyens de diagnostics microbiologiques se sont développés permettant d'identifier plus facilement les bactéries pathogènes responsables et de les quantifier plus précisément.

Une étude clinique réalisée au centre de soins dentaires de Nantes nous a permis d'analyser la flore bactérienne de 21 patients, au moyen d'analyses microbiologiques (cultures bactériennes et PCR) avant traitement, permettant de mettre en évidence leurs profils bactériens. Ces tests ont été réitérés après traitement parodontal non chirurgical, évaluant ainsi l'impact du traitement mécanique sur la flore.

Selon cette étude, le traitement non chirurgical ne semble pas avoir atteint les objectifs microbiologiques sur les patients étudiés.

RUBRIQUE DE CLASSEMENT : Parodontologie

MOTS CLES MESH :

Parodontite- Bactéries- PCR en temps réel- Culture-Traitement

Periodontitis- Bacteria- Real time PCR- Culture- Treatment

JURY :

Président : Professeur SOUEIDAN A.

Assesseur : Docteur AMADOR DEL VALLE G.

Assesseur : Docteur BADRAN Z.

Directeur : Docteur VERNER C.