

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD

LABORATOIRE D'ANATOMIE

FACULTE DE MEDECINE DE LYON - GRANGE BLANCHE
8, avenue Rockefeller - 69373 LYON CEDEX 08

Année 1993

ASSOCIATION UNIVERSITAIRE
D'ANATOMIE ET D'IMPLANTOLOGIE

Mémoire
présenté par le
Docteur Alain CARLE

MICROBIOLOGIE ORALE

MICROBIOLOGIE ORALE

MICROBIOLOGIE ORALE

PLAN

1 NOTION D'ÉCOLOGIE BUCCALE

2 FLORE BUCCALE ET MALADIE PARODONTALE

3 PRINCIPALES BACTÉRIES DE LA CAVITÉ BUCCALE

3 1 COCCI GRAM +

3 1 1 LE GENRE STREPTOCOCCUS

3 2 2 LE GENRE STAPHYLOCOCCUS

3 3 3 LE GENRE PEPTOSTREPTOCOCCUS

3 2 COCCI GRAM -

3 2 1 LE GENRE NEISSERIAS

3 2 2 LE GENRE VEILLONNELLAS

3 3 BACILLE GRAM +

3 3 1 LE GENRE LACTOBACILLUS

3 3 2 LE GENRE ACTINOMYCES

3 4 BACILLE GRAM -

3 4 1 LE GENRE FUSOBACTERIUM

3 4 2 LE GENRE BACTEROIDES (PORPHYROMONAS)

- CARACTERISATION DU GENRE PORPHYROMONAS GINGIVALIS

- MECANISME D'ACTION POUVOIR PATHOGENE

3 4 2 1 LE CYCLE BACTERIEN

3 4 2 2 VIRULENCE BACTERIENNE

a PROTEINE DE MEMBRANE EXTERNE

b ENVIRONNEMENT

c EXTRAIT BACTERIEN

d VESICULE DE MEMBRANE EXTERNE

e LE LPS

f LE PH

g ACTIVITE COLLAGENASE

h ACTIVITE FIBROLYSINE ET
HEMOLYSINE

i TOXINES EXTRACELLULAIRES

j PGE2, PMN, INACTIVATION DU
COMPLEMENT

3 4 2 LE GENRE SPIROCHETES

4 CONCLUSION

5 LESION PARODONTALES

5 1 DEFINITION

5 2 CLASSIFICATION

5 3 ETIOLOGIE BACTERIENNE

5 4 BACTERIOLOGIE PARODONTALE

5 4 1 GINGIVOPATHIE ET PARODONTOLYSE DE L'ADULTE

5 4 2 GINGIVITE ULCERO NECROTIQUE

5 4 3 PARODONTOLYSE AIGUE

6 COMPTAGE DES MICROORGANISMES

MATERIEL ET METHODE

6 1 INVENTAIRE

6 2 STERILISATION

6 3 CHAMP OPERATOIRE

6 4 METHODE (LA COLORATION DE GRAM)

7 INTERET DE L'EVALUATION SOUS MICROSCOPE DE LA FLORE PARODONTALE SELON

7 1 . M NEWMAN

7 2 . DW KANNANGARA

7 3 . MA LISTGARTEN

7 4 . A KIPIOTI

7 5 . HESS

7 6 . T KOBAYASHI

7 7 . OMAR

7 8 . G GREENSTEIN

8 CONCLUSION

9 BIBLIOGRAPHIE

1 NOTION D'ÉCOLOGIE BUCCALE

La cavité buccale est stérile à la naissance, les microorganismes se fixent à la surface des différents biotopes selon les conditions physico-chimiques et biologiques. Il est à rappeler l'importance de la notion de commensalisme bactérien; on parle d'effet barrière. Certaines bactéries occupent le terrain, mais n'entraînent pas de pathologie, elles empêchent néanmoins l'arrivée de bactéries pathogènes extérieurs.

2 FLORE BUCCALE ET MALADIE PARODONTALE

L'étiopathogénie des parodontopathies reste actuellement partiellement inconnue. Il réside environ 300 à 400 espèces de bactéries dans la cavité buccale. C'est une étuve avec comme biotopes principaux: Les dents, le fluide gingivale et certains éléments biocompatibles comme les matériaux implantaires.

Il y a coexistence entre différentes espèces bactériennes dans le même habitat. On parle de pathologie quand :

La résistance de l'hôte est affaiblie

On note une modification de la flore commensale

3 PRINCIPALES BACTERIES DE LA CAVITE BUCCALE

3 1 Cocci Gram +

3 1 1 Le genre Streptococcus

Ce sont des bactéries anaérobies aérotolestants, disposées en chaînettes. Ces micro-organismes sont majoritaires dans la cavité buccale.

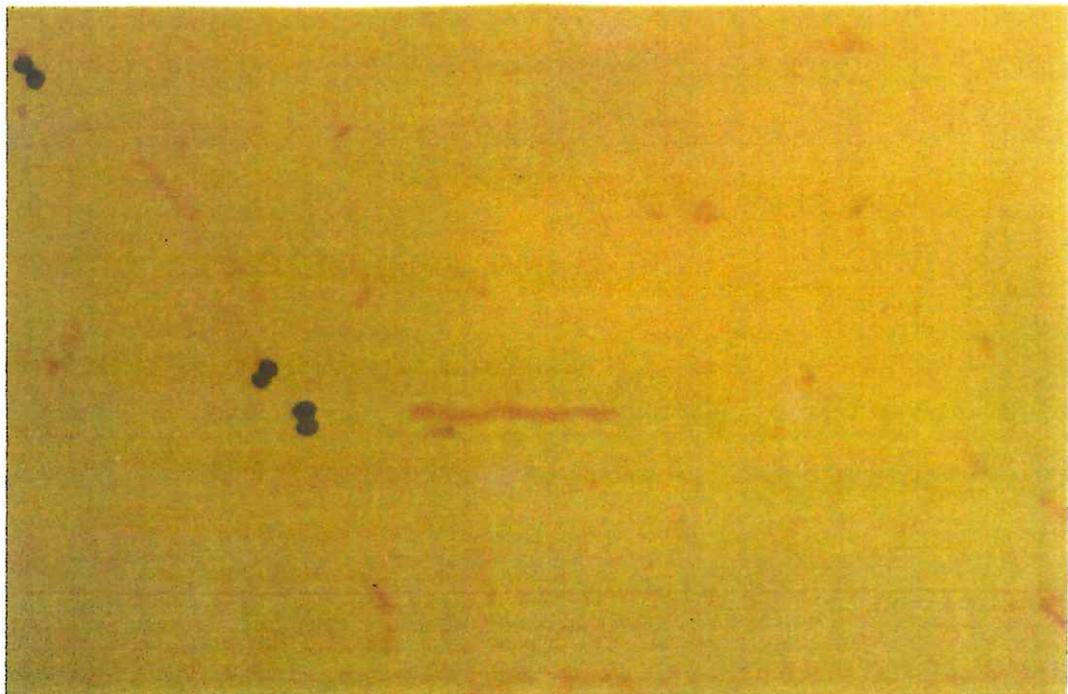
Les classifications des Streptococcus sont complexes et multiples. On peut néanmoins classer quelques espèces en fonction de leurs propriétés hémolytiques.

Dans le détail, les Streptococcus buccaux sont considérés comme des bactéries les plus actives dans l'élaboration de la plaque bactérienne. Leur rôle cariogène n'est plus à démontrer.



3 1 2 Le genre Staphylococcus

Se définissent comme des bactéries aéro-anaérobies facultatives de la cavité buccale. Leur rôle pathogène y est très occasionnel. (Scavizzi M 86) Ce sont des germes commensaux de la peau et du nez, le type aureus est le type pyogène. Un sujet sur deux hébergerait des Staphylocoques aureus dans sa salive de façon très transitoire et en très petit nombre :(10 à 1000 ml⁻¹).



3 1 3 Le genre Peptostreptococcus

On les qualifie de Bactéries anaérobies strictes. L'oxygène leur est toxique. Ce sont des cocci Gram +, non sporulés, ne tolérant aucune tension d'oxygène donc il est très difficile de les conserver en vie lors des prélèvements bactériens et du transport. Certaines sont retrouvées régulièrement dans les sites à l'abris de l'oxygène. Elles n'ont pas de pouvoir pathogène indépendant, (Scavizzi M 86) c'est à dire que leur pathogénicité serait due à l'association avec d'autres espèces essentiellement anaérobies. Sundqvist en 1951 les considère également comme des hôtes habituels des canaux infectés (4 à 13 % de la flore totale).

3 2 Cocci Gram -

3 2 1 Le genre Neisserias

Ils représentent des cocci aérobie immobiles, oxydase +. Il a été décrit 2 groupes, l'un pathogène, l'autre non. Ils ne représentent pas plus de 1% de la flore totale de la cavité buccale du sujet, quelque soit le site prélevé (Scavizzi M 86).

3 2 2 Le genre Veillonellas

Ce sont des cocci anaérobies commensaux de la cavité buccale, du tractus respiratoire et digestif qui n'ont pratiquement jamais de signification pathologique humaine.

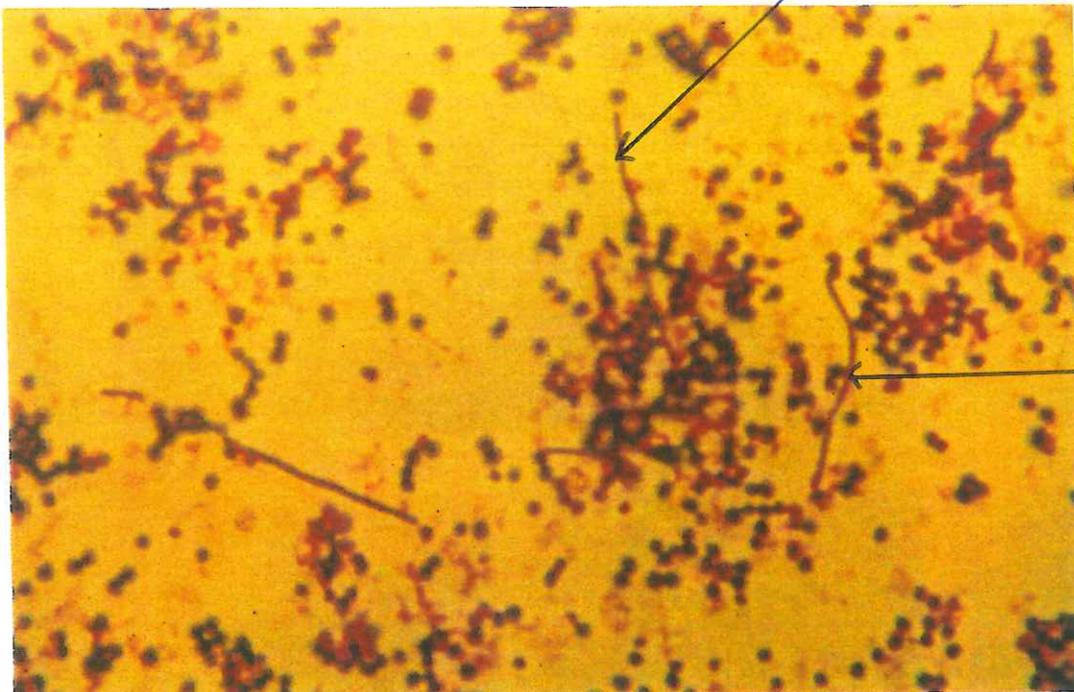


3 3 Bacille Gram +

3 3 1 Le genre Lactobacillus

Ces bacilles Gram +, immobiles non ramifiés, sont en faible quantité dans la cavité buccale bien qu'étant très caractéristiques de cette flore.

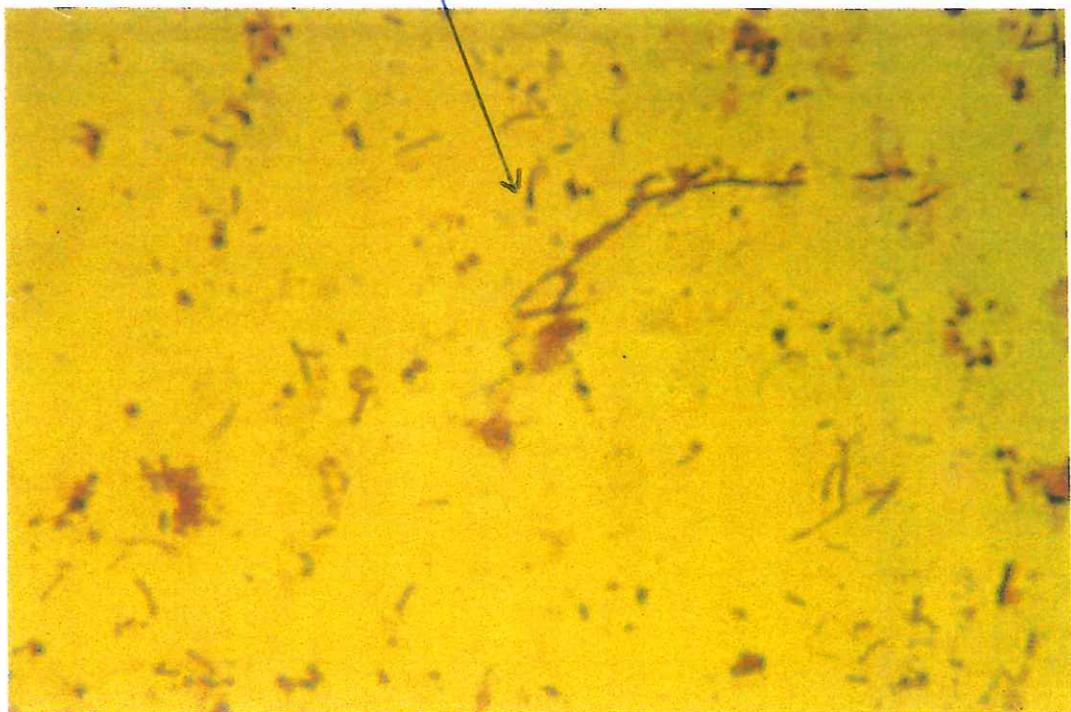
Le terme Lactobacillus acidophilus est très souvent utilisé dans le sens de Lactobacillus d'origine buccale : l'acidification du milieu provoqué par ces bactéries est évoqué dans la genèse de la carie. Lactobacillus carci est la bactérie la plus abondamment trouvée dans la carie de la dentine, sans perdre de vue que la carie est une maladie multimicrobienne est plurifactorielle.



3 3 2 Le genre Actinomyces

Ils sont qualifiés de bactéries Gram + filamenteuses hôtes habituels des criptes amygdaliennes, de la cavité buccale, du tartre et de la plaque dentaire. Leur proportion relative augmente avec le développement de la gingivite.

Stevens pense qu'ils ont un rôle en pathologie parodontale et en cariologie; Sundqvist en retrouve, dans une proportion de 10,6%, dans les prélèvements de contrôle avant obturation radiculaire (Sundqvist G 81).



3 4 Bacille Gram-

3 4 1 Le genre *Fusobacterium*

On parle de bacille aux extrémités effilées. Ce sont des hôtes normaux de la cavité buccale. Leur implication est beaucoup plus fréquente au cours des syndromes parodontaux qu'au cours du syndrome carieux.

3 4 2 Le genre Bacteroïdes

- CARACTERISATION DU GENRE PORPHYROMANAS GINGIVALIS
(SHAH H.N. ET COLLINS M.D., 1988)
(MOORE W.E.C and Coll, 1983)

En 1988, *Bacteroides gingivalis* a été redéfini comme *Porphyromonas gingivalis*. En effet l'hétérogénéité du groupe initial démontré à partir de l'étude de la composition du DNA et du polymorphisme enzymatique a permis d'isoler trois bactéries dans une unité plus homogène : *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis* et *Bacteroides endodontalis*.

Les caractéristiques communes de ces microorganismes sont les suivantes:

- G + C 52 à 54 %
- asaccharolitique
- accumulent des pigments de protohème à un niveau supérieur par rapport à la protoporphyrine, en particulier lors de culture sur agar sang.
- non fermentans
- forte activité protéolytique
- utilisent comme source de Trypticase, de Protéase et de Peptone les substrats nitrés.

Porphyromonas gingivalis est un bâtonnet ou coccobacille de 0,5 micron sur 1 à 2 micron, anaérobie à Gram négatif, sédentaire, non sporulé qui produit quand sa croissance est terminée un pigment noir dans les milieux contenant du sang, de l'hémine et de la vitamine K.

On le définit comme ne fermentant pas le glucose, comme étant indole +, phenylacetic +, esculine -, capable d'agglutiner les globules rouges et ayant une activité Trypsine like. Il utilise les amino-acides suivants : Aspartate, Arginine, Cystine, Histidine, Tryptophane, Leucine, Methionine, Phenylalanine, et Isoleucine.

Sa culture sur milieu spécifique produit une colonie lisse, convexe, brillante et luisante de 1 à 2 mm de diamètre, se pigmente noir au centre en 4 à 8 jours par la production principalement de protohème et rarement de porphyrine.

●MECANISME D'ACTION, POUVOIR PATHOGENE

3 4 2 1 LE CYCLE BACTERIEN

1 Colonisation et adhérence par la production de bactériocine et la présence de récepteurs spécifiques,

2 Pénétration,

3 Multiplication,

4 Activité pathogène

5 Survie

La tendance actuelle se dirige vers une volonté de définir la régulation de l'activité pathogène de la flore buccale.

Cependant la définition d'un pathogène en parodontologie reste floue. On le caractérise d'une façon effective à partir du moment où on note lors d'un désordre parodontal un niveau bactérien le laissant supposer comme pathogène.

Porphyromonas gingivalis est retrouvé en petite quantité dans la plaque sous gingivale d'individu à parodonte sain, mais est très présent chez les patients présentant une parodontopathie avancée (80%), (PAWLAK E.A. et HAOG P.M., 1988). En revanche son importance en % mesurable de la flore cultivable totale des patients présentant une parodontite, est controversé (CHRISTERSSON L.A. and Coll, 1992).

Porphyromonas utilise ses effets lytiques: collagénolytique, protéolytique et cytotoxique (GRENIER D. et MAYRAND D., 1987) pour entraîner des lésions, des altérations et une pathologie tissulaire par l'intermédiaire des mécanismes suivants:

1- Augmentation de sa quantité dans la plaque (SLOTZ, 1979, LINDHE, 1983),

2- Augmentation de sa capacité à infiltrer les tissus,

3- Diminution de la réponse de l'hôte à l'infection.

En revanche, il existe différentes souches de *Porphyromonas gingivalis*, le pouvoir pathogène est directement corrélé avec l'activité collagénolytique, en effet l'activité cytotoxique serait identique pour toutes les souches de *Porphyromonas gingivalis* (GRENIER D. et MAYRAND D., 1987).

Les profils protéiques obtenus en 1987, de *Porphyromonas gingivalis* sont similaires et aucune corrélation n'a pu être établie entre la présence de certaines bandes et la possibilité d'infection.

GRENIER divise les *Porphyromonas gingivalis* en deux types: ceux capable d'infecter le modèle en culture pur et les autres nécessitant la présence de bactéries "helper" pour produire l'infection.

Le pouvoir de virulence est lié à l'activité protéolytique et permet de définir deux groupes :

1-pathogène	haut pouvoir collagénolytique forte activité protéolytique
2-non pathogène	faible pouvoir collagénolytique forte activité protéolytique

Cependant, le facteur de virulence peut être produit par toutes les bactéries à des degrés différents, le niveau d'activité de ces facteurs retrouvés *in vivo* détermine si une souche est pathogène en culture pure.

SUNDQVIST, en 1984, a émis l'hypothèse de l'existence probable de plusieurs souches de *Porphyromonas gingivalis* différentes par leur pouvoir de virulence.

MEKEE et Coll, en 1986, déterminent la virulence de *Bacteroides gingivalis* W 50 par rapport à la disponibilité en hémine.

On résume le pouvoir pathogène dans le tableau ci dessous (PAWLAK E.A. et HAOG P.M., 1988).

Porphyromonas gingivalis	Réponse de l'hôte
Produits bactériens -Sécrétion d'une endotoxine -Sécrétion d'enzyme lytique hyaluronidase collagénase -Libération de produits métaboliques et cytotoxiques	Positive -Exsudation -Infiltration leucocytaire -Réponse immunitaire
Invasion bactérienne, infection Abondance et composition de la plaque	Faible -Déficit leucocytaire -Déficit immunitaire -Maladie systémique

La trisomie 21 est un exemple de diminution de la réponse de l'hôte. Ce désordre génétique permet une exacerbation de la pathogénicité de *Porphyromonas gingivalis*. La trisomie 21 serait responsable d'une réduction de la chimiotaxie, d'un affaiblissement de la phagocytose et d'une altération de la réponse immunitaire.

3 4 2 2 VIRULENCE BACTERIENNE

a Protéine de membrane externe

Porphyromonas gingivalis présente des protéines modifiables par la chaleur dont les poids moléculaires varient de 16 à 118 KiloDalton. La composition en protéine de surface est très complexe, comparable à E. coli, et varie en fonction de la souche étudiée. On retrouve principalement deux protéines de 24 et 90 KDa. Le rapport des poids moléculaires change en fonction des conditions de culture.

b Environnement

- L'environnement régule la virulence des bactéries par des facteurs de stress. On peut établir une relation entre la virulence de Porphyromonas gingivalis et la concentration en hémine dans le milieu de culture.

-2,5mg/ml permet d'obtenir des souches de P.G. très virulentes.

-0,5 " " " " faiblement virulentes.

L'activité de la trypsine et de la chymotrypsine l'activité collagénolytique et la dégradation de l'acide hyaluronique sont aussi proportionnel à la concentration en hémine.

- La concentration en fer permet de réguler le nombre de fimbriae et de vésicules externes cellulaires. Sachant que le nombre de vésicules formées est proportionnel à la virulence, on considère que le fer est un facteur modulateur.

c Extrait bactérien

Des extraits bactérien de Porphyromonas gingivalis peuvent inhiber la synthèse de fibroblastes gingivaux humain en culture.

2mg/ml d'extrait inhibent 50% de la prolifération des fibroblastes.

d Vésicules externes

Toutes les bactéries relâchent dans leurs membranes des vésicules dans leur environnement. Porphyromonas gingivalis produit des vésicules soit à partir d'évagination soit à partir de la croissance

membranaire dont le contenu se caractérise par une forte activité protéolytique et un faible poids moléculaire.

Ces molécules entrent en contact avec les cellules de l'hôte puis provoquent une destruction de l'intégrité du parodonte.

Activité des vésicules

- Dépolymérisation du collagène
- Activité bactériocine
- Activité hydrolytique
- Activité phosphorolytique
- Activité protéolytique
- Activité trypsine like

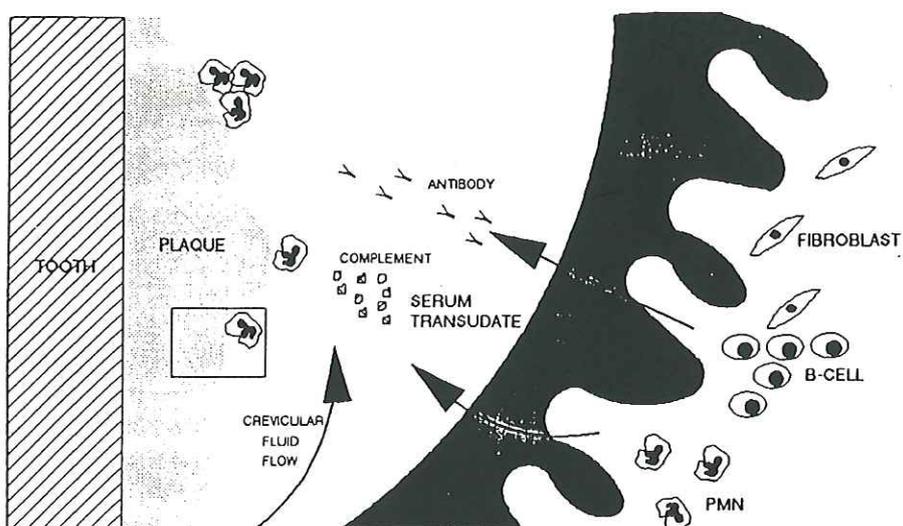
Capacité de liaison avec

- L'hydroxyapatite des surfaces dentaires
- Les cellules sanguines
- Les autres bactéries

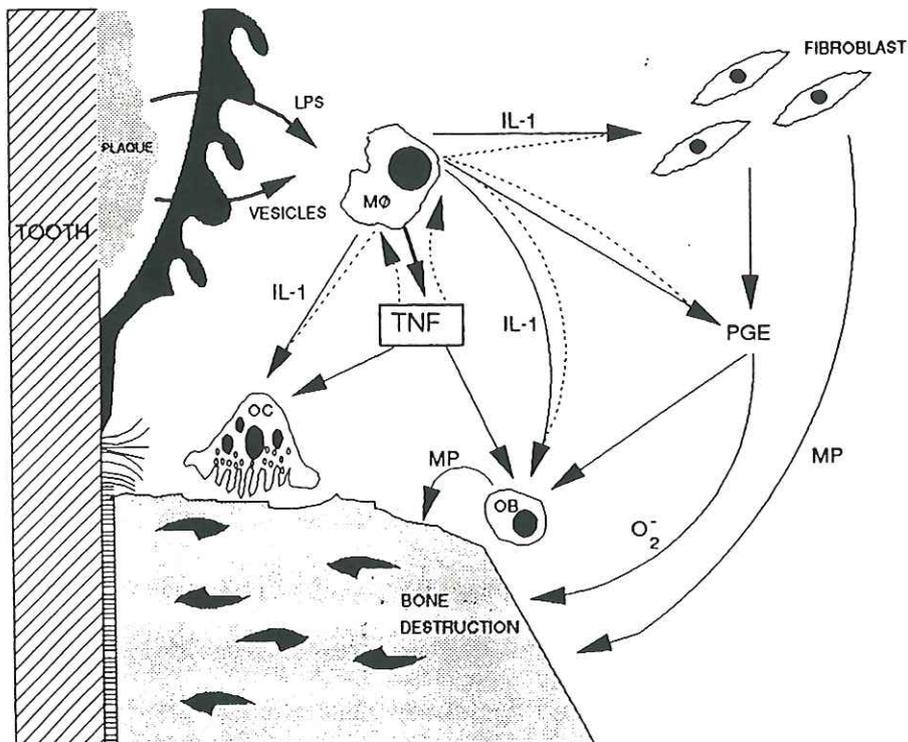
e Le Lipo Poly Saccharide

C'est un composant essentiel des vésicules. Ces dernières seraient un moyen de transport des LPS à l'intérieur des tissus gingivaux dans une position telle qu'ils seraient capables d'interagir avec les cellules

immunes de l'hôte et d'influencer les réponses inflammatoires ainsi que de moduler la destruction du parodonte en particulier l'os alvéolaire et les tissus gingivaux connectés.



Porphyromonas gingivalis est capable par son LPS d'inhiber à la fois la formation du collagène de l'os (0,1mg de LPS/ml) et la prolifération des fibroblastes gingivaux.



Le LPS peut soit tuer les fibroblastes et les cellules épithéliales, soit en inhiber la prolifération. De même qu'il réduit la migration et l'attachement des fibroblastes.

f Le pH

La croissance de *Porphyromonas gingivalis* est inhibée par un pH acide, en effet cette bactéries présente une activité protéolytique optimale à pH situé entre 7,5 et 8.

g Activité collagénase

Cette activité enzymatique est considérée comme un facteur de virulence, elle intervient dans la progression des troubles parodontaux. Porphyromonas gingivalis est la seule bactérie à pigment noir capable d'hydrolyser le collagène.

h Activité fibrolysine et hémolysine

L'activité fibrinolytique permet de "casser" la barrière de fibrine de l'hôte, puis d'envahir les tissus sous-jacents. Porphyromonas gingivalis est capable sous certaines conditions de stress d'avoir une activité hémolytique 2 à 3 fois supérieures à des conditions standards.

i Toxines extracellulaires

Elles sont des facteurs protéolytiques, dont le rôle est essentiel pour la culture et pour le métabolisme des bactéries.

Elles peuvent être très cytotoxiques pour l'environnement des tissus parodontaux

j Prostaglandine E 2 (PGE2)/ Poly morpho nucléaires (PMN)/ Inactivation du complément

-Les patients susceptibles de développer des parodontopathies relargueraient par leur monocyte environ 2 fois plus de PGE2 que les patients résistants.

-Le nombre de PMN circulant est inversement proportionnel à la gravité des désordres parodontaux. De même que les LPS semblent interférer avec la locomotion des PMN.

-Porphyromonas gingivalis est capable de sécréter des substances immunogènes protéiques interférant avec

les défences de l'individu. De même il peut dégrader les Ig A, IgG et IgM, l'albumine, le C3, C4, et le C5 ou synthétiser des protéines spécifiques pouvant dégrader des inhibiteurs plasmatiques des protéinases.

Cette inactivation du complément est un potentiel de facteur de virulence dans la propagation des troubles parodontogènes et de l'inflammation.

La destruction du parodonte est le résultat de l'interaction des produits bactériens, du LPS, des autres produits issus des vésicules externes et de la réponse inflammatoire.

3 4 3 Le genre Spirochetes

On les classe comme des bactéries Gram -, mobiles, anaérobies stricts. C'est un hôte habituel de la bouche dentée. Il appartient essentiellement à la flore parodontale (Scavizzi M 86).

4 CONCLUSION

Condition requises pour qu'une bactérie soit pathogène:

- La bactérie doit coloniser les différentes surfaces de la cavité buccale
- Se multiplier en nombre suffisant à un site donné, c'est à dire lutte contre d'autres bactéries non pathogène afin d'évoluer dans le site (commençaisme).
- Envahir et détruire les tissus sous jacent malgré les moyens de défences locaux et ou généraux qui leur sont opposés.

5 Lésion parodontale

5 1 Définition

Le parodonte représente l'ensemble des tissus environnants la dent c'est à dire le cément, le desmodonte, l'os alvéolaire et la gencive.

5 2 Classification

On classe les maladies parodontales en deux parties distinctes suivant qu'il y a ou pas atteinte du parodonte profond.

Phénomène	Inflammatoire	Dégénératif	Tumoraux
Superficiel	Gingivopathie	Gingivose	Epulis
Profond	Parodontolyse	Parodontose	

5 3 Etiologie bactérienne

Expérience de Løe. Cet auteur, en 1965, a prouvé que le facteur étiologique prédominant des parodontopathies était lié à la présence des bactéries. Il a sélectionné un groupe de volontaires, présentant un état gingival et parodontal satisfaisant. On leur demande d'arrêter de se brosser les dents pendant une période de 21 jours.

Le critère d'évaluation est l'INDICE GINGIVAL dont la cotation est la suivante :

0	Gencive saine
1	Gencive dont la couleur et le volume sont modifiés, sans gingivoragie provoquée par le passage de la sonde dans le sulcus
2	Gingivoragie déclenchée lors d u sondage délicat
3	Saignement spontané

Résultats :

On réalise des prélèvements avant et après l'arrêt du brossage.

-Normalement il existe une pellicule de plaque bactérienne faite de bactéries Gram +, aérobies comme le Streptococcus mutans, mitis, sanguis, ou du genre Actinomyces.

-Après l'arrêt du brossage, dès le 5ème jour on trouve une 2ème catégorie de bactérie représentée par des bacilles et des éléments filamenteux anaérobies et anaéro-facultatifs.

-Au 9ème jour il apparait une 3ème catégorie de germe constituée de Gram - anaérobie stricte dont un représentant est le Treponeme.

-Au 21ème jour l'indice gingival est de 1.

-Après reprise du brossage il faudra 8 à 9 jours pour retrouver une situation clinique normale, alors que sur un plan purement histologique une période de 60 à 80 jours est nécessaire pour voir disparaître l'infiltrat lymphocytaire.

Toutes ces bactéries sont des hôtes habituels de la cavité buccale; l'arrêt de l'hygiène leur permet de se développer à l'abris d'autres germes en sous couches de plus en plus importantes.

5 4 Bactériologie parodontale

Avant 1970, on pensait que les maladies parodontales étaient causées par une augmentation de la masse microbienne, cette hypothèse de la plaque non spécifique reste toujours valable pour les gingivites (Loesche 79).

Par la suite, il a été démontré qu'il existait des groupes spécifiques de bactéries associées aux parodontites, c'est l'hypothèse de la plaque spécifique.

Des analyses natives peuvent nous amener à des conclusions erronées. Les bactéries que l'on retrouve fréquemment dans les sites actifs, sont considérées comme indicatrices de la maladie parodontale alors que ce ne sont pas forcément des bactéries pathogènes. D'autres ont considéré les spirochètes comme indice de diagnostic sans pour autant le vérifier.

Bien que les tests microbiologiques soient capables d'établir une relation entre les micro-organismes et les maladies parodontales, ils ne constituent pas une preuve évidente de leur causalité.

Moore classe les bactéries de la plaque en prenant en compte deux facteurs: la quantité et la qualité des micro organismes.

5 4 1 Gingivopathie et parodontolyse de l'adulte

55% de Gram +

Gram +	Gram -
Streptococcus	Bacteroides
Actinomyces	Fusobacterium
	Veillonella
	Haemophilus

On définit deux plaques bactériennes comme suit:

Une plaque adhérente au tissu dentaire qui contient une majorité de Gram + .

Une plaque flottante située entre les tissus durs et la gencive qui renferme des germes mobiles et anaérobies.

5 4 2 Gingivite ulcéro-nécrotique

20% de Gram +

Gram +	Gram -
	Fusobacterium
	Bacteroides
	Spirochete

5 4 3 Parodontolyse aigüe

20% Gram +

Gram +	Gram -
	Actinobacillus actinomycetem comitans
	Fusobacterium
	Bacteroides gingivalis e t intermedius
	Spirochete

•Socransky décrit les critères nécessaires pour définir qu'un micro-organisme puisse être considéré comme l'agent pathogène à l'origine de l'apparition de la maladie parodontale.

Il est nécessaire que l'agent pathogène suspect soit en nombre supérieur dans le site malade par rapport au site sain.

L'élimination du micro-organisme pathogène doit stopper l'évolution de la lésion en activité.

L'augmentation ou la diminution de la réponse immunitaire humorale vis à vis de cet organisme doit évoquer le rôle particulier du micro-organisme considéré dans le processus morbide.

Le rôle d'un micro organisme en tant qu'agent pathogène serait caractérisé par la possession d'une spécificité singulière, caractéristiques biochimiques ou morphologiques par exemple,

qui expliquerait que cet agent la, puisse déclencher le processus de destruction.

- En 1984 Slots défini une flore type des parodontopathies principalement constituée par des germes Gram - de types:

- Bacteroïdes gingivalis

- Actinomyces Actinomycetemcomitans

- Bacteroïdes intermedius

- Spirochetes

- Capnocytophaga

Il défini le facteur bactérien comme principal acteur dans la maladie parodontale bien que la destruction du tissu gingival et de l'attache parodontale soit intimement liés à:

- La sécretion d'enzymes (Collagénases, Trypsin like, Aminopeptidase)

- La libération de facteurs toxiques (Epithéliotoxine, Endotoxine, Facteur inhibant la croissance des fibroblastes)

Le rôle des produits bactériens dans les désordres parodontaux est complexe et loin d'être pleinement compris.

En conclusion, on ne peut pas dire qu'il y a une seule bactérie responsable de ce type de pathologie. On parle plus d'association de tel ou tel germe dans la genèse et l'évolutivité de la maladie. Il existe donc des plaques bactérienes.

6 COMPTAGE DES MICROORGANISMES

Il paraît souhaitable, au plan diagnostic comme au plan du contrôle thérapeutique de ne plus se satisfaire de l'utilisation de tests subjectifs de l'appréciation de l'état de sépticité des surfaces dentaires à traiter. Le microscope optique est un moyen d'évaluation du degré de septicité des tissus parodontaux.

MATERIEL ET METHODE

6 1 Inventaire

- Sonde miroir précelle
- Excavateur
- Pointes de papier
- Scalers
- Source de chaleur
- Plaque de verre et eau distillé stérile

6 2 Stérilisation

Les instruments auront été préalablement stérilisés en autoclave ou étuvés à chaleur sèche L'air ambiant et les objets qui entourent le praticien portent en abondance des germes dit "du milieu extérieur". Pour nous en prémunir, nous réalisons une stérilisation extemporanée des instruments dans un récipient contenant de la javel.

6 3 Champ opératoire et opérateur

La crédibilité des résultats de l'expérimentation sera fonction de l'asepsie existante lors des étapes de prélèvement. Asepsie et antiseptie doivent être combinées pour obtenir les meilleurs conditions de travail.

- Le microscope

Cet instrument d'optique très grossissant, nous permet de visualiser les éléments microbiens des prélèvements effectués in situ. Celui utilisé est un ZEISS KF 2 muni d'un oculaire CPL W 10*/18 et d'un objectif à immersion 100*/1,25.

- Lames de verres classiques

- Pipettes d'eau distillée
- Colorants de Gram
- Papier Joseph
- Site de prélèvement

A ce jour il n'y a pas de moyen idéal pour sélectionner une zone sous gingivale. Chaque auteur sélectionne le site de prélèvement en fonction de critères propres.

- Méthode de prélèvements
- Isolement de l'implant ou de la dent à l'aide de rouleaux de cotons salivaires,
- Rinçage au sérum physiologique,
- Détartrage manuel.

Soit il est nécessaire d'utiliser des pointes de papier pendant 10 sec. Ce procédé est valable avant tout traitement parodontal ou 3 semaines après la chirurgie implantaire.

Soit à l'aide de scalers (détartreurs manuels), ce qui permet d'obtenir d'excellent résultats en densitométrie et réalisable directement après traitement parodontale ou dans les 3 semaines suivant la chirurgie implantaire.

6 4 Méthode

La coloration de Gram

Mise au point en 1883, elle permet de séparer le monde bactérien en deux. Cette dichotomie est basée sur une différence de constitution de la paroi des bactéries. En effet cette paroi représente l'enveloppe externe du corps de la bactérie et on dénote une proportion variable de ses constituants lipidiens. La gramophilie. différencie les germes Gram - (rose) des germes Gram + (violet). La forme est dictée

par l'hérédité : on trouve des Bacilles, des Filaments, des Coccis,
des Vibrions ETC...

7 Intérêt de l'évaluation sous microscope de la flore parodontale

Chaque auteur met en exergue l'un ou l'autre des facteurs sur lesquels porte son étude.

7 1/ M Newman réalise des prélèvements sur 14 patients. Il classe les germes observés en fonction de leur morphologie et de leurs caractéristiques physiologiques.

Dans les sites normaux il trouve des cocci et bacilles Gram + en majorité, des Streptococcus, des Staphylococcus ou des Actinomyces. La flore des lésions parodontales, beaucoup plus riche en germes Gram -, recelle en particulier des Bacteroides, des Campylobacters, des Selenomonas ou des Fusobacterium.

Grace au microscope, il a défini deux types de plaque bactérienne:

- L'une attachée, située au niveau de la jonction amélo-cémentaire renfermant une proportion importante de Gram +.
- L'autre flottante, plus profonde, dont la composition se rapproche de celle trouvée dans les lésions parodontales.

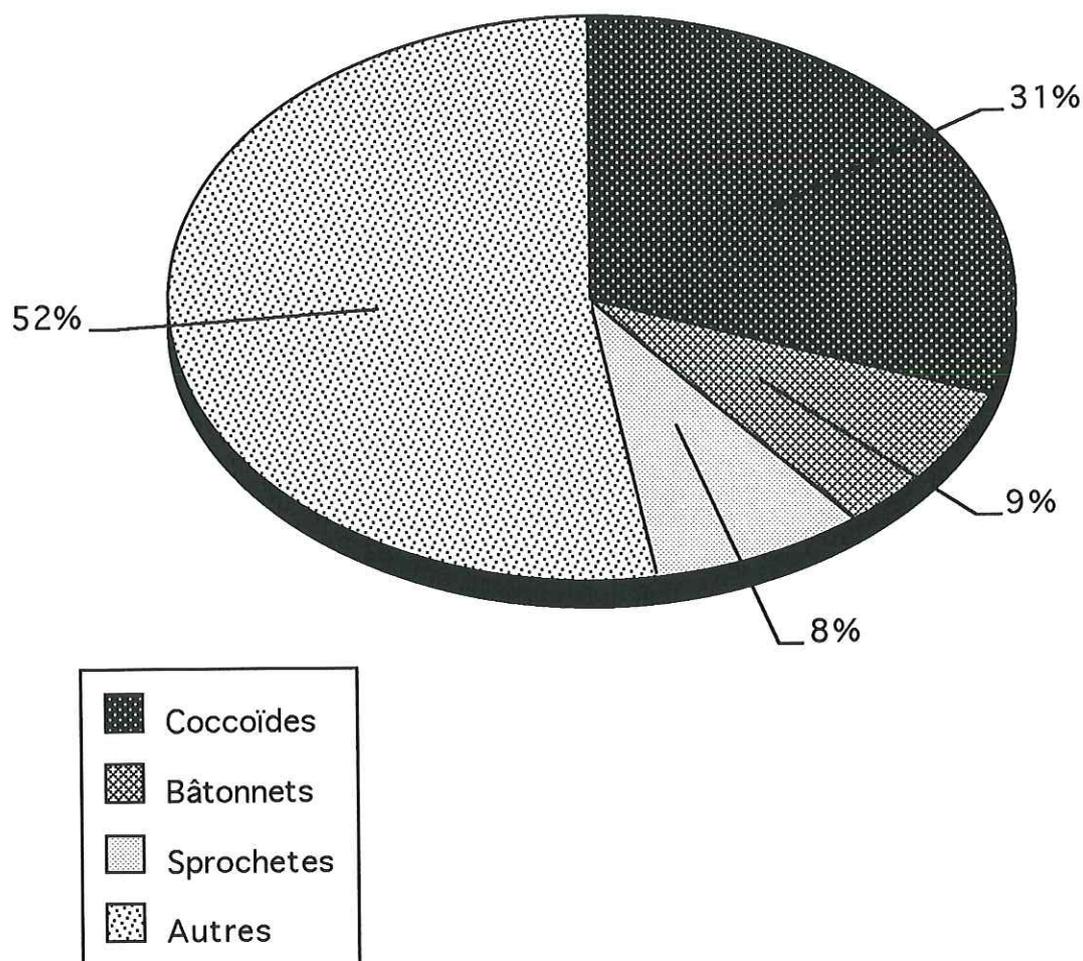
La morphologie des germes rencontrés est par conséquent très différente selon que l'on se trouve en face d'une atteinte de type gingivite ou de type parodontite. L'utilisation du microscope est une aide au diagnostic.

Pour cet auteur, il se pourrait que ce soit seulement certains germes qui soient à l'origine des troubles rencontrés. En effet il a mis en évidence que les bacilles Gram - anaérobies joueraient un rôle dans la rapidité des destructions du parodonte. Newman parle de spécificité bactérienne bien qu'il trouve des pathologies à symptomatologie identique mais d'étiologie et d'évolutivité totalement différentes.

Il ressort de son étude que les problèmes parodontaux restent encore mal connus, ou l'identification des micro-organismes est le prérequis à nos études futures.

7 2/ En 1980 Don Walter Kannangara classe les bactéries suivant leur morphologie. Ceci lui permet d'affiner son traitement car s'il identifie un germe du genre *Bacteroides* il ne prescrira pas de pénicilline car ces derniers sont producteurs de bêta lactamase.

Ces résultats sont :



Ces pourcentages sont obtenus à partir de 19 sujets examinés sur une période de 12 mois et représentent la moyenne des résultats obtenus pour l'ensemble des 7 examens.

Les conclusions de cet auteur sont de trois ordres. Il existerait une corrélation entre:

- Le pourcentage de bâtonnets mobiles et l'indice gingival(ou indice de plaque).

- Le pourcentage du genre Spirochetes et la profondeur du sondage.
- Le pourcentage de cocci et l'indice de plaque.

C'est pourquoi les Spirochetes se sont révélés être de bon marqueur de destruction parodontale.

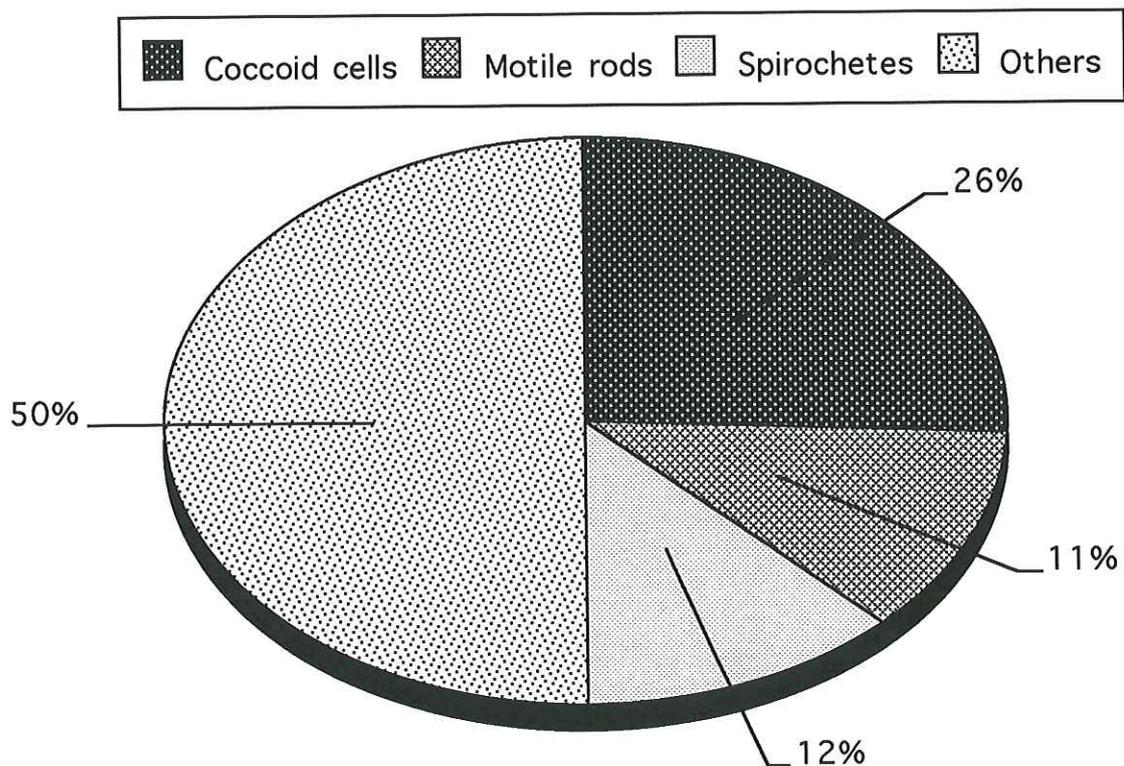
7 3/ Listgarten utilise le microscope à fond noir pour montrer la prévalence de certain morphotype. D'après cet auteur les parodontopathies auraient deux explications:

- Soit une modification de la composition en micro-organismes.
- Soit une diminution des défences propre de l'individu avec une flore stable.

Il évalue la sépticité des sites parodontaux dans un but préventif. Il pense qu'un patient présentant des proportions élevées de bactéries mobiles et de Spirochetes est plus susceptible de déclencher une parodontite ou d'avoir des récives.

Les résultats qu'il obtient sont les suivants:

Que ce soit pour un prélèvement isolé ou global les observations sont similaires.



Il serait envisageable de réduire les récurrences chez des patients ayant eu des pathologies parodontales sévères à modérées par une prévention basée sur le contrôle microbiologique de la plaque subgingivale qui serait beaucoup plus efficace que le suivi systématique prophylactique tous les trois mois.

C'est ainsi que l'on pourra mettre en évidence un changement dans la composition de la flore grâce à la morphologie des germes rencontrés. Par exemple une augmentation du nombre de Bacilles Gram - décellée dans un prélèvement de contrôle peut laisser supposer une reprise de la maladie. Il ressort de ces expériences que la proportion de cocci, bacilles, Spirochetes et autres permet d'évaluer le facteur risque parodontique.

La controverse évidente est que la durée des phases d'activité est très courtes par rapport aux périodes de repos, d'où le risque de diagnostiquer de faux négatif par l'observation de status quo microbiologique si le prélèvement est mal situé dans le temps.

7 4/ En 1984 Kipioti met en exergue l'intimité des rapports qui existent entre l'endodonte et le parodonte. Il effectue des comparaisons de la flore après mise en culture.

Sur 16 patients présentant des parodontopathies chroniques avancées il trouve:

	Poches parodontales %	Canaux radiculaires %
Bacilles Gram -	33,7	19
Bacilles Gram +	10,4	0,3
Cocci Gram -	2,4	0
Cocci Gram +	56,9	80,8

Il ressort de ces observations que la flore des canaux ouverts avec lésion parodontique avancée ressemble à celle trouvée dans les poches parodontales adjacentes. Il reste à déterminer si c'est la poche qui est la source de l'infection des canaux radiculaires ou l'inverse. En effet il se pourrait que la maladie pulpaire puisse être à l'origine de la maladie parodontale et de son maintien.

Cependant lors de lésions parodontiques, sans atteinte carieuse, la similarité des micro-organismes trouvés laisse penser que la poche parodontale est à l'origine de l'infection radiculaire. Par conséquent l'infection pulpaire serait la séquelle de la parodontite. Kipioti trouve que 36,2% des dents présentant une poche parodontale supérieur à 7 millimètres sont nécrosées. L'inter-relation pulpe parodonte n'est donc plus à démontrer.

7 5/ Cinq années plus tard Hess évoque ces mêmes faits: L'infection pulpaire peut trouver son origine dans une poche parodontale; elle donne lieu à une pulpite ascendante pouvant aboutir à une nécrose totale, infectieuse dès son origine.

7 6/ En 1990 Kobayashi établi un rapport entre les germes trouvés dans les parodontopathies et ceux isolés des canaux radiculaires.

Cocci Gram +	Canaux radiculaires	Poches parodontales
Streptococcus	33,89%	13,06%
Peptococcus		
Peptostreptococcus		
Non identifié		

Bacilles Gram +		
Eubacterium	22,96%	14,76%
Propionibacterim		
Actinomyces		
Non identifié		

Cocci Gram -		
Veillonella	10,09%	0,37%
Acidaminococcus		
Non identifié		

Bacilles Gram -		
Fusobacterium	18,57%	32,3%
Bacteroides		
Non identifié		

Dans les deux cas on retrouve les même micro-organismes ce qui pourrait expliquer que des poches parodontales profondes puissent être à l'origine de lésions pulpaires. Des études ont montré que des bactéries situées dans une lésion parodontale pouvaient entrer dans le système canalaire par l'apex.(Yanagimura et al 83).

7 7/ En 1987 Omar évoque les difficultés rencontrées lors de l'observation des prélèvements effectués. Cet auteur pense que les résultats tirés de l'observation au microscope à fond noir sont erronés.

- En premier lieu lors du prélèvement on compte une variabilité des numérations dans des sites ou les profondeurs des poches étaient comparables. De même il pense qu'il y a contamination et réduction du volume de l'échantillon après le curetage.

- En second lieu il y aurait une distribution inégale des différents types morphologiques, une destruction des micro-organismes fragiles ainsi qu'une contamination lors de la dispersion.

- En dernier lieu, un même examinateur est limité par le nombre d'échantillons pouvant être examinés sans perte de l'activité des cellules mobiles.

Pour notre propos s'il est vrai que ces arguments se défendent, nous ne nous intéressons pas à la mobilité des germes car nous fixons nos prélèvements, immédiatement après dilution dans de l'eau distillée.

7 8/ Gary Greenstein défini les critères cliniques des tests réalisables en pratique dentaire. Ils doivent être objectifs, pratiques, simples et acceptables par le patient. Outre les examens bactériologiques, il existe en parodontologie des tests Enzymatiques, d'Immunofluorescence, de DNA, ou des mises en culture. Leurs objectifs communs est de détecter le début de la maladie ainsi que de prédire l'assaut de l'inflammation. Ces tests ne sont pas réalisables couramment car la majeure partie de nos patients ne requièrent pas l'utilisation de ces procédés. En effet le plus souvent le sondage, la mobilité et l'examen radiographique sont suffisant pour poser le diagnostic, orienter le traitement et réaliser les prescriptions.

Il est donc important de relativiser les choses. En effet pour Müller, la répartition entre les différents genres bactériens dans une lésion parodontale n'est pas le reflet de l'activité de la poche.

Ces expériences montrent qu'il n'y a pas de différence entre la flore des lésions actives et inactives observées sous microscope optique à fond noir. Il se pourrait que le rôle des bâtonnets mobiles et des Spirochetes ait été sur évalué.

Dans ces conditions la proportion de Spirochetes dans la plaque subgingivale serait plus un reflet du degré d'inflammation et de la profondeur de la poche que de l'activité de la maladie parodontale.

La colonisation bactérienne serait pour Müller la conséquence et non la cause de la parodontopathie.

8 CONCLUSION

A ce jour aucun test de diagnostic clinique ou de laboratoire n'est capable de prévoir le moment, et le site, où va se déclencher une destruction parodontale.

Il est vrai que la concordance de plusieurs indices, qui se révèlent positifs, mènent à une bonne prévision des parodontopathies. Cependant l'idéal serait de trouver un test unique hautement spécifique, sensible, simple et pratique.

En conclusion le contrôle de l'état de sépticité tissulaire ne semble pas pris en compte d'une manière spécifique, et les éléments d'appréciation utilisés restent le plus souvent totalement empiriques. La microscopie optique est une méthodologie simple, pouvant être mise en oeuvre d'une manière routinière au cours de nos traitements afin

- d'affiner nos diagnostics
- de contrôler l'efficacité de nos actes opératoires
- et de préciser les thérapeutiques à instaurer.

Nos actes thérapeutiques ont pour objectifs à la mise à plat des foyers infectieux chroniques ou aigus, la désinfection des sites traités.

Si la technique chirurgicale mise en place a grandement évolué, il est remarquable de constater que cette amélioration ne s'est pas faite sentir en microbiologie.

9 BIBLIOGRAPHIE

1 ATOUN H 1991

Peut-on prévoir de nos jours le déclenchement des maladies parodontales?

Info dentaire, 1991, 73, no25, 2059-2073

2 BARR-AGHOLME M., DALHOF G., LINDER L, MODEER T.

Actinobacillus actinomycetemcomitans, Capnocytophaga and Porphyromonas gingivalis in subgingival plaque of adolescents with down's syndrome

Oral Microbiol. Immunol., 26, 184-190, 1991

3 BRAGD L., DAHLEN G., WIKSTROM M and SLOTS J.

The capacity of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bacteroides gingivalis and Bacteroides intermedius to indicate progressive periodontitis; a retrospective study

J. Clin. Periodontol., 14, 95-99, 1987

4 CARLE A

Thèse Chir Dent

92 LYO 1 D 080 1992 LYON

5 CHRISTERSSON L.A., FRANSSON C.L., DUNFORD and ZAMBON J.J.

Subgingival distribution of periodontal pathogenic microorganisms in adult periodontitis

J. Periodont., 63, 5, 1992

6 CLERMONT D. et BOY LEFEVRE M.L.

Microbiologie orale et son rôle étiologique : la flore buccale et les interactions hotes bactéries

Info dentaire, 4, 1992

7 DECHAUME M, Grellet M, Laudénbach P et Payen J 1980

Précis de stomatologie

Paris, Masson, 1980, 426 p, ill

8 DZINK J.L., SOCRANSKY S.S. and HAFFAJEC A.D.

The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesion of destructive periodontal diseases

J. Clin. Periodontol., 15, 316-323, 1988

9 DZINK J.L., TANNER A.C.R., HAFFAJEC A.D. and SOCRANSKY S.S.
Gram negatif species associated with active destructive periodontal lesions

Journal of Clinical Periodontology, 12, 648-659, 1985

10 FERMIN A., CARRANZA J.

La parodontologie clinique

C.D.P., 977 p, 1988

11 FOREST Duquette et Michaud 1983

Médecine Buccale (Méthodologie du diagnostic)

Prefontaine INC, ESCA, 1983, 291 p

12 GAJEWSKA M., SMALES F.C., HARDIE J.M. and KHO P.

The evaluation of new technique for anaerobic sampling of deep periodontal pockets

J. Periodontol., 54, 6, 354-356, 1983

13 GREENSTEIN G 1987

Microbiologic asseesments to enhance periodontal diognosis

Jour. period, 1987, 508-513

14 GRENIER D.et MAYRAND D.

Selected characteristics of pathogenic and non pathogenic strains of Bacteroides gingivalis

Journal of Clinical Microbioloy, 738-740, 1987

- 15 KIPIOTI A, Nakou M, Legakis N et Mitsis F 1984
Microbiological findings of infected root canals and adjacent periodontal pockets in teeth with advanced periodontitis
Oral Surg, 1984, 58,213-220
- 16 KOBAYASHI T, Hayashi A, Yoshikawa R, Okuda K et Hara K 1990
The microbial flora from root canals and periodontal pockets of non vital teeth associated with advanced periodontitis
International Endodontic Jour., 1990, 23, 100-106
- 17 LISTGARTEN MA et Levin S 1981
Positive correlation between the proportion of subgingival spirochetes and mobile bacteria and susceptibility of human subjects to periodontal deterioration
Jour. of clinical Periodont., 1981, 8, 122-138
- 18 LISTGARTEN MA, Levin S, Schiffer C, Sullivan P, Evian C et Rosenbergt ES 1984
Comparative differential dark-field microscopy of subgingival bacteria from tooth surfaces with recent evidence of recurring periodontitis and from nonaffected surfaces
Journ. Periodont, 1984, 55, no7,398-401
- 19 LISTGARTEN MA, Levin S, Sullivan P, Evian C et Rosenbergt E 1984
Bacterial proportion at sites with recurrent periodontitis
Jour. Periodo, 1984, 55, no7, 398-401
- 20 MOMBELLI A., NABB Mc H., LANG N.P.
Black pigmented Gram negative bacteria in periodontal disease I topographic distribution in human dentition.
Periodont. Res.,26 :184-190, 1991

21 MOORE W.E.C., HOLDEMAN L.W., CATO E.P., SMIBERT R.M.,
BURMEISTER J.A. and RANNEY R.R.
Bacteriology of moderate (chronic) periodontitis in mature adult
humans
Infection and Immunity, 42, 316-323, 1988

22 MOORE W.E.C., MOORE L.H., RANNEY R.R., SMIBERT R.M.,
BURMEISTER J.A. and SCHENKEIN H.A.
The microflora of periodontal sites showing active and destructive
progression
J. Clin. Periodontol., 18, 729-739, 1991

23 MULLER HP et Jacoby F 1987
Distribution of morphologically different micro organisms
associated with active periodontal lesions
Jour Clin Periond, 1987, 14, 110-117

24 NEWMAN G, Savitt D, Crawford, Socransky S et Propas A. 1976
Studies of the microbiology of periodontosis
Jour. Periodont, 1976, 47, no7, 373-378

25 PAWLAL E.A. and HOAG Ph. M.
Manuel de parodontologie
Masson, 204 P, 1988

26 RENVERT S., WIKSTROM M., HELMERSSON H. DAHLEN G. and
CLAFFEY N.
Comparative sutudy of subgingival microbiological sampling
techniques
J. Periodontol., 63, 797-801, 1992

27 RENVERT S., WIKSTROM M., HELMERSON M., DAHLEN G. and
CLAFFEY N.
Comporative study of subgingival microbiological sampling
techniques
J. Periodontol, Oct, 797-801, vol 63, 10, 1991

28 SCAVIZZI M 1986

Antibiothérapie en pathologie bucco-dentaire
Paris, Flammarion médecine science, 1986

29 SHAH H.N. and COLLINS M.D.

Proposal for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*,
Bacteroides gingivalis and *Bacteroides endodontalis* in a new
genus, *Porphyromonas*
International Journal of Systematic Bacteriology, 128-131, 1988

30 SLOTZ J et Jgeno R 1984

Microbial pathogenicity: Black pigmented *Bacteroides* species,
Capnocytophaga species and *Actinobacillus*
actinomycetemcomitans in human periodontal disease: virulence
factors in colonisation, survival and tissue destruction
Jour Dent Res, 1984, 63, no3, 412-421

31 SLOTZ J., GENCO R.J. and MERGENHAGEN S.E.

Importance of black pigmented *Bacteroides* in human periodontal
disease In : Host parasite interaction periodontal diseases
American Society for Microbiology, 27-45, eds Washington DC

32 SPECIA 1987

Infection cutanées et bactériennes
P.I.L, 1987 108 p

33 SULITZEANN A, Beutner EH et Epstein LI 1969

Bacteriologic studies of pulp involved teeth by cultural and
microscopic methods
The Jour of American dental association, 1964, 69, no3, 300-307

34 WOESE C.R.

Bacterial evolution
Micobiol. Rev., 51, 221-271, 1987

