# Stratégies bactériennes au niveau du sillon gingivo-dentaire

**Frédéric DUFFAU**

Docteur en chirurgie dentaire
Diplômé de l'université Paris 5
Ancien assistant universitaire de l'École de médecine dentaire de Genève, Suisse
Pratique Privée, Paris

*Accepté pour publication : 10 juillet 2014*

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant cet article.

## *Bacterial strategies in the gingival sulcus*

### RÉSUMÉ

*Sur Terre, les bactéries ont précédé l'espèce humaine de plusieurs milliards d'années. Durant ce temps, elles ont eu tout le loisir de développer des stratégies de colonisation efficaces afin de garantir leur survie. L'espèce humaine n'a été dès lors qu'un nouveau territoire à conquérir.*
*Cette revue de la littérature scientifique propose de faire le point sur les moyens mis en œuvre par les bactéries pour adhérer aux surfaces dentaires et gingivales, pour contourner ou détruire les systèmes de défense de l'hôte, pour obtenir des nutriments, ou encore pour se protéger, notamment par la formation d'un biofilm leur assurant ainsi un partage des ressources fiable, une réaction mutualisée aux perturbations du milieu et une protection accrue contre les défenses de l'hôte ou les molécules antibiotiques et antiseptiques.*
*Ces connaissances microbiologiques permettront d'alimenter notre réflexion clinique.*

### MOTS CLÉS

*Bactéries, maladies parodontales, parodontopathogènes, facteurs de virulence, biofilm parodontal.*

### ABSTRACT

*Bacteria appeared on earth billion years before humans. During this period of time, they developed efficient colonization strategies thereby ensuring their ability to survive. The human species became a new territory to conquer.*
*This revue of literature proposes to show various means implemented by bacteria to adhere on dental and gingival surfaces, to avoid or destroy the host defense system, to feed themselves or to protect themselves. The creation of a biofilm will be one their most efficient mean enabling them not only to share resources, but also ensuring an appropriate and mutualized answer in case of environmental disruption and a better protection against the host defense, antibiotics or antiseptics.*
*This microbiological knowledge should enable us to enrich our clinical research.*

### KEY WORDS

*Bacteria, periodontal diseases, periodontopathogenic bacteria, virulence factors, periodontal biofilm.*



© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

## *Introduction*

Si, de par leur mode de conception, Adam et Ève n'avaient sans doute pas de nombril, de nombreux indices semblent indiquer qu'ils auraient pu présenter une parodontite. C'est en tout cas ce que montrent la plupart des crânes de nos ancêtres *Australopithecus africanus* (Ripamonti, 1988, 1989), *Homo ergaster* (Groves et Mazak, 1975 ; Rightmire et Lordkipanidze, 2009), *Homo heidelbergensis* (Czarnetzki *et al.*, 2003) ou encore *Homo neanderthalensis* (Straus et Cave, 1957 ; Klein, 2009) mis au jour par les archéologues. Il est par ailleurs édifiant de réaliser que près de 3 millions d'années séparent *Australopithecus africanus* du premier ensemble de toilette propre à l'hygiène dentaire trouvé en Mésopotamie et daté de 3000 av. J.-C. (Fischman, 1997). Il faudra ensuite attendre 1683 pour qu'un drapier hollandais du nom d'Antonie van Leeuwenhoek transmette à la Société royale de Londres les premières observations de bactéries de la plaque dentaire obtenues à l'aide d'un système de microscope rudimentaire (Ford, 1986). Enfin, trois siècles s'écouleront encore pour que, en 1965, le lien soit établi entre, d'une part, l'accumulation et la diversité bactérienne de la plaque dentaire et, d'autre part, l'inflammation gingivale (Löe *et al.*, 1965). À cette publication, proposant un suivi microbiologique et clinique d'une gingivite expérimentale, succède en 1975 une expérimentation équivalente montrant sans équivoque l'influence de l'accumulation de la plaque dentaire sur le développement des parodontites chez le chien (Lindhe *et al.*, 1975). Les publications concernant la plaque dentaire se multiplieront à partir de ces années 1970 avec notamment une série d'observations au microscope électronique à transmission dévoilant des agrégations organisées de centaines de micro-organismes qui varient autant en quantité qu'en diversité selon la maturation des dépôts (Listgarten *et al.*, 1975 ; Brecx *et al.*, 1980, 1981 ; Saxton, 1973 ; Listgarten *et al.*, 1973 ; Theilade et Theilade, 1970) et la forme clinique de la maladie parodontale (Listgarten, 1976 ; Westergaard *et al.*, 1978 ; Hillam et Hull, 1977). La mise au point de nouvelles méthodes d'imagerie (microscopie confocale, hybridation *in situ* en fluorescence) et de nouvelles techniques moléculaires (sondes ADN, réaction en chaîne par polymérase, puces à ADN, protéomique, transcriptomique, technologie des gènes rapporteurs) a permis, dans un temps réduit, de considérablement multiplier nos connaissances sur la diversité bactérienne de la flore orale (Aas *et al.*, 2005 ; Paster *et al.*, 2001 ; de Lillo *et al.*, 2006 ; Keijser *et al.*, 2008), les conditions de développement des bactéries ou encore leurs facteurs de virulence.

Cette revue propose de mettre en lumière les principales stratégies déployées par les bactéries pour survivre dans cet espace limité que constitue le parodonte, depuis leur acquisition dans la cavité orale jusqu'à la formation sophistiquée du biofilm dentaire.

## *Bactéries du milieu buccal*

Si l'on ne compte qu'un millier de bactéries dans un sillon gingival sain, plus de 100 millions peuvent être recensées au sein d'une poche parodontale et jusqu'à 1 milliard peuvent coloniser une surface dentaire sus-gingivale (Socransky et Haffajee, 2008). Plus de 700 espèces bactériennes distinctes sont en mesure de survivre dans la cavité orale et 400 sont capables de s'organiser au sein de la flore sous-gingivale (Aas *et al.*, 2005). Il apparaît également que les sites colonisés tels que le biofilm dentaire ou les muqueuses orales contiennent le plus souvent entre 20 et 30 espèces prédominantes (Aas *et al.*, 2005). Le nombre d'espèces bactériennes par individu varierait entre 34 et 72 (Aas *et al.*, 2005).

Assez récemment, des techniques plus discriminantes de pyroséquençage ont évalué à près de 19 000 le nombre de phylotypes capables de coloniser la salive et la plaque sus-gingivale d'adultes sains (Keijser *et al.*, 2008).

### Acquisition des bactéries

Spontanément, la première hypothèse qui permettrait d'expliquer l'acquisition des bactéries dans la cavité orale est celle de l'apport par l'alimentation. On pourrait effectivement supposer que des bactéries présentes de façon naturelle dans les aliments colonisent ainsi les individus. Mais une étude comparant la flore bactérienne d'enfants intubés à celle d'enfants alimentés de façon normale ne montre aucune différence en termes de diversité et de concentration des différentes espèces bactériennes (Chen *et al.*, 1997). En conséquence, une seconde hypothèse propose que les bactéries se transmettent de façon directe d'un individu à l'autre. Ainsi, plusieurs travaux mettent en évidence la transmission bactérienne au sein d'un couple (Saarela *et al.*, 1993 ; Asikainen *et al.*, 1996), entre parents et enfants (Alaluusua *et al.*, 1991 ; Petit *et al.*,


© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

1993 ; Kononen *et al.*, 1994 ; Kobayashi *et al.*, 2008) et même entre animal de compagnie et membres de la famille (Preus et Olsen, 1988 ; Yamasaki *et al.*, 2012). Une étude a permis de suspecter la transmission bactérienne par l'intermédiaire de l'alimentation entre membres de la famille se nourrissant dans un plat commun, sans couverts (Haubek *et al.*, 2005). Cependant, il est intéressant de noter que la récidive d'une parodontite chez un individu semble ne pas être corrélée à la présence de parodontopathogènes suspectés chez son conjoint mais bien aux bactéries déjà présentes chez l'hôte (von Troil-Linden *et al.*, 1996). Ce type d'observation écarte la nécessité de traitement du conjoint du patient lorsque ce dernier présente une parodontite.

Ensuite, plusieurs obstacles devront être franchis pour que ces bactéries puissent investir le milieu buccal. Le flux salivaire permettant d'entraîner les bactéries en suspension vers l'estomac lors de la déglutition, la desquamation des couches superficielles des muqueuses orales ou encore les composantes antimicrobiennes de la salive et du fluide gingival telles que les cellules immunitaires (Delima et Van Dyke, 2003), les peptides antimicrobiens ou défensines (Gorr et Abdolhosseini, 2011), les immunoglobulines (Ebersole *et al.*, 2013), le lysozyme (Surna *et al.*, 2009 ; Choi *et al.*, 2011), la lactoferrine (Glimvall *et al.*, 2012), l'alpha-amylase (Baik *et al.*, 2013 ; Choi *et al.*, 2011) ou les glycoprotéines capables d'agréger les bactéries (Slomiany *et al.*, 1996) sont autant d'entraves à la colonisation bactérienne dans la cavité orale.

Les bactéries les plus en réussite pourront adhérer à la surface dentaire, sur ce film que forme la pellicule exogène acquise, grâce à une adhésion non spécifique par l'intermédiaire de forces réversibles hydrophobiques, électrostatiques et de mouvements browniens (Gibbons et Etherden, 1983 ; Cowan *et al.*, 1987 ; Bos *et al.*, 1999 ; Busscher *et al.*, 2008), ou à la surface d'autres bactéries grâce à une adhésion spécifique, irréversible, par l'intermédiaire de connexions ligand contre récepteur (Kolenbrander *et al.*, 2002 ; Carlen *et al.*, 1998 ; Kolenbrander *et al.,* 2006). Ces liaisons spécifiques entre bactéries, ou entre bactéries et dents, ou encore entre bactéries et surfaces muqueuses reposent sur des mécanismes d'adhésion faisant intervenir des adhésines bactériennes localisées sur les cils *(pili),* les *fimbriae* de type 1 présentant une affinité pour les surfaces dentaires les *fimbriae* de type 2 présentant une affinité pour les surfaces muqueuses, la capsule de certaines espèces, les lipopolysaccharides des bactéries à Gram négatif ou encore l'acide téichoïque ou lipotéichoïque des bactéries à Gram positif (Yeung, 1999 ; Jenkinson et Lamont, 1997 ; Whittaker *et al.*, 1996).

Les colonisateurs les plus précoces trouveront sur la surface dentaire de nombreux récepteurs contenus dans la pellicule exogène acquise, tels que mucines, protéines riches en proline (stathérine), fibronectine, amylase, lysozyme, lactoferrine, histatine, cytokératines et autres protéines plasmatiques (Yao *et al.*, 2003 ; Rudiger *et al.*, 2002 ; Saxton, 1973 ; Brecx *et al.*, 1980 ; Hannig *et al.*, 2005). Il est intéressant de noter que des éléments du système immunitaire non spécifique, tels que les mucines, sont détournés au profit de l'adhésion bactérienne (Hannig *et al.*, 2005 ; Slomiany *et al.*, 1996). Ces premières bactéries colonisatrices sont principalement des bactéries à Gram positif telles que *Streptococcus oralis, Streptococcus mitis, Streptococcus gordonii, Streptococcus sanguinis* ou encore *Actinomyces naeslundii* (Kolenbrander *et al.*, 2002 ; Nishihara et Koseki, 2004 ; Kolenbrander *et al.*, 2006). L'adhésion de bactéries à une surface s'accompagne d'une modification de la régulation de leurs gènes. Sur le genre bactérien *Pseudomonas aeruginosa,* rencontré principalement dans des infections pulmonaires, il a pu être montré que le processus d'adhésion entraînait la régulation positive de gènes impliqués dans la synthèse d'alginate durant les 15 minutes qui suivent le contact initial (Davies et Geesey, 1995).

Une deuxième vague de colonisation peut alors se mettre en place, trouvant sur ce lit bactérien de nouveaux moyens d'adhésion. Ces colonisateurs secondaires, toujours considérés comme précoces et parmi lesquels on retrouve des bactéries telles qu'*Eikenella corrodens* ou *Capnocytophaga ochracea*, seront ensuite suivis de colonisateurs tardifs parmi lesquels on retrouve les parodontopathogènes les plus fréquemment suspectés (Kolenbrander *et al.*, 2002, 2006 ; Nishihara et Koseki, 2004) (**fig. 1**).

Pellicule exogène acquise et colonisateurs précoces s'agrègent dans les secondes qui suivent le brossage des surfaces dentaires (Hannig *et al.*, 2005). Les colonisateurs secondaires et tardifs s'organisent ensuite selon les conditions environnementales et permettent la formation d'un biofilm mature en seulement quelques jours (Quirynen *et al.*, 2005).

Durant toutes les phases décrites précédemment, les bactéries se multiplient tout en continuant de produire


© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

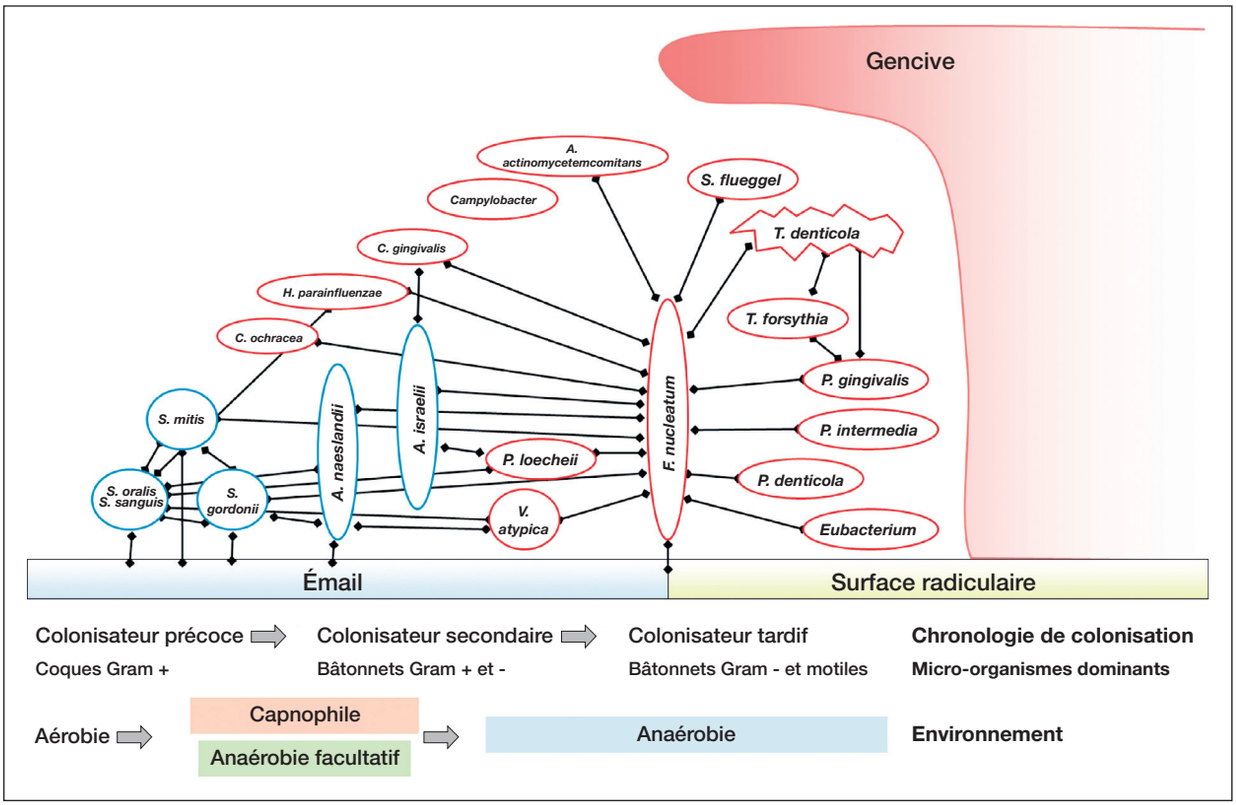


**Fig. 1.** Organisation de la flore parodontale (d'après Kolenbrander *et al.*, 2002, 2006 ; Nishihara et Koseki, 2004).

**Fig. 1.** Organisation of the periodontal flora (adapted from Kolenbrander *et al.*, 2002, 2006; Nishihara and Koseki, 2004).

la matrice du biofilm par la synthèse de polysaccharides (Allison, 2003 ; Branda *et al.*, 2005).

La diversité bactérienne est également influencée par le milieu dans lequel interagissent les bactéries. Ainsi, l'inflammation parodontale causée par la présence de bactéries entraîne une augmentation du débit du fluide gingival associée ou non à un saignement (Goodson, 2003). Celui-ci apporte nombre de protéines et glycoprotéines de l'hôte, substrats indispensables à la croissance de nombreuses espèces anaérobies du biofilm sous-gingival (ter Steeg *et al.*, 1987 ; ter Steeg et Van der Hoeven, 1989). L'activité protéolytique de ces bactéries s'accompagne d'une légère augmentation du pH local qui contribue à améliorer la compétitivité de bactéries comme *Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia* et *Fusobacterium nucleatum* (McDermid *et al.*, 1988 ; Rogers *et al.*, 1991 ; Takahashi et Schachtele, 1990). Par ailleurs, l'activité protéolytique de *P. gingivalis* augmente lorsque la concentration en hémine augmente dans son environnement (Marsh *et al.*, 1994). Selon cette concentration en hémine, des travaux montrent que c'est l'expression de 70 protéines qui est modulée. Notamment, lorsque la concentration en hémine descend en dessous d'un seuil, une protéine impliquée dans l'invasion cellulaire est surexprimée, facilitant un changement radical d'environnement pour la bactérie (Dashper *et al.*, 2009). En revanche, une augmentation importante de la température va diminuer l'activité protéolytique de *P. gingivalis* (Percival *et al.*, 1999). Très récemment, il a été montré que les variations hormonales liées au stress influençaient la croissance de certaines bactéries. Celle de *F. nucleatum* augmente en présence des hormones du stress, celle de *P. gingivalis* n'est pas influencée par lesdites hormones, tandis que celles de *P. intermedia* et d'*E.corrodens* sont inhibées (Jentsch *et al.*, 2013).

Il apparaît ainsi clairement que de faibles modifications de l'environnement peuvent offrir un avantage



© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

métabolique conséquent à certaines espèces bactériennes initialement sous-représentées. Lorsque cet avantage persiste au profit de bactéries potentiellement virulentes pour l'hôte, le glissement d'une flore commensale vers une flore pathogène se confirme et la maladie devient possible (Marsh, 2003).

## Parodontopathogènes suspectés

Le cadre infectieux des parodontites aura fait couler beaucoup d'encre. D'un côté, les partisans de la plaque non spécifique, selon lesquels les parodontites découleraient d'un système immunitaire ployant sous la charge bactérienne (Theilade, 1986). De l'autre, les défenseurs d'une plaque spécifique selon lesquels seules quelques bactéries de la flore commensale ou exogènes seraient en mesure de provoquer les parodontites (Loesche, 1979).

Pour débusquer les pathogènes potentiels, les postulats de Koch ont pendant un temps été envisagés (Koch, 1876 ; Carter, 1987). Selon ces derniers, pour qu'un micro-organisme puisse être considéré comme l'agent pathogène de la maladie étudiée, un certain nombre de conditions devaient être remplies. Il s'agissait tout d'abord d'isoler l'agent suspect à partir d'une victime malade. Ensuite, l'agent devait pouvoir être cultivé en culture pure. Alors, l'infection d'un hôte sain avec cet agent devait conduire l'organisme infecté à reproduire les symptômes classiques de la maladie. Enfin, l'agent pathogène devait être isolé à partir de la nouvelle victime. Ces postulats ont conduit à de nombreuses études dans le cadre des maladies parodontales (Holt *et al.*, 1988 ; Schreiner *et al.*, 2003). La plus emblématique montrait notamment la pathogénicité de *P. gingivalis* dans le cadre d'une mono-infection parodontale chez le singe (Holt *et al.*, 1988). Il en fut déduit que *P. gingivalis* était un agent étiologique des parodontites, sans pour autant que la même expérience ne soit reproduite avec l'ensemble des bactéries capables de coloniser le milieu buccal. Les postulats de Koch appliqués aux maladies parodontales furent remis en question lorsqu'on détecta des espèces potentiellement parodontopathogènes que l'on ne pouvait faire croître en culture et lorsqu'on accepta qu'ils ne pouvaient s'appliquer à des infections polymicrobiennes. Une adaptation de ces postulats au cadre parodontal propose de considérer une bactérie comme un pathogène suspecté lorsqu'elle remplit les critères énumérés dans le **tableau I** (Socransky, 1977, 1979 ; Socransky et Haffajee, 1994). De cette façon, un petit nombre de bactéries ont pu acquérir les lettres de noblesse de parodontopathogènes suspectés. Il s'agit entre autres de *P. gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans, P. intermedia, Treponema denticola, T. forsythia, F. nucleatum, C. rectus* ou encore *Parvimonas micra* (Socransky et Haffajee, 1994 ; Socransky *et al.*, 1998). À ce stade, il peut être d'un intérêt non négligeable de préciser que ces genres bactériens présentent de nombreuses sous-espèces. Ainsi distingue-t-on 6 sérotypes de *P. gingivalis* (Amano *et al.*, 2004) regroupant plus d'une centaine de génotypes (Loos *et al.*, 1993 ; Chen et Slots, 1994 ; Menard et Mouton, 1995). On distingue également 7 sérotypes pour *A. actinomycetemcomitans* (Saarela *et al.*, 1992 ; Kaplan *et al.*, 2001 ; Takada *et al.*, 2010) comptant plus d'une trentaine de génotypes (Kaplan *et al.*, 2002). Aussi surprenant que cela puisse paraître, certaines sous-espèces de *P. gingivalis* et d'*A. actinomycetemcomitans* sont associées à la santé parodontale (Asikainen *et al.*, 1991 ; Amano *et al.*, 2000).

| Critères | Définitions |
|---|---|
| Association | Les espèces doivent être retrouvées plus fréquemment et en plus grandes proportions chez les patients malades |
| Élimination | L'absence de ces espèces doit s'accompagner d'une rémission de la maladie |
| Réponse de l'hôte | La production d'anticorps ou la réponse cellulaire immunitaire doit être dirigée spécifiquement contre ces espèces |
| Facteurs de virulence | La virulence des produits du métabolisme ou des propriétés de ces espèces doit être avérée |
| Évaluation du risque | Des études prospectives doivent mettre en évidence la corrélation entre la présence de ces espèces et la progression de la maladie |

**Tableau 1.** Conditions pour qu'un micro-organisme puisse être considéré comme associé à une maladie parodontale (d'après Socransky, 1977, 1979 ; Socransky et Haffajee, 1994).

**Table 1.** Requirements for a micro-organism to be considered as being linked with a periodontal disease (adapted from Socransky, 1977, 1979; Socransky and Haffajee, 1994).



© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

Les conséquences sur l'information apportée par les tests microbiens commercialisés, sans que soient précisés le ou les sérotypes reconnus, seront soumises à l'appréciation de chacun.

En raison de ces associations, ces espèces bactériennes sont devenues, en une trentaine d'années, le sujet de plusieurs milliers de publications scientifiques. À l'issue de l'année 2013, on comptait plus de 5 800 publications traitant de *P. gingivalis*, plus de 3 400 traitant d'*A. actinomycetemcomitans* ou encore près de 1 900 traitant de *P. intermedia* ou de *F. nucleatum* (données Medline/PubMed au 1er octobre 2013). Pourtant, d'autres espèces mériteraient notre attention. Une cinquantaine d'entre elles, mais il y en a sans doute plus, ont été découvertes dans 4 travaux de recherche et n'ont depuis fait l'objet d'aucune autre forme d'attention dans le cadre des maladies parodontales (Kumar *et al.*, 2003, 2005 ; Paster *et al.*, 2001 ; de Lillo *et al.*, 2006). Il s'agit, pour ne citer qu'elles, d'*Eubacterium saphenum,* de *Bacteroidetes* clone AU 126, de *Megasphaera* clone BB 166 et d'OP 11 clone X112.

## Facteurs de virulence

Dans une publication datée de 1979, un bâtonnet anaérobie à Gram négatif appelé Y4 est isolé de la plaque dentaire de patients présentant une parodontite agressive localisée (anciennement parodontite juvénile) (Baehni *et al.*, 1979). Des polynucléaires humains mis en présence de cette souche bactérienne et observés au microscope électronique à transmission voient leur structure se désagréger en moins de 10 minutes. Il s'agit de la première publication montrant le potentiel cytotoxique de bactéries de la flore parodontale. Plusieurs années plus tard, Y4 devint *A. actinomycetemcomitans*.

Depuis, la connaissance des facteurs de virulence d'*A. actinomycetemcomitans* s'est considérablement étoffée. Leucotoxine, collagénase, endotoxine, épithéliotoxine, facteur inhibant les fibroblastes, facteur induisant la résorption osseuse, induction de la production de cytokines par les macrophages, modification de la fonction des polynucléaires neutrophiles, dégradation des immunoglobulines, toxines létales de dilatation cellulaire *(cytolethal distending toxins),* induction de l'apoptose cellulaire et capacité à s'introduire dans les cellules de l'hôte sont autant de moyens mis en œuvre par cette espèce bactérienne pour survivre au sein de la flore parodontale (Socransky et Haffajee, 1994 ; Rudney *et al.*, 2005, 2001).

*T. forsythia* propose également de nombreuses possibilités de nuisance : endotoxines, production d'acides gras et de méthylglyoxal, capacité à induire l'apoptose des cellules, production de cytokines de plusieurs cellules de l'hôte, capacité à s'introduire dans les cellules de l'hôte (Rudney *et al.*, 2005 ; Socransky et Haffajee, 1994).

*P. gingivalis* n'est pas en reste en proposant les facteurs de virulence suivants : collagénase, endotoxine, activité protéolytique trypsine-*like,* fibrinolysine, hémolysine, protéases telles que gingipaïnes ou phospholipase A, dégradation des immunoglobulines, facteur inhibant les fibroblastes, induction de la production de cytokines par différentes cellules de l'hôte, capacité à générer des chimiotactismes, inhibition de la migration des polynucléaires à travers les barrières épithéliales ou encore capacité à s'introduire dans les cellules de l'hôte (Socransky et Haffajee, 1994 ; Rudney *et al.*, 2001, 2005). Les plus efficaces de ces facteurs de virulence semblent être les gingipaïnes qui consistent en 3 cystéines protéases impliquées dans tous les registres de virulence de *P. gingivalis* (Guo *et al.*, 2010 ; Imamura *et al.*, 2003 ; Potempa *et al.*, 2003) (**fig. 2**).

Les gingipaïnes sont ainsi employées dans l'adhérence de *P. gingivalis* à différents sites de la cavité orale et facilitent la colonisation du biofilm dentaire dans le sillon gingivo-dentaire (Guo *et al.*, 2010).

Elles jouent également un rôle dans la formation de biofilm associant *P. gingivalis* et *T. denticola* (Zhu *et al.*, 2013). Elles sont impliquées dans l'acquisition de nutriments. Pour cela, elles participent tout d'abord à l'agrégation de *P. gingivalis* aux érythrocytes et à la lyse de ces derniers pour libérer l'hémoglobine. Puis, elles contribuent à la liaison de la bactérie à l'hémoglobine et, en la dégradant, à l'extraction de l'hème qui, dégradé à son tour, permettra la mise à disposition de fer, indispensable à la croissance de la bactérie. La survie nutritionnelle de *P. gingivalis* passe également par le clivage de peptides, pour subvenir à ses besoins en carbone et en nitrogène. Une fois encore, les gingipaïnes sont mises à contribution en déclenchant la cascade de dégradations des protéines d'origine sanguine et tissulaire, voire de protéines provenant de la lyse d'autres bactéries telles que *T. forsythia* (Guo *et al.*, 2010).

Ensuite, ces gingipaïnes sont parties prenantes dans la neutralisation du système immunitaire de l'hôte, en


© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

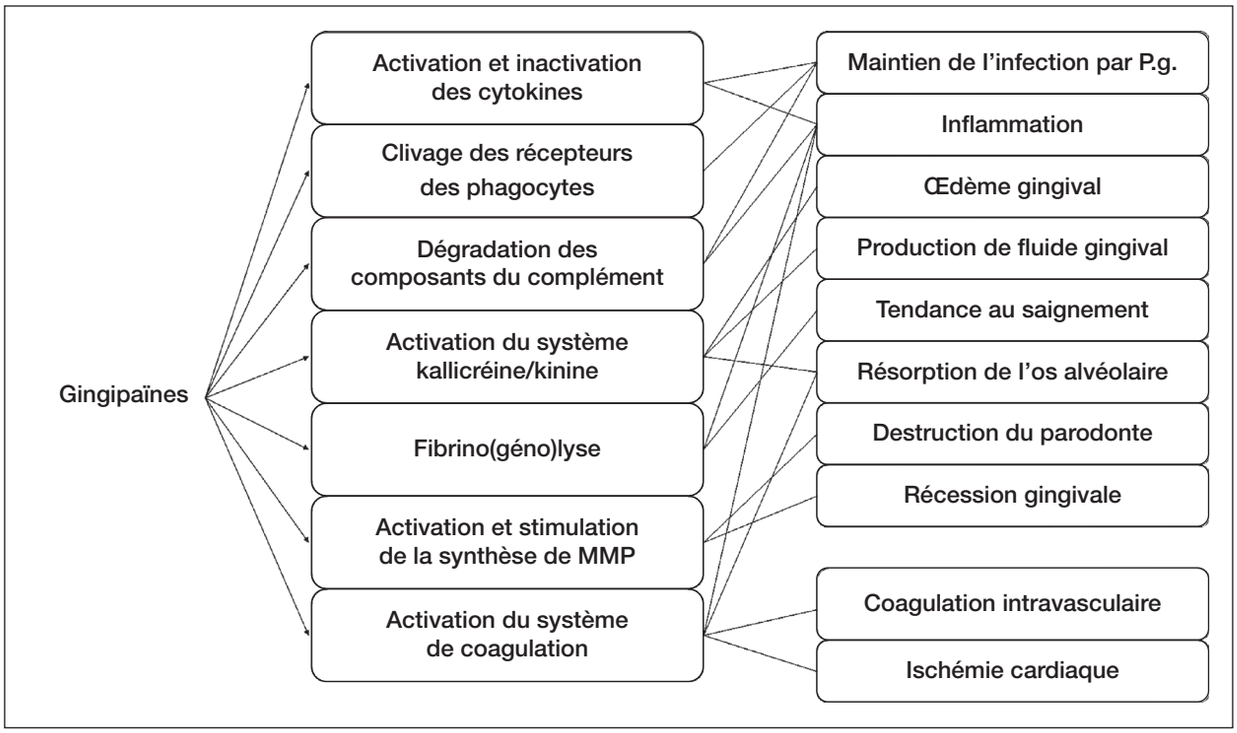


**Fig. 2**. Actions locales et systémiques des gingipaïnes produites par *P. gingivalis* (d'après Guo *et al.*, 2010 ; Imamura *et al.*, 2003 ; Potempa *et al.*, 2003).
**Fig. 2**. Local et systemic effects of the gingipains produced by *P. gingivalis* (adapted from Guo *et al.*, 2010; Imamura *et al.*, 2003; Potempa *et al.*, 2003).

dégradant des peptides antimicrobiens tels que les bêta-défensines humaines et la cathélicidine humaine LL 37, en dégradant des composants du complément ou encore en attaquant et en détruisant de nombreux types cellulaires de l'hôte comme des cellules immunitaires des fibroblastes, des cellules épithéliales et endothéliales (Guo *et al.*, 2010). Il peut être utile de préciser que, par ces moyens, les gingipaïnes entretiennent une inflammation locale chronique qui assure un apport continu en nutriments aux bactéries du biofilm sous-gingival.
La capacité des gingipaïnes à détourner la réponse inflammatoire de l'hôte est bien documentée (Guo *et al.*, 2010). Pour ne prendre qu'un exemple, considérons l'action des gingipaïnes sur l'interleukine 8. Sécrétées par *P. gingivalis*, les gingipaïnes activent les interleukines 8 en les clivant. Cela permet à ces dernières d'attirer les polynucléaires et d'entraîner leur dégranulation. Sous cette forme libre, les gingipaïnes favorisent ainsi la migration des polynucléaires à distance de *P. gingivalis*. De surcroît, ces mêmes gingipaïnes peuvent demeurer transmembranaires. Dès lors, en contact avec les interleukines 8, elles en assurent le clivage de telle sorte que celles-ci deviennent inactives, renforçant ainsi le gradient de polynucléaires et leur dégranulation à distance de la bactérie (Mikolajczyk-Pawlinska *et al.*, 1998).
Pour continuer dans leur capacité de virulence, il a été montré que les gingipaïnes étaient impliquées dans la destruction tissulaire en dégradant de façon directe et indirecte les protéines de la matrice extracellulaire (Guo *et al.*, 2010).
Enfin, il apparaît qu'elles participent à la survie de *P. gingivalis* lorsque celui-ci se réfugie à l'intérieur des cellules de l'hôte (Guo *et al.*, 2010).

## *Biofilm dentaire*

### Description

Pendant des années, la représentation que l'on se faisait de la plaque dentaire était celle d'une co-agrégation étriquée de bactéries. Certes, il


© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

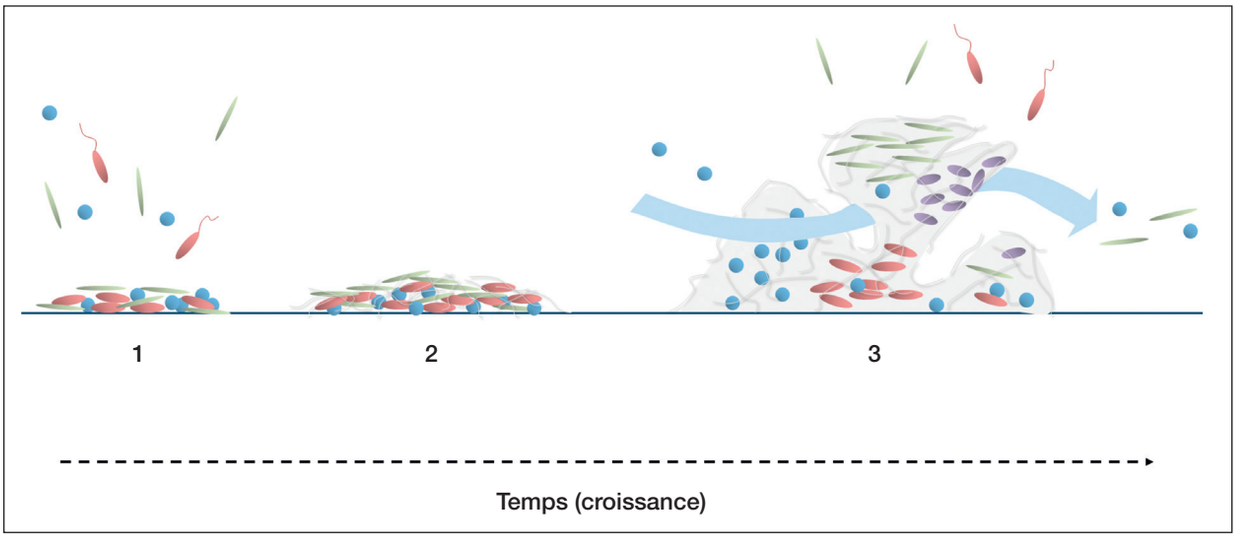


**Fig. 3.** Formation du biofilm dentaire (d'après Stoodley *et al.*, 1994, 2002 ; de Beer *et al.*, 1994 ; Hall-Stoodley *et al.*, 2004). **1.** Les bactéries à l'état planctonique adhèrent à la surface dentaire, se multiplient et s'organisent en grappes *(clusters)*. **2.** Les bactéries commencent à produire la matrice d'exopolysaccharides. **3.** Des signaux interbactériens stimulent la multiplication cellulaire et la formation de la matrice d'exopolysaccharides. Des canaux permettent l'apport de nutriments ou de nouvelles bactéries, mais aussi l'évacuation des produits du catabolisme ou de bactéries qui iront coloniser d'autres milieux.

**Fig. 3.** Dental biofilm formation (adapted from Stoodley *et al.*, 1994, 2002; de Beer *et al.*, 1994; Hall-Stoodley *et al.*, 2004). **1.** Adherence of planktonic bacteria to the dental surface, bacterial multiplication and development of bacterial clusters. **2.** Production of the exopolysaccharide matrix. **3.** Bacterial multiplication and the production of the exopolysaccharide matrix is stimulated by interbacterial signals. Channels facilitate the nutriments supply and the colonization by new bacteria, but also the draining of the products of the catabolism or of bacteria to colonize new environments.

apparaissait clairement que celles-ci suivaient un mode d'organisation que l'on pouvait aisément observer au microscope électronique à transmission, qu'elles se diversifiaient en respectant une chronologie établie (Listgarten *et al.*, 1975 ; Listgarten, 1976 ; Brecx *et al.*, 1980, 1981 ; Theilade et Theilade, 1970 ; Saxton, 1973 ; Kolenbrander *et al.*, 2006), mais les modèles mis en place ne parvenaient à expliquer ni la possibilité de survie des bactéries enfouies au plus profond du biofilm, isolées en raison de leur position centrale de tout apport en nutriments, ni la possibilité de diversification de la flore dans la partie la plus apicale d'une poche parodontale, par exemple.

Les biofilms bactériens ont d'abord été identifiés dans les sources chaudes, dans le lit des ruisseaux et sur les parois des canalisations. Si, à la fin des années 1970 quelques auteurs visionnaires se risquent à évoquer la notion de biofilm dentaire (Costerton *et al.*, 1978), c'est dans le courant des années 1990 que ce concept s'implante enfin dans la description de l'agrégation bactérienne orale (Newman *et al.*, 1999). De nombreuses publications du Centre d'ingénierie de l'université du Montana (États-Unis) montrent l'existence de canaux au sein de ces organisations bactériennes permettant le passage de flux liquidiens (Stoodley *et al.*, 1994 ; de Beer *et al.*, 1994 ; Stoodley *et al.*, 2002; Hall-Stoodley *et al.*, 2004) (**fig. 3**). Un échantillon de plaque dentaire mature de 4 jours prélevé chez l'homme et observé en microscopie confocale à lumière réfléchie ou en mode fluorescence révèle clairement les canaux et leur contenu liquidien naviguant au sein de la masse bactérienne (Wood *et al.*, 2000). Plusieurs molécules telles que saccharose, dextrane, protéases, immunoglobulines, acides ou fluorure ont été testées sur des biofilms *in vitro* et ont montré leur propension à transiter plus ou moins en profondeur au sein de ces canaux (Tatevossian, 1985 ; Hata et Mayanagi, 2003 ; Thurnheer *et al.*, 2003 ; Takenaka *et al.*, 2009).

## Formation

Sur une surface nettoyée, après adsorption de protéines et glycoprotéines provenant de la salive et du fluide gingival (Hannig *et al.*, 2005), les premières bactéries vont pouvoir adhérer. Dès que le nombre


© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

de bactéries devient important, une matrice de polysaccharides va être produite par les bactéries, et ce en relation avec leur environnement. Pour exemple, *Streptococcus gordonii* est en mesure de synthétiser des protéoglycanes à partir du saccharose environnant par l'intermédiaire de glucosyltransférases. Il apparaît que le comportement de ces enzymes est largement influencé par le pH, la concentration en ions et le potentiel redox de l'environnement bactérien (Loo *et al.*, 2000 ; Gilmore *et al.*, 2003 ; Vickerman *et al.*, 1991). La protéomique appliquée à la croissance d'*A. actinomycetemcomitans* montre que l'expression de *fimbriae,* de lipopolysaccharides et de composants de la matrice extracellulaire, caractéristiques de la formation du biofilm, est directement liée aux conditions de stress dans lesquelles la souche bactérienne est incubée. Il apparaît ainsi qu'un milieu proposant une moindre disponibilité en fer favorise la formation de biofilm chez *A. actinomycetemcomitans* (Amarasinghe *et al.*, 2009). La matrice de polysaccharides formée occupera de 75 à 80 % du volume du biofilm, laissant de 15 à 20 % du volume restant à la discrétion des bactéries (Loo *et al.*, 2000 ; Gilmore *et al.*, 2003 ; Vickerman *et al.*, 1991 ; Branda *et al.*, 2005).

Le biofilm permet une organisation bactérienne complexe dans laquelle des bactéries aux modes de fonctionnement divergents peuvent cohabiter. Un anaérobie strict comme *P. gingivalis* peut survivre dans un milieu chargé en oxygène s'il s'agrège à des bactéries consommatrices d'oxygène telles que le genre *Neisseria* (Bradshaw *et al.*, 1994). Il apparaît que les cultures mixtes protègent les anaérobies stricts de l'oxygène qui leur est toxique (Bradshaw *et al.*, 1996, 1998).

Certaines bactéries, lorsqu'elles sont associées au sein du biofilm, modifient leurs moyens d'accès aux nutriments. Ainsi, les variations en concentration de peptidases et d'enzymes impliquées dans le catabolisme des acides aminés et de protéines impliquées dans l'acquisition du fer suggèrent que l'association entre *T. denticola* et *P. gingivalis* se rapproche d'une syntrophie entre les deux bactéries (Zainal-Abidin *et al.*, 2012).

Inoculé dans un flux salivaire traversant des blocs de polyéthylène aménagés avec une paroi permettant l'adhésion et la croissance bactérienne, *A. naeslundii* ne peut survivre seul. L'adjonction de *S. oralis* dans le milieu permet non seulement la survie d'*A. naeslundii* mais aussi la formation d'un biofilm comprenant les deux espèces bactériennes (Palmer *et al.*, 2001). Des modèles similaires montrent que *P. gingivalis* ne peut croître seul ou associé à *S. oralis*. Il le peut lorsque *S. gordonii* est ajouté dans l'inoculum, mais pas lorsque *S. gordonii* est remplacé par *A. actinomycetemcomitans* ou par *F. nucleatum*. Cela met en évidence une coopération toute particulière entre *P. gingivalis* et *S. gordonii,* la seconde bactérie permettant à la première de tolérer une espèce antagoniste.

Par ailleurs, *P. gingivalis* peut montrer une croissance mutualiste avec *S. gordonii* et *Actinomyces oris* lorsque ces deux bactéries sont associées dans le flux salivaire, ou avec des souches de *Veillonella,* avec *F. nucleatum* ou encore avec *A. actinomycetemcomitans* (Periasamy et Kolenbrander, 2009b). Les clones PK1910 de *Veillonella,* JP2 d'*A. actinomycetemcomitans* et ATCC 10953 de *F. nucleatum* sont incapables de survivre seuls mais y parviennent lorsqu'ils sont inoculés par paires ou ensemble dans le flux salivaire. L'association des trois espèces montre une croissance plus élevée que lorsque ces espèces sont associées par paire (Periasamy et Kolenbrander, 2009a). Le même clone de *F. nucleatum,* incapable de survivre lorsqu'il est associé à *S. oralis,* croît en revanche sans difficulté lorsqu'il est inoculé avec le clone ATCC 43146 d'*A. naeslundii* et le même *S. oralis,* mettant ainsi en évidence un mode de coopération complexe entre les trois bactéries (Periasamy *et al.*, 2009).

Durant la formation du biofilm dentaire, l'expression du génome bactérien s'adapte. Ainsi, 33 protéines de *S. mutans* voient leur expression modulée pendant les premiers stades de la formation du biofilm et une augmentation de la synthèse d'enzymes impliquées dans le catabolisme des sucres a pu être mesurée (Welin *et al.*, 2004). Chez *P. gingivalis*, 18 % du génome est régulé différemment, avec notamment la régulation négative des gènes impliqués dans la croissance bactérienne et la régulation positive des gènes participant à la synthèse de protéines de transport et d'adhésion (Lo *et al.*, 2009). La mise en contact de *S. gordonii* avec la salive entraîne la régulation positive de gènes codant pour des adhésines impliquées dans l'adhésion à des glycoprotéines salivaires et dans la co-agrégation à des souches d'*Actinomyces* (Du et Kolenbrander, 2000). Lorsque *P. gingivalis* est incubé en présence de *S. gordonii*, 30 de ses gènes sont régulés de façon positive et 3 de façon négative. L'un des gènes régulés de façon positive, ptpA (PG1641) codant une tyrosine phosphatase, et un


© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

autre, ftsH (PG0047) codant une métalloprotéase, ont pu, grâce à une analyse mutationnelle, être clairement identifiés comme participant à la formation de biofilm avec *S. gordonii* (Simionato *et al.*, 2006). Lorsque le même tandem, *P. gingivalis* et *S. gordonii,* est associé à *F. nucleatum*, 403 protéines sont surexprimées et 89 sont sous-exprimées par *P. gingivalis* (Kuboniwa *et al.*, 2009).

Finalement, parce que le biofilm dentaire a atteint un stade de développement ne permettant pas la survie de toutes les espèces bactériennes ou parce que l'espèce bactérienne est programmée pour coloniser de nouveaux milieux, des signaux au sein du biofilm permettent de faire céder les liaisons entre bactéries, emportant ainsi certaines d'entre elles dans le flux environnant pour coloniser d'autres sites (Hall-Stoodley *et al.*, 2004 ; Stoodley *et al.*, 2002) (**fig. 3**). Il a été montré qu'*A. actinomycetemcomitans* augmentait la synthèse et la libération d'enzymes capables de cliver leurs adhésines, libérant l'espèce bactérienne de son support (Kaplan *et al.*, 2003a, 2003b).

## Communication intra-espèces et inter-espèces

Au sein de ce biofilm, les bactéries sont en mesure de communiquer entre elles par l'intermédiaire de plusieurs systèmes, les principaux étant le transfert horizontal de gènes et la détection du quorum *(quorum sensing)* (Imamura *et al.*, 2003 ; Jenkinson et Lamont, 1997).

Le transfert horizontal de gènes repose sur cette spécificité que les cellules procaryotes ont et que les eucaryotes n'ont pas, à savoir une absence de noyau. Celle-ci se traduit, d'une part, par une molécule d'ADN double brin retrouvée chez toutes les bactéries et assurant le fonctionnement de la cellule et, d'autre part, par la présence de plasmide(s) consistant en un ou plusieurs fragments d'ADN double brin conférant diverses propriétés complémentaires à la bactérie. L'une et l'autre (les autres) circulent, parfaitement libres au sein de leur cytoplasme. Dès lors, deux bactéries, sans qu'une barrière entre genres n'interfère, peuvent échanger l'un des brins ADN de leur plasmide après reconnaissance par *pili* interposés. On distingue les plasmides selon l'information qu'ils contiennent. Les plasmides métaboliques permettent de recourir à de nouveaux nutriments ; les plasmides de virulence offrent de nouveaux moyens d'agression dirigés contre l'hôte ; les plasmides de bactériocines sont utiles pour éliminer des bactéries concurrentes ; certains plasmides facilitent la formation du biofilm ; enfin, les plasmides de résistance fourbissent de nouvelles armes pour lutter contre les molécules antibiotiques (Dobrindt *et al.*, 2004 ; Hansen *et al.*, 2007 ; Burmolle *et al.*, 2008 ; Norman *et al.*, 2008). Il en est ainsi du transposon CTn6002 décrit en 2007 et ayant permis un transfert de résistance contre la doxycycline et l'érythromycine de *S. oralis* au profit de *Streptococcus cristatus,* chez 2 patients, à la suite d'une antibiothérapie à la doxycycline dans le traitement d'une parodontite (Warburton *et al.*, 2007). D'autres transferts de résistance contre les tétracyclines et contre la pénicilline ont pu être observés *in vitro* ou *in vivo* entre streptocoques (Dowson *et al.*, 1990 ; Hakenbeck *et al.*, 1998 ; Roberts *et al.*, 2001) ou entre bactéries du genre *Neisseria* (Bowler *et al.*, 1994). Un transfert de résistance contre l'érythromycine a pu être réalisé *in vitro* entre *S. gordonii* et *T. denticola* (Wang *et al.*, 2002). Ces transferts de résistance mettent bien en exergue le risque de développement de mutants résistants sous la pression des traitements antibiotiques, ce type d'observation ayant du reste déjà été fait dans d'autres situations cliniques (Rice, 1998 ; Livermore, 2012).

La détection du quorum, quant à lui, est un système par le biais duquel les bactéries communiquent et obtiennent des informations sur la densité bactérienne dans leur environnement. Ainsi, les bactéries peuvent-elles sécréter des molécules signal qui ne pourront être interprétées par ces mêmes bactéries ou par d'autres que lorsqu'une concentration seuil aura été atteinte (Keller et Surette, 2006) (**fig. 4**). Trois systèmes de détection du quorum sont décrits. Le premier, le système oligopeptide, n'est utilisé que par les bactéries à Gram positif. Il est spécifique d'une espèce et présente un coût métabolique élevé. Le deuxième système, appelé AHL pour N-acyl homosérine lactones, est l'apanage de bactéries à Gram négatif. Sa spécificité est modérée et son coût métabolique intermédiaire. Enfin, le troisième système, LuxS/AI-2 *(autoinducer 2),* est commun aux bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Sans aucune spécificité, il délivre une information peu précise et présente un coût métabolique faible (Keller et Surette, 2006). Ces systèmes sont utilisés pour coordonner, entre autres la synthèse de protéases, la formation de biofilm en réponse à un stress ou encore la rupture de liaisons au sein du biofilm permettant la dispersion des bactéries (Costerton, 2002).


© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

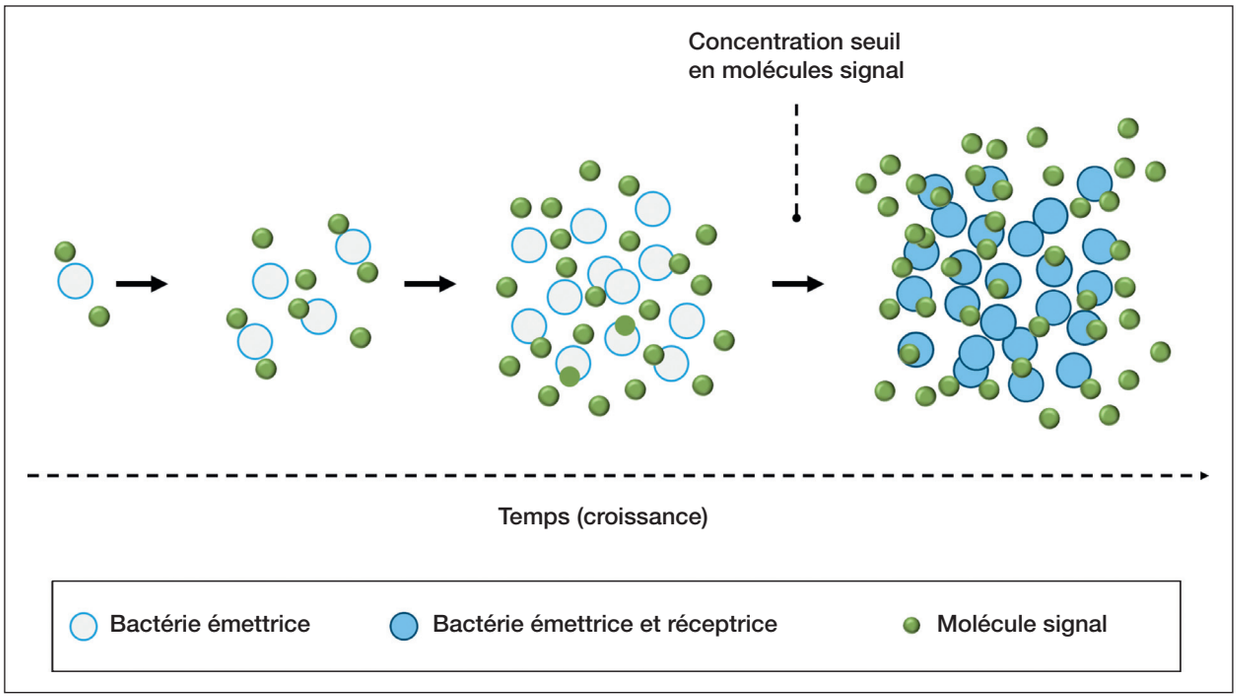


**Fig. 4**. Par le biais de la détection du quorum, les bactéries communiquent et obtiennent des informations sur la densité bactérienne dans leur environnement. Ainsi, elles peuvent sécréter des molécules signal qui ne pourront être interprétées par les bactéries présentes que lorsqu'une concentration seuil aura été atteinte (d'après Keller et Surette, 2006).

**Fig. 4**. Through quorum sensing bacteria are able to communicate and obtain information on bacterial density in their environment. The information distributed by this system will be used by other bacteria only if a threshold of the signal is reached (adapted from Keller and Surette, 2006).

Par exemple, le dépassement d'un seuil de concentration en peptide CSP synthétisé par *S. mutans* augmente la fréquence de formation du biofilm de ladite bactérie (Li *et al.*, 2002). Chez *A. actinomycetemcomitans*, le système LuxS/AI-2 induit l'expression intra-espèce de la leucotoxine (Fong *et al.*, 2001) ainsi que l'expression de protéines de transport impliquées dans l'acquisition de fer (Fong *et al.*, 2001, 2003 ; Novak *et al.*, 2010) et est indispensable à sa croissance au sein du biofilm (Shao *et al.*, 2007 ; Novak *et al.*, 2010). Le même système de détection du quorum permettant la sécrétion d'AI-2 par *P. gingivalis* stimule la formation du biofilm par *F. nucleatum*, suggérant un mode de communication inter-espèces (Saito *et al.*, 2008). Les biofilms formés de *P. gingivalis* et de *S. gordonii* sont également sous la dépendance du système LuxS/AI-2 (McNab *et al.*, 2003). Enfin, il apparaît que ces systèmes sont sous la dépendance de la diversité nutritionnelle de l'environnement. En effet, il a été montré que la production d'AI-2 par *S. gordonii* est en rapport avec la disponibilité en sérum et carbonates (Blehert *et al.*, 2003).

Constatant que ces deux systèmes sophistiqués peuvent participer à la formation du biofilm, il est utile de s'intéresser aux avantages que celui-ci présente pour les bactéries. Pour cela, l'analogie avec la formation des villes chez les humains est inévitable (Socransky et Haffajee, 2008). Ainsi, biofilm dentaire et ville permettent d'assurer une colonisation stable du milieu. Celle-ci se déroule sur un site qui permet un apport nutritionnel stable, la possibilité de proliférer et de limiter les risques locaux. Biofilm dentaire et ville suivent le même schéma de colonisation, les colonisateurs précoces se multipliant, bientôt rejoints par d'autres colonisateurs, assurant d'abord une occupation horizontale du territoire, rapidement suivie d'une occupation verticale. Cette communauté offre la possibilité de s'échanger des ressources. Ainsi *Veillonella atypica* influence-t-elle la production d'acide lactique par *S. gordonii,* obtenant ainsi l'un de ses apports nutritionnels préférés (Egland *et al.*, 2004 ; Keller et Surette, 2006), ou encore *T. denticola* profite-t-elle de la synthèse de facteurs de croissance par *P. gingivalis* (Grenier, 1992 ; Nilius *et al.*, 1993). De même, *C. rectus*


© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

favorise-t-il la croissance de *P. gingivalis* (Grenier et Mayrand, 1986).

Cette organisation commune offre également une protection accrue contre d'autres colonisateurs de la même espèce ou d'autres espèces ou encore contre des changements soudains d'environnement. Ainsi, par le biais des transferts horizontaux de gènes ou de la détection du quorum, il apparaît que la formation du biofilm peut se produire en réponse à un stress environnant et plus particulièrement lorsque ce stress consiste en la présence d'une molécule antibiotique dans le milieu de culture (Norman *et al.*, 2008). Ainsi, une monoculture de *P. aeruginosa* mise en présence d'un antibiotique conduira à la formation d'un biofilm (O'Toole et Stewart, 2005). De la même façon, une mise en culture d'*A. actinomycetemcomitans* durant 24 heures confronté à de l'érythromycine, de la tétracycline ou de la minocycline à des concentrations proches de celles mesurées dans le fluide gingival durant une antibiothérapie par voie systémique se traduit par une augmentation de la formation du biofilm (Takahashi *et al.*, 2007).

Il apparaît que la concentration d'antibiotique nécessaire pour dégrader un biofilm expérimental contenant une ou plusieurs espèces bactériennes est de 100 à 1000 fois plus élevée que celle permettant d'éliminer les mêmes bactéries à l'état planctonique (Larsen et Fiehn, 1996 ; Ceri *et al.*, 1999 ; Sedlacek et Walker, 2007). Grâce à la formation du biofilm, il a pu être observé que les bactéries résistaient mieux à l'agression antibiotique (Anderl *et al.*, 2000 ; O'Toole et Stewart, 2005 ; Sedlacek et Walker, 2007 ; Takahashi *et al.*, 2007). Cette résistance s'explique notamment par l'évolution vers un état quiescent des bactéries logées au cœur du biofilm, état ne permettant pas la métabolisation des molécules antibiotiques (O'Toole et Stewart, 2005).

En 1683, de façon rudimentaire, mais avec une logique imparable, Antonie van Leeuwenhoek avait pu montrer que le vinaigre de vin capable de tuer les bactéries *in vitro* se révélait nettement moins efficace sur la plaque dentaire *in situ,* ne décimant que les bactéries à la surface de la plaque dentaire (Fred, 1933). C'était la première fois qu'il était prouvé qu'un antiseptique était moins efficace sur des bactéries organisées dans le biofilm que sur les mêmes bactéries dispersées. Plus proche de nous, et avec du matériel plus sophistiqué, il a été montré que la polarité et la densité du réseau matriciel du biofilm pouvaient limiter ou exclure un certain nombre d'agents antiseptiques chargés, comme la chlorhexidine et les ammoniums quaternaires (Zaura-Arite *et al.*, 2001 ; Allison, 2003 ; Branda *et al.*, 2005). De la même façon qu'avec les antibiotiques, la concentration en fluorure ou en chlorhexidine doit être multipliée respectivement par 75 et par 300 pour éradiquer des souches de *Streptococcus sobrinus* organisées en biofilm par rapport à leur forme planctonique (Shani *et al.*, 2000). Pour éradiquer des souches de *S. sanguinis* organisées en biofilm, la concentration minimale inhibitrice en chlorhexidine doit être multipliée par 10 à 50 (Larsen et Fiehn, 1996). Un biofilm mature de *S. sanguinis* (72 heures d'incubation) présente une résistance plus grande qu'un biofilm jeune (24 heures d'incubation) (Millward et Wilson, 1989).

Afin d'optimiser une antibiothérapie ou un traitement antiseptique, il apparaît dès lors préférable de préalablement désorganiser mécaniquement un biofilm (Herrera *et al.*, 2008).

L'analogie entre biofilm dentaire et ville peut se poursuivre avec l'élaboration de moyens pour l'apport d'aliments et pour l'évacuation des déchets en considérant les canaux pour le premier et les routes et canalisations pour la seconde ; avec une sensibilité somme toute importante vis-à-vis des importantes modifications du milieu, les fléaux que constituent les antibiotiques et antiseptiques du premier pouvant être comparés aux catastrophes naturelles de la seconde ; avec la mise en place de systèmes de communication entre individus, détection du quorum et transfert de gènes pour le premier, les paroles, les écrits et les images pour la seconde. Enfin, les deux systèmes finissent par se heurter à des limites de croissance se traduisant par la colonisation d'autres espaces.

## De la flore commensale à la flore pathogène

La présence de bactéries dans la cavité orale n'est pas, bien sûr, synonyme de pathologie. On distingue communément la flore compatible avec la santé du parodonte de la flore dite pathogène. La première est constituée de bactéries anaérobies facultatives, le plus souvent à Gram positif. Il s'agit d'*Actinomyces* et de certains streptocoques (Socransky et Haffajee, 2008). Pour la flore pathogène, un grand nombre de bactéries sont aujourd'hui bien connues et ont déjà été abordées dans cet article. Une analyse proposée par l'équipe de


© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

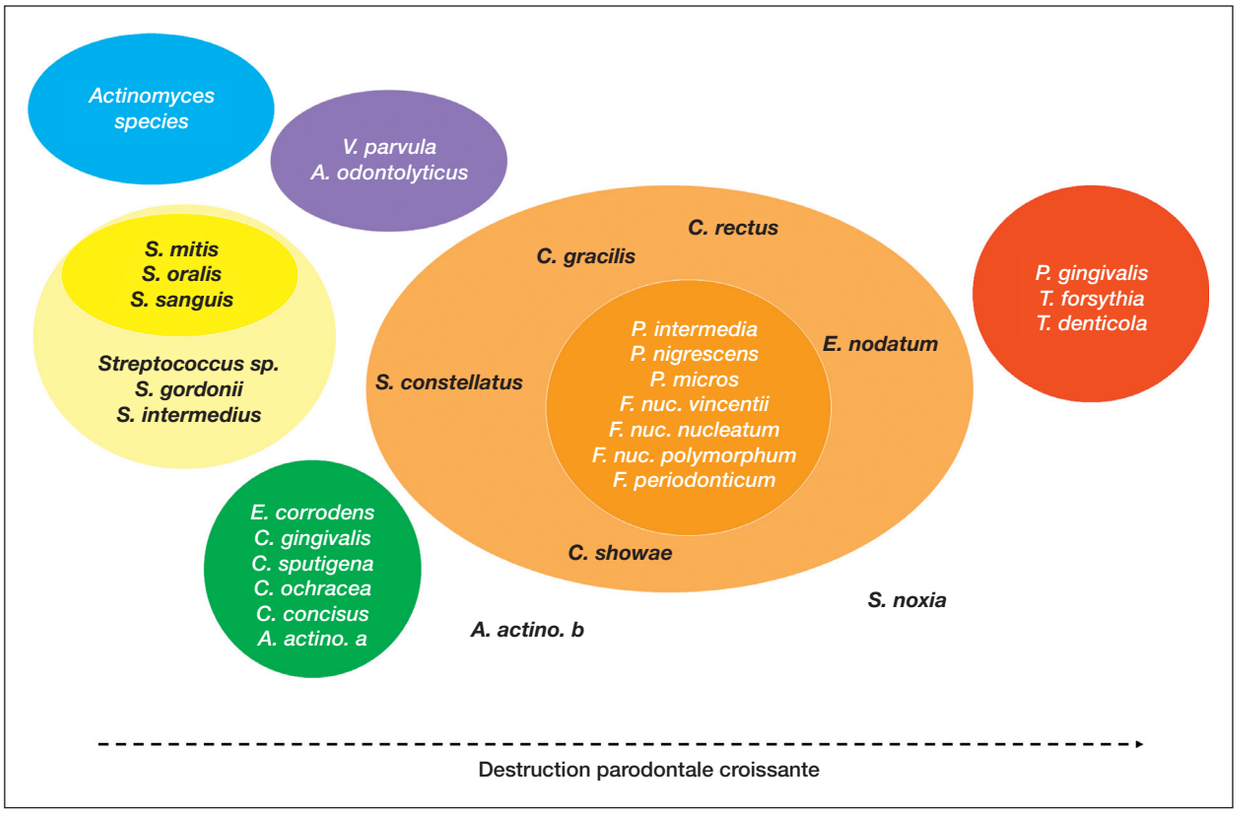


**Fig. 5**. Les bactéries les plus documentées de la flore parodontale peuvent être organisées en groupes selon leur probabilité d'être associées à la destruction parodontale. Cette distribution en complexes, se distinguant par leur couleur, a été élaborée sur une base de prélèvements réalisés chez des patients nord-américains atteints de parodontite chronique (anciennement parodontite de l'adulte) (d'après Socransky *et al.*, 1998).

**Fig. 5**. Depending on their probability to be associated with a periodontal destruction, the most documented periodontal bacteria can be organized in different groups. This distribution into complexes, defined by their colors, was proposed on the basis of microbial samples realized into a population of North American subjects presenting a chronic periodontitis (previously adult periodontitis) (adapted from Socransky *et al.*, 1998).

Socransky a permis de faire le point sur les espèces les plus connues (Socransky *et al.*, 1998). Les bactéries le plus souvent associées à la destruction parodontale ont été réunies sous la bannière du « complexe rouge ». Les bactéries associées à une destruction moins importante ont été incluses dans le « complexe orange ». Puis, selon leur capacité à être observées ensemble et selon leur relation à la destruction parodontale, d'autres espèces ont été rattachées aux « complexes bleu, violet, jaune et vert » (**fig. 5**). Une certaine prudence est de mise quant à l'utilisation de ces complexes. Ayant été observés sur des patients américains présentant uniquement des parodontites chroniques (anciennement parodontites de l'adulte), ces résultats ne peuvent pas faire l'objet d'extrapolations à d'autres formes de parodontites ou, plus largement, à d'autres formes de pathologies bucco-dentaires (Rocas *et al.*, 2001 ; White *et al.*, 2002) ou encore à d'autres populations (Papapanou *et al.*, 2002 ; Haffajee *et al.*, 2004 ; Lopez *et al.*, 2004) sans assumer le risque d'erreurs ou, plus simplement, d'approximations.

De façon surprenante, si l'on sait différencier une flore compatible avec la santé du parodonte d'une flore pathogène, la flore présente au tout début de la destruction parodontale demeure méconnue. Les bactéries que nous observons dans les poches sont-elles présentes dès le début de la destruction parodontale ou bien se sont-elles développées secondairement, lorsque les conditions locales étaient réunies pour qu'elles puissent s'installer et exercer leur potentiel pathogène pour subsister ? Un travail de l'équipe de Tanner a tenté de répondre à cette question (Tanner *et al.*, 1998). Un peu plus d'une trentaine de patients,


© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

sans signes de destruction parodontale, ont été inclus dans le protocole d'étude. L'examen initial consistait notamment en des prélèvements bactériens qui étaient analysés pour détecter la présence et évaluer la quantité de 23 espèces bactériennes. Un an plus tard, les patients étaient convoqués pour un nouvel examen. Quatre groupes étaient alors constitués : les patients au parodonte sain, les patients qui avaient une gingivite, ceux qui présentaient des récessions tissulaires marginales et ceux qui montraient une destruction parodontale interproximale, que l'on assimilait à une parodontite. Il ressortait de cette analyse que les patients qui avaient développé une parodontite ne possédaient pas les mêmes espèces bactériennes initiales que les autres patients. De surcroît, une analyse de grappes *(clusters)* réalisée sur les quantités bactériennes initiales permettaient, à 2 patients près, de prévoir quels patients développeraient une parodontite.

Un point important doit être souligné : dans cette étude, les espèces bactériennes habituellement considérées comme parodontopathogènes ne constituaient pas de bons marqueurs étiologiques. Ainsi, *P. gingivalis* n'avait été détecté initialement chez aucun des patients qui avaient développé une parodontite, tandis que *P. intermedia*, *E. corrodens* ou encore *F. nucleatum* étaient peu représentés chez les patients en début d'étude. Il apparaît ainsi que ces bactéries sont sans doute constitutives de la flore parodontale commensale de ces individus, dans des proportions parfois inférieures au seuil de détection, et ne deviennent véritablement présentes en grande quantité qu'une fois la parodontite déclenchée.

Au Maroc, des travaux fondés sur le même principe montrent que la présence du clone JP2, appartenant à l'espèce *A. actinomycetemcomitans*, chez de jeunes patients âgés de 15 ans (700 sujets) et au parodonte sain est un bon indicateur de la perte d'attache qui sera observée pratiquement systématiquement durant les 3 ans qui suivront. Les patients qui présentent le risque le plus importants sont ceux qui possèdent ce clone JP2 en l'absence d'autres clones d'*A. actinomycetemcomitans* (Haubek *et al.*, 2008).

Une étude portant sur une cohorte de 134 adolescents afro-américains a montré que la présence simultanée dans un site parodontal d'*A. actinomycetemcomitans*, de *Streptococcus parasanguinis* et de *Filifactor alocis* était un indicateur particulièrement précis de prédiction de l'alvéolyse. Les spécificité et sensibilité du test ainsi établi étaient respectivement de 99 et 89 % (Fine *et al.*, 2013).

Il apparaît ainsi clairement qu'avant même que les symptômes cliniques soient perceptibles, l'équilibre de la flore parodontale a déjà été modifié. Ces éléments devraient nous convaincre d'orienter la détection des tests microbiens disponibles sur le marché vers les bactéries présentes avant que la maladie soit visible. Cela modifierait sans doute nos habitudes de prévention et éviterait peut-être beaucoup de ces destructions parodontales au caractère irréversible.

## Conclusion

À chaque mitose, une potentielle variation de leur génome permettra aux bactéries de s'adapter à des variations soudaines de leur environnement. Si ce n'est par un tel mode de transmission vertical, alors un échange horizontal de gènes leur conférera de façon immédiate les propriétés nécessaires à leur survie. À cela s'ajoute le fait que le parodonte, par l'intermédiaire de la cavité orale, est un milieu ouvert vers l'extérieur, doublé d'un environnement propice à leur développement. Aujourd'hui, le brossage des dents, l'élimination des facteurs de rétention tels que le tartre ou autres restaurations débordantes demeurent des solutions que l'on pourrait qualifier de palliatives, tant leur concept, disons-le, primitif ne saurait constituer une thérapeutique définitive. L'alternative chimique, au moyen d'antibiotiques, nous l'avons vu, ne saurait constituer une solution à long terme, en raison de la sélection progressive de mutants résistants ; nombre d'études nous le rappellent (Baquero, 1996 ; Samore *et al.*, 2001 ; van de Sande-Bruinsma *et al.*, 2008 ; Willemsen *et al.*, 2009 ; Goossens, 2009). Les antiseptiques, quant à eux, ne parviennent à faire la preuve d'une efficacité cliniquement significative lorsqu'ils sont utilisés en irrigation dans les poches parodontales (Greenstein *et al.*, 2005 ; Sahrmann *et al.*, 2010 ; Kruck *et al.*, 2012). Il semble dès lors évident que l'intérêt que nous pouvons porter pour telle ou telle espèce bactérienne n'a de sens que pour satisfaire notre intellect, parfois pour envisager une prévention des maladies parodontales, mais aucunement pour promouvoir de nouvelles thérapeutiques en l'état actuel des connaissances. L'ensemble de ces éléments doit naturellement nous conduire à voir au-delà des espèces bactériennes et à nous plonger dans les conditions qui régissent leur présence. Les parodontites ne peuvent se définir uniquement par leur microbiologie ;


© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

la réponse immunitaire de l'hôte et les facteurs de risque associés doivent sans aucun doute être intégrés à notre réflexion, rejoignant ainsi une conception multifactorielle des parodontites (Page et Kornman, 1997). Selon certains auteurs, influer sur un seul de ces paramètres qu'il s'agisse du tabagisme, d'une prédisposition génétique, d'un stress violent ou d'un diabète non équilibré, doit suffire à modifier les conditions d'accueil de ces parodontopathogènes et, ainsi, l'apparition et le développement des maladies parodontales (Heaton et Dietrich, 2012). □

## BIBLIOGRAPHIE


- **Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE.** Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. J Clin Microbiol 2005;43:5721-5732.
- **Alaluusua S, Asikainen S, Lai CH.** Intrafamilial transmission of A*ctinobacillus actinomycetemcomitans.* J Periodontol 1991; 62:207-210.
- **Allison DG.** The biofilm matrix. Biofouling 2003;19:139-50.
- **Amano A, Kuboniwa M, Nakagawa I, Akiyama S, Morisaki I, Hamada S.** Prevalence of specific genotypes of *Porphyromonas gingivali*s fimA and periodontal health status. J Dent Res 2000;79, 1664-1668.
- **Amano A, Nakagawa I, Okahashi N, Hamada N.** Variations of *Porphyromonas gingivalis fimbriae* in relation to microbial pathogenesis. J Periodontal Res 2004;39:136-42.
- **Amarasinghe JJ, Scannapieco FA, Haase EM.** Transcriptional and translational analysis of biofilm determinants of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in response to environmental perturbation. Infect Immun 2009;77:2896-907.
- **Anderl JN, Franklin MJ, Stewart PS.** Role of antibiotic penetration limitation in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:1818-1824.
- **Asikainen S, Lai CH, Alaluusua S, Slots J.** Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes in periodontal health and disease. Oral Microbiol Immunol 1991;6: 115-118.
- **Asikainen S, Chen C, Slots J.** Likelihood of transmitting *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in families with periodontitis. Oral Microbiol Immunol 1996;11:387-394.
- **Baehni P, Tsai CC, Mcarthur WP, Hammond BF, Taichman NS.** Interaction of inflammatory cells and oral microorganisms. VIII. Detection of leukotoxic activity of a plaque-derived gram-negative microorganism. Infect Immun 1979;24:233-243.
- **Baik JE, Hong SW, Choi S, Jeon JH, Park OJ, Cho K *et al.*** Alpha-amylase is a human salivary protein with affinity to lipopolysaccharide of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans.* Mol Oral Microbiol 2013;28:142-153.
- **Baquero F.** Trends in antibiotic resistance of respiratory pathogens: an analysis and commentary on a collaborative surveillance study. J Antimicrob Chemother 1996;38 (suppl. A): 117-132.
- **Blehert DS, Palmer RJ Jr, Xavier JB, Almeida JS, Kolenbrander PE.** Autoinducer 2 production by *Streptococcus gordonii* DL1 and the biofilm phenotype of a luxS mutant are influenced by nutritional conditions. J Bacteriol 2003;185:4851-4860.
- **Bos R, Van Der Mei HC, Busscher HJ.** Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions. Its mechanisms and methods for study. FEMS Microbiol Rev 1999;23:179-230.
- **Bowler LD, Zhang QY, Riou JY, Spratt BG.** Interspecies recombination between the penA genes of *Neisseria meningitidis* and commensal *Neisseria* species during the emergence of penicillin resistance in *N. meningitidis:* natural events and laboratory simulation. J Bacteriol 1994;176:333-337.
- **Bradshaw DJ, Homer KA, Marsh PD, Beighton D.** Metabolic cooperation in oral microbial communities during growth on mucin. Microbiology 1994;140:3407-3412.
- **Bradshaw DJ, Marsh PD, Allison C, Schilling KM.** Effect of oxygen, inoculum composition and flow rate on development of mixed-culture oral biofilms. Microbiology 1996;142:623-629.
- **Bradshaw DJ, Marsh PD, Watson GK, Allison C.** Role of *Fusobacterium nucleatum* and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration. Infect Immun 1998;66:4729-4732.
- **Branda SS, Vik S, Friedman L, Kolter R. Biofilms:** the matrix revisited. Trends Microbiol 2005;13:20-26.
- **Brecx M, Theilade J, Attstrom R.** Influence of optimal and excluded oral hygiene on early formation of dental plaque on plastic films. A quantitative and descriptive light and electron microscopic study. J Clin Periodontol 1980;7:361-373.
- **Brecx M, Theilade J, Attstrom R.** Ultrastructural estimation of the effect of sucrose and glucose rises on early dental plaque formed on plastic films. Scand J Dent Res 1981;89: 157-164.
- **Burmolle M, Bahl MI, Jensen LB, Sorensen SJ, Hansen LH.** Type 3 fimbriae, encoded by the conjugative plasmid pOLA52, enhance biofilm formation and transfer frequencies in *Enterobacteriaceae strains.* Microbiology 2008;154:187-195.
- **Busscher HJ, Norde W, Van Der Mei HC.** Specific molecular recognition and nonspecific contributions to bacterial interaction forces. Appl Environ Microbiol 2008;74:2559-2564.
- **Carlen A, Bratt P, Stenudd C, Olsson J, Stromberg N.** Agglutinin and acidic proline-rich protein receptor patterns may modulate bacterial adherence and colonization on tooth surfaces. J Dent Res 1998;77:81-90.
- **Carter KC.** Essays of Robert Koch. New York:Greenwood Press,1987.
- **Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, Buret A.** The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. J Clin Microbiol 1999;37:1771-1776.
- **Chen C, Slots J.** Clonal analysis of *Porphyromonas gingivalis* by the arbitrarily primed polymerase chain reaction. Oral Microbiol Immunol 1994;9:99-103.
- **Chen C, Ashimoto A, Sangsurasak S, Flynn MJ, Slots J.** Oral food consumption and subgingival microorganisms: subgingival microbiota of gastrostomy tube-fed children and healthy controls. J Periodontol 1997;68:1163-1168.




© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

- **Choi S, Baik JE, Jeon JH, Cho K, Seo DG, Kum KY *et al.*** Identification of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide-binding proteins in human saliva. Mol Immunol 2011;48: 2207-2213.
- **Costerton JW.** Anaerobic biofilm infections in cystic fibrosis. Mol Cell 2002;10:699-700.
- **Costerton JW, Geesey GG, Cheng KJ.** How bacteria stick. Sci Am 1978;238:86-95.
- **Cowan MM, Taylor KG, Doyle RJ.** Energetics of the initial phase of adhesion of *Streptococcus sanguis* to hydroxylapatite. J Bacteriol 1987;169:2995-3000.
- **Czarnetzki A, Jakob T, Pusch CM.** Palaeopathological and variant conditions of the *Homo heidelbergensis* type specimen (Mauer, Germany). J Hum Evol 2003;44:479-495.
- **Dashper SG, Ang CS, Veith PD, Mitchell HL, Lo AW, Seers CA et al.** Response of *Porphyromonas gingivalis* to heme limitation in continuous culture. J Bacteriol 2009;191:1044-1055.
- **Davies DG, Geesey GG.** Regulation of the alginate biosynthesis gene algC in *Pseudomonas aeruginosa* during biofilm development in continuous culture. Appl Environ Microbiol 1995; 61:860-867.
- **De Beer D, Stoodley P, Lewandowski Z.** Liquid flow in heterogeneous biofilms. Biotechnol Bioeng 1994;44:636-641.
- **De Lillo A, Ashley FP, Palmer RM, Munson MA, Kyriacou L, Weightman AJ et al.** Novel subgingival bacterial phylotypes detected using multiple universal polymerase chain reaction primer sets. Oral Microbiol Immunol 2006; 21:61-68.
- **Delima AJ, Van Dyke TE.** Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. Periodontol 2000 2003; 31:55-76.
- **Dobrindt U, Hochhut B, Hentschel U, Hacker J.** Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms. Nat Rev Microbiol 2004;2:414-424.
- **Dowson CG, Hutchison A, Woodford N, Johnson AP, George RC et al.** Penicillin-resistant viridans streptococci have obtained altered penicillin-binding protein genes from penicillin-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae.* Proc Natl Acad Sci U S A 1990;87:5858-5862.
- **Du LD, Kolenbrander PE.** Identification of saliva-regulated genes of *Streptococcus gordonii* DL1 by differential display using random arbitrarily primed PCR. Infect Immun 2000;68: 4834-4837.
- **Ebersole JL, Dawson DR 3rd, Morford LA, Peyyala R, Miller CS, Gonzalez OA.** Periodontal disease immunology: 'double indemnity' in protecting the host. Periodontol 2000 2013;62: 163-202.
- **Egland PG, Palmer RJ Jr, Kolenbrander PE.** Interspecies communication in *Streptococcus gordonii-Veillonella* atypica biofilms: signaling in flow conditions requires juxtaposition. Proc Natl Acad Sci U S A 2004;101:16917-16922.
- **Fine DH, Markowitz K, Fairlie K, Tischio-Bereski D, Ferrendiz J, Furgang D et al.** A consortium of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Streptococcus parasanguinis,* and *Filifactor alocis* is present in sites prior to bone loss in a longitudinal study of localized aggressive periodontitis. J Clin Microbiol 2013;51: 2850-2861.
- **Fischman SL.** The history of oral hygiene products: how far have we come in 6 000 years? Periodontol 2000 1997; 15:7-14.
- **Fong KP, Chung WO, Lamont RJ, Demuth DR.** Intra- and interspecies regulation of gene expression by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* LuxS. Infect Immun 2001;69:7625-7634.
- **Fong KP, Gao L, Demuth DR.** luxS and arcB control aerobic growth of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* under iron limitation. Infect Immun 2003;71:298-308.
- **Ford BJ.** The Leeuwenhoekiana of Clifford Dobell (1886-1949). Notes Rec R Soc Lond 1986;41:95-105.
- **Fred EB.** Antony van Leeuwenhoek: on the three-hundredth anniversary of his birth. J Bacteriol 1933;25:iv.2-18.
- **Gibbons RJ, Etherden I.** Comparative hydrophobicities of oral bacteria and their adherence to salivary pellicles. Infect Immun 1983;41:1190-1196.
- **Gilmore KS, Srinivas P, Akins DR, Hatter KL, Gilmore MS.** Growth, development, and gene expression in a persistent *Streptococcus gordonii* biofilm. Infect Immun 2003;71:4759-4766.
- **Glimvall P, Wickstrom C, Jansson H.** Elevated levels of salivary lactoferrin, a marker for chronic periodontitis? J Periodontal Res 2012;47:655-660.
- **Goodson JM. Gingival crevice fluid flow.** Periodontol 2000 2003;31:43-54.
- **Goossens H.** Antibiotic consumption and link to resistance. Clin Microbiol Infect 2009;15 (suppl. 3):12-15.
- **Gorr SU, Abdolhosseini M.** Antimicrobial peptides and periodontal disease. J Clin Periodontol 2011;38 (suppl. 11):126-141.
- **Greenstein G, Research S, Therapy Committee of the American Academy of Perodontology.** Position paper: the role of supra- and subgingival irrigation in the treatment of periodontal diseases. J Periodontol 2005;76:2015-2027.
- **Grenier D.** Nutritional interactions between two suspected periodontopathogens, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis.* Infect Immun 1992;60:5298-52301.
- **Grenier D, Mayrand D.** Nutritional relationships between oral bacteria. Infect Immun 1986;53:616-620.
- **Groves CP, Mazak V.** An approach to the taxonomy of the *Hominidae: Gracile Villafranchian* hominids of Africa. Casopis pro Mineralogii a Geologii 1975;20:225-247.
- **Guo Y, Nguyen KA, Potempa J.** Dichotomy of gingipains action as virulence factors: from cleaving substrates with the precision of a surgeon's knife to a meat chopper-like brutal degradation of proteins. Periodontol 2000 2010;54:15-44.
- **Haffajee AD, Bogren A, Hasturk H, Feres M, Lopez NJ, Socransky SS.** Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. J Clin Periodontol 2004;31:996-1002.
- **Hakenbeck R, Konig A, Kern I, Van Der Linden M, Keck W, Billot-Klein D et al.** Acquisition of five high-Mr penicillin-binding protein variants during transfer of high-level beta-lactam resistance from *Streptococcus mitis* to *Streptococcus pneumoniae.* J Bacteriol 1998;180:1831-1840.
- **Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P.** Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. Nat Rev Microbiol 2004;2:95-108.
- **Hannig C, Hannig M, Attin T.** Enzymes in the acquired enamel pellicle. Eur J Oral Sci 2005;113:2-13.
- **Hansen LH, Jensen LB, Sorensen HI, Sorensen SJ.** Substrate specificity of the OqxAB multidrug resistance pump in *Escherichia coli* and selected enteric bacteria. J Antimicrob Chemother 2007;60:145-147.
- **Hata S, Mayanagi H.** Acid diffusion through extracellular polysaccharides produced by various mutants of *Streptococcus mutans.* Arch Oral Biol 2003;48:431-438.
- **Haubek D, Ismaili Z, Poulsen S, Ennibi OK, Benzarti N, Baelum V.** Association between sharing of toothbrushes, eating and drinking habits and the presence of *Actinobacillus*



© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

*actinomycetemcomitans* in Moroccan adolescents. Oral Microbiol Immunol 2005;20:195-198.

- **Haubek D, Ennibi OK, Poulsen K, Vaeth M, Poulsen S, Kilian M.** Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study. Lancet 2008;371:237-242.
- **Heaton B, Dietrich T.** Causal theory and the etiology of periodontal diseases. Periodontol 2000 2012;58:26-36.
- **Herrera D, Alonso B, Leon R, Roldan S, Sanz M.** Antimicrobial therapy in periodontitis: the use of systemic antimicrobials against the subgingival biofilm. J Clin Periodontol 2008;35: 45-66.
- **Hillam DG, Hull PS.** The influence of experimental gingivitis on plaque formation. J Clin Periodontol 1977;4:56-61.
- **Holt SC, Ebersole J, Felton J, Brunsvold M, Kornman KS.** Implantation of *Bacteroides gingivalis* in nonhuman primates initiates progression of periodontitis. Science 1988;239: 55-57.
- **Imamura T, Travis J, Potempa J.** The biphasic virulence activities of gingipains: activation and inactivation of host proteins. Curr Protein Pept Sci 2003;4:443-50.
- **Jenkinson HF, Lamont RJ.** Streptococcal adhesion and colonization. Crit Rev Oral Biol Med 1997;8:175-200.
- **Jentsch HF, Marz D, Kruger M.** The effects of stress hormones on growth of selected periodontitis related bacteria. Anaerobe 2013;24:49-54.
- **Kaplan JB, Perry MB, Maclean LL, Furgang D, Wilson ME, Fine DH.** Structural and genetic analyses of O polysaccharide from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype f. Infect Immun 2001;69:5375-5384.
- **Kaplan JB, Schreiner HC, Furgang D, Fine DH.** Population structure and genetic diversity of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains isolated from localized juvenile periodontitis patients. J Clin Microbiol 2002;40:1181-1187.
- **Kaplan JB, Meyenhofer MF, Fine DH.** Biofilm growth and detachment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans.* J Bacteriol 2003a;185:1399-404.
- **Kaplan JB, Ragunath C, Ramasubbu N, Fine DH.** Detachment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* biofilm cells by an endogenous beta-hexosaminidase activity. J Bacteriol 2003b; 185:4693-4698.
- **Keijser BJ, Zaura E, Huse SM, Van Der Vossen JM, Schuren FH, Montijn RC et al.** Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. J Dent Res 2008;87:1016-1020.
- **Keller L, Surette MG.** Communication in bacteria: an ecological and evolutionary perspective. Nat Rev Microbiol 2006;4:249-258.
- **Klein RG.** The human career: human biological and cultural origins. Chicago: The University of Chicago Press, 2009.
- **Kobayashi N, Ishihara K, Sugihara N, Kusumoto M, Yakushiji M, Okuda K.** Colonization pattern of periodontal bacteria in Japanese children and their mothers. J Periodontal Res 2008; 43:156-61.
- **Koch R. Die aetiologie der Milzbrand-Krankheit,** Begrundet auf die Entwick lungsgeschichte des bacillus Anthracis. Beitrage zur Biologie der Pflanzen 1876;2:277-310.
- **Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Egland PG, Foster JS, Palmer RJ Jr.** Communication among oral bacteria. Microbiol Mol Biol Rev 2002;66:486-505.
- **Kolenbrander PE, Palmer RJ Jr, Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers NI, Diaz PI.** Bacterial interactions and successions during plaque development. Periodontol 2000 2006;42:47-79.
- **Kononen E, Saarela M, Karjalainen J, Jousimies-Somer H, Alaluusua S, Asikainen S.** Transmission of oral *Prevotella melaninogenica* between a mother and her young child. Oral Microbiol Immunol 1994;9:310-314.
- **Kruck C, Eick S, Knofler GU, Purschwitz RE, Jentsch HF.** Clinical and microbiologic results 12 months after scaling and root planing with different irrigation solutions in patients with moderate chronic periodontitis: a pilot randomized trial. J Periodontol 2012;83:312-320.
- **Kuboniwa M, Hendrickson EL, Xia Q, Wang T, Xie H, Hackett M et al.** Proteomics of *Porphyromonas gingivalis* within a model oral microbial community. BMC Microbiol 2009;9:98.
- **Kumar PS, Griffen AL, Barton JA, Paster BJ, Moeschberger ML, Leys EJ.** New bacterial species associated with chronic periodontitis. J Dent Res 2003;82:338-44.
- **Kumar PS, Griffen AL, Moeschberger ML, Leys EJ.** Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16S clonal analysis. J Clin Microbiol 2005; 43:3944-955.
- **Larsen T, Fiehn NE.** Resistance of *Streptococcus sanguis* biofilms to antimicrobial agents. APMIS 1996;104:280-284.
- **Li YH, Tang N, Aspiras MB, Lau PC, Lee JH, Ellen RP et al.** A quorum-sensing signaling system essential for genetic competence in *Streptococcus mutans* is involved in biofilm formation. J Bacteriol 2002;184:2699-708.
- **Lindhe J, Hamp SE, Löe H.** Plaque induced periodontal disease in beagle dogs. A 4-year clinical, roentgenographical and histometrical study. J Periodontal Res 1975;10:243-255.
- **Listgarten, MA.** Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study. J Periodontol 1976;47:1-18.
- **Listgarten MA, Mayo H, Amsterdam M.** Ultrastructure of the attachment device between coccal and filamentous microorganisms in “corn cob” formations of dental plaque. Arch Oral Biol 1973;18:651-56.
- **Listgarten MA, Mayo HE, Tremblay R.** Development of dental plaque on epoxy resin crowns in man. A light and electron microscopic study. J Periodontol 1975;46:10-26.
- **Livermore DM.** Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. Korean J Intern Med 2012;27: 128-142.
- **Lo AW, Seers CA, Boyce JD, Dashper SG, Slakeski N, Lissel JP et al.** Comparative transcriptomic analysis of *Porphyromonas gingivalis* biofilm and planktonic cells. BMC Microbiol 2009; 9:18.
- **Löe H, Theilade E, Jensen SB.** Experimental gingivitis in man. J Periodontol 1965;36:177-187.
- **Loesche WJ.** Clinical and microbiological aspects of chemotherapeutic agents used according to the specific plaque hypothesis. J Dent Res 1979;58:2404-2412.
- **Loo CY, Corliss DA, Ganeshkumar N.** *Streptococcus gordonii* biofilm formation: identification of genes that code for biofilm phenotypes. J Bacteriol 2000;182:1374-1382.
- **Loos BG, Dyer DW, Whittam TS, Selander RK.** Genetic structure of populations of *Porphyromonas gingivalis* associated with periodontitis and other oral infections. Infect Immun 1993;61:204-212.
- **Lopez NJ, Socransky SS, Da Silva I, Japlit MR, Haffajee AD.** Subgingival microbiota of Chilean patients with chronic periodontitis. J Periodontol 2004;75:717-725.
- **Marsh PD.** Are dental diseases examples of ecological catastrophes? Microbiology 2003;149:279-294.
- **Marsh PD, McDermid AS, Mckee AS, Baskerville A.** The effect of growth rate and haemin on the virulence and proteolytic activity of *Porphyromonas gingivalis* W50. Microbiology 1994; 140:861-865.



© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

- **McDermid AS, Mckee AS, Marsh PD.** Effect of environmental pH on enzyme activity and growth of *Bacteroides gingivalis* W50. Infect Immun 1988;56:1096-1100.
- **McNab R, Ford SK, El-Sabaeny A, Barbieri B, Cook GS, Lamont RJ.** LuxS-based signaling in *Streptococcus gordonii:* autoinducer 2 controls carbohydrate metabolism and biofilm formation with *Porphyromonas gingivalis.* J Bacteriol 2003;185:274-284.
- **Menard C, Mouton C.** Clonal diversity of the taxon *Porphyromonas gingivalis* assessed by random amplified polymorphic DNA fingerprinting. Infect Immun 1995;63: 2522-2531.
- **Mikolajczyk-Pawlinska J, Travis J, Potempa J.** Modulation of interleukin-8 activity by gingipains from *Porphyromonas gingivalis:* implications for pathogenicity of periodontal disease. FEBS Lett 1998;440:282-286.
- **Millward TA, Wilson M.** The effect of chlorhexidine on *Streptococcus sanguis* biofilms. Microbios 1989;58:155-164.
- **Newman HN, Wilson M.** Dental plaque revisited: oral biofilms in health and disease. Proceedings of a conference held at the Royal College of Physicians, London 3-5 November, 1999. Cardiff: BioLine, 1999.
- **Nilius AM, Spencer SC, Simonson LG.** Stimulation of *in vitro* growth of *Treponema denticola* by extracellular growth factors produced by *Porphyromonas gingivalis.* J Dent Res 1993;72: 1027-1031.
- **Nishihara T, Koseki T.** Microbial etiology of periodontitis. Periodontol 2000 2004;36:14-26.
- **Norman A, Hansen LH, She Q, Sorensen SJ.** Nucleotide sequence of pOLA52: a conjugative IncX1 plasmid from *Escherichia coli* which enables biofilm formation and multidrug efflux. Plasmid 2008;60:59-74.
- **Novak EA, Shao H, Daep CA, Demuth DR.** Autoinducer-2 and QseC control biofilm formation and *in vivo* virulence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans.* Infect Immun 2010;78: 2919-2926.
- **O'Toole GA, Stewart PS.** Biofilms strike back. Nat Biotechnol 2005;23:1378-379.
- **Page RC, Kornman KS.** The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. Periodontol 2000 1997;14:9-11.
- **Palmer RJ Jr, Kazmerzak K, Hansen MC, Kolenbrander PE.** Mutualism versus independence: strategies of mixed-species oral biofilms *in vitro* using saliva as the sole nutrient source. Infect Immun 2001;69:5794-5804.
- **Papapanou PN, Teanpaisan R, Obiechina NS, Pithpornchaiyakul W, Pongpaisal S, Pisuithanakan S et al.** Periodontal microbiota and clinical periodontal status in a rural sample in southern Thailand. Eur J Oral Sci 2002;110: 345-352.
- **Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA et al.** Bacterial diversity in human subgingival plaque. J Bacteriol 2001;183:3770-3783.
- **Percival RS, Marsh PD, Devine DA, Rangarajan M, Aduse-Opoku J, Shepherd P et al.** Effect of temperature on growth, hemagglutination, and protease activity of *Porphyromonas gingivalis.* Infect Immun 1999;67:1917-1921.
- **Periasamy S, Chalmers NI, Du-Thumm L, Kolenbrander PE.** *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953 requires *Actinomyces naeslundii* ATCC 43146 for growth on saliva in a three-species community that includes *Streptococcus oralis* 34. Appl Environ Microbiol 2009;75:3250-7.
- **Periasamy S, Kolenbrander PE.** *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* builds mutualistic biofilm communities with *Fusobacterium nucleatum* and *Veillonella* species in saliva. Infect Immun 2009a;77:3542-3551.
- **Periasamy S, Kolenbrander PE.** Mutualistic biofilm communities develop with *Porphyromonas gingivalis* and initial, early, and late colonizers of enamel. J Bacteriol 2009b;191:6804-6811.
- **Petit MD, Van Steenbergen TJ, Scholte LM, Van Der Velden U, De Graaff J.** Epidemiology and transmission of *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* among children and their family members. A report of 4 surveys. J Clin Periodontol 1993;20:641-650.
- **Potempa J, Sroka A, Imamura T, Travis J.** Gingipains, the major cysteine proteinases and virulence factors of *Porphyromonas gingivalis:* structure, function and assembly of multidomain protein complexes. Curr Protein Pept Sci 2003;4: 397-407.
- **Preus HR, Olsen I.** Possible transmittance of *A. actinomycetemcomitans* from a dog to a child with rapidly destructive periodontitis. J Periodontal Res 1988;23:68-71.
- **Quirynen M, Vogels R, Pauwels M, Haffajee AD, Socransky SS, Uzel NG et al.** Initial subgingival colonization of "pristine" pockets. J Dent Res 2005;84:340-344.
- **Rice LB.** Tn916 family conjugative transposons and dissemination of antimicrobial resistance determinants. Antimicrob Agents Chemother 1998;42:1871-1877.
- **Rightmire GP, Lordkipanidze D.** East Africa and Dmanisi evidence for genus Homo. In: Grine FE, Fleagle JG, Leakey RE (eds). The first humans. Origin and early evolution of the genus Homo. New York: Springer, 2009.
- **Ripamonti U.** Paleopathology in *Australopithecus africanus:* a suggested case of a 3-million-year-old prepubertal periodontitis. Am J Phys Anthropol 1988;76:197-210.
- **Ripamonti U.** The hard evidence of alveolar bone loss in early hominids of southern Africa. A short communication. J Periodontol 1989;60:118-120.
- **Roberts AP, Cheah G, Ready D, Pratten J, Wilson M, Mullany P.** Transfer of TN916-like elements in microcosm dental plaques. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:2943-2946.
- **Rocas IN, Siqueira JF Jr, Santos KR, Coelho AM.** "Red complex" *(Bacteroides forsythus, Porphyromonas gingivalis,* and *Treponema denticola)* in endodontic infections: a molecular approach. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2001;91:468-471.
- **Rogers AH, Zilm PS, Gully NJ, Pfennig AL, Marsh PD.** Aspects of the growth and metabolism of *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953 in continuous culture. Oral Microbiol Immunol 1991;6:250-255.
- **Rudiger SG, Carlen A, Meurman JH, Kari K, Olsson J.** Dental biofilms at healthy and inflamed gingival margins. J Clin Periodontol 2002;29:524-530.
- **Rudney JD, Chen R, Sedgewick GJ.** Intracellular *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in buccal epithelial cells collected from human subjects. Infect Immun 2001;69:2700-2707.
- **Rudney JD, Chen R, Sedgewick GJ.** *Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis,* and *Tannerella forsythensis* are components of a polymicrobial intracellular flora within human buccal cells. J Dent Res 2005;84:59-63.
- **Saarela M, Asikainen S, Alaluusua S, Pyhala L, Lai CH, Jousimies-Somer H.** Frequency and stability of mono- or poly-infection by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes a, b, c, d or e. Oral Microbiol Immunol 1992;7:277-279.
- **Saarela M, Von Troil-Linden B, Torkko H, Stucki AM, Alaluusua S, Jousimies-Somer H et al.** Transmission of oral bacterial species between spouses. Oral Microbiol Immunol 1993;8: 349-354.




© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

- **Sahrmann P, Puhan MA, Attin T, Schmidlin PR.** Systematic review on the effect of rinsing with povidone-iodine during nonsurgical periodontal therapy. J Periodontal Res 2010;45: 153-164.
- **Saito Y, Fujii R, Nakagawa KI, Kuramitsu HK, Okuda K, Ishihara K.** Stimulation of *Fusobacterium nucleatum* biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis.* Oral Microbiol Immunol 2008;23:1-6.
- **Samore MH, Magill MK, Alder SC, Severina E, Morrison-De Boer L, Lyon JL et al.** High rates of multiple antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* from healthy children living in isolated rural communities: association with cephalosporin use and intrafamilial transmission. Pediatrics 2001;108:856-865.
- **Saxton CA.** Scanning electron microscope study of the formation of dental plaque. Caries Res 1973;7:102-119.
- **Schreiner HC, Sinatra K, Kaplan JB, Furgang D, Kachlany SC, Planet PJ et al.** Tight-adherence genes of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* are required for virulence in a rat model. Proc Natl Acad Sci U S A 2003;100:7295-300.
- **Sedlacek MJ, Walker C.** Antibiotic resistance in an *in vitro* subgingival biofilm model. Oral Microbiol Immunol 2007;22: 333-339.
- **Shani S, Friedman M, Steinberg D.** The anticariogenic effect of amine fluorides on *Streptococcus sobrinus* and glucosyltransferase in biofilms. Caries Res 2000;34:260-267.
- **Shao H, Lamont RJ, Demuth DR.** Autoinducer 2 is required for biofilm growth of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans.* Infect Immun 2007;75:4211-4218.
- **Simionato MR, Tucker CM, Kuboniwa M, Lamont G, Demuth DR, Tribble GD et al.** *Porphyromonas gingivalis* genes involved in community development with *Streptococcus gordonii.* Infect Immun 2006;74:6419-6428.
- **Slomiany BL, Murty VL, Piotrowski J, Slomiany A.** Salivary mucins in oral mucosal defense. Gen Pharmacol 1996;27:761-771.
- **Socransky SS.** Microbiology of periodontal disease. Present status and future considerations. J Periodontol 1977;48:497-504.
- **Socransky SS.** Criteria for the infectious agents in dental caries and periodontal disease. J Clin Periodontol 1979;6:16-21.
- **Socransky SS, Haffajee AD.** Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. Periodontol 2000 1994;5:7-25.
- **Socransky SS, Haffajee AD.** Periodontal infections. In: Lindhe J, Lang NP, Karring T (eds). Clinical periodontology and implant dentistry. Oxford: Blackwell Munksgaard, 2008.
- **Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr.** Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol 1998;25:134-144.
- **Stoodley P, Debeer D, Lewandowski Z.** Liquid flow in biofilm systems. Appl Environ Microbiol 1994;60:2711-2716.
- **Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW.** Biofilms as complex differentiated communities. Annu Rev Microbiol 2002;56:187-209.
- **Straus WL Jr, Cave JE.** Pathology and the posture of Neanderthal man. Q Rev Biol 1957;32:348-363.
- **Surna A, Kubilius R, Sakalauskiene J, Vitkauskiene A, Jonaitis J, Saferi, V et al.** Lysozyme and microbiota in relation to gingivitis and periodontitis. Med Sci Monit 2009;15:CR66-CR73.
- **Takada K, Saito M, Tsuzukibashi O, Kawashima Y, Ishida S, Hirasawa M.** Characterization of a new serotype g isolate of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans.* Mol Oral Microbiol 2010;25:200-206.
- **Takahashi N, Schachtele CF.** Effect of pH on the growth and proteolytic activity of *Porphyromonas gingivalis* and *Bacteroides intermedius.* J Dent Res 1990;69:1266-1269.
- **Takahashi N, Ishihara K, Kato T, Okuda K.** Susceptibility of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to six antibiotics decreases as biofilm matures. J Antimicrob Chemother 2007;59:59-65.
- **Takenaka S, Pitts B, Trivedi HM, Stewart PS.** Diffusion of macromolecules in model oral biofilms. Appl Environ Microbiol 2009;75:1750-1753.
- **Tanner A, Maiden MF, Macuch PJ, Murray LL, Kent RL Jr.** Microbiota of health, gingivitis, and initial periodontitis. J Clin Periodontol 1998;25:85-98.
- **Tatevossian, A.** The effects of heat inactivation, tortuosity, extracellular polyglucan and ion-exchange sites on the diffusion of [14C]-sucrose in human dental plaque residue *in vitro.* Arch Oral Biol 1985;30:365-371.
- **Ter Steeg PF, Van Der Hoeven JS.** Development of periodontal microflora on human serum. Microb Ecol Health Dis 1989;2: 1-10.
- **Ter Steeg PF, Van Der Hoeven JS, De Jong MH, Van Munster PJ, Jansen MJ.** Enrichment of subgingival microflora on human serum leading to accumulation of *Bacteroides* species, *Peptostreptococci* and *Fusobacteria*. Antonie Van Leeuwenhoek, 1987;53:261-272.
- **Theilade E.** The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. J Clin Periodontol 1986; 13:905-911.
- **Theilade E, Theilade J.** Bacteriological and ultrastructural studies of developing dental plaque. In: Mchugh WD (ed). Dental plaque: a symposium held in the University of Dundee, 22-24 September, 1969. Édimbourgh: Livingstone, 1970.
- **Thurnheer T, Gmur R, Shapiro S, Guggenheim B.** Mass transport of macromolecules within an *in vitro* model of supragingival plaque. Appl Environ Microbiol 2003;69: 1702-1709.
- **Van De Sande-Bruinsma N, Grundmann H, Verloo D, Tiemersma E, Monen J, Goossens H, *et al.*** Antimicrobial drug use and resistance in Europe. Emerg Infect Dis 2008;14:1722-1730.
- **Vickerman MM, Clewell DB, Jones GW.** Ecological implications of glucosyltransferase phase variation in *Streptococcus gordonii.* Appl Environ Microbiol 1991;57:3648-3651.
- **Von Troil-Linden B, Saarela M, Matto J, Alaluusua S, Jousimies-Somer H, Asikainen S.** Source of suspected periodontal pathogens re-emerging after periodontal treatment. J Clin Periodontol 1996;23:601-607.
- **Wang BY, Chi B, Kuramitsu HK.** Genetic exchange between *Treponema denticola* and *Streptococcus gordonii* in biofilms. Oral Microbiol Immunol 2002;17:108-112.
- **Warburton PJ, Palmer RM, Munson MA, Wade WG.** Demonstration of *in vivo* transfer of doxycycline resistance mediated by a novel transposon. J Antimicrob Chemother 2007;60: 973-980.
- **Welin J, Wilkins JC, Beighton D, Svensater G.** Protein expression by Streptococcus mutans during initial stage of biofilm formation. Appl Environ Microbiol 2004;70:3736-3741.
- **Westergaard J, Frandsen A, Slots J.** Ultrastructure of the subgingival microflora in juvenile periodontitis. Scand J Dent Res 1978;86:421-429.
- **White RP Jr, Madianos PN, Offenbacher S, Phillips C, Blakey GH, Haug RH et al.** Microbial complexes detected in the second/third molar region in patients with asymptomatic third molars. J Oral Maxillofac Surg 2002;60:1234-1240.




© Initiatives Santé - JPIO des Éditions CdP

- **Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE.** Mechanisms of adhesion by oral bacteria. Annu Rev Microbiol 1996;50:513-552.
- **Willemsen I, Bogaers-Hofman D, Winters M, Kluytmans J.** Correlation between antibiotic use and resistance in a hospital: temporary and ward-specific observations. Infection 2009;37: 43243-7.
- **Wood SR, Kirkham J, Marsh PD, Shore RC, Nattress B, Robinson C.** Architecture of intact natural human plaque biofilms studied by confocal laser scanning microscopy. J Dent Res 2000;79:21-27.
- **Yamasaki Y, Nomura R, Nakano K, Naka S, Matsumoto-Nakano M, Asai F et al.** Distribution of periodontopathic bacterial species in dogs and their owners. Arch Oral Biol 2012;57:1183-1188.
- **Yao Y, Berg EA, Costello CE, Troxler RF, Oppenheim FG.** Identification of protein components in human acquired enamel pellicle and whole saliva using novel proteomics approaches. J Biol Chem 2003;278:5300-5308.
- **Yeung MK.** Molecular and genetic analyses of *Actinomyces* spp. Crit Rev Oral Biol Med 1999;10:120-138.
- **Zainal-Abidin Z, Veith PD, Dashper SG, Zhu Y, Catmull DV, Chen YY et al.** Differential proteomic analysis of a polymicrobial biofilm. J Proteome Res 2012;11:4449-4464.
- **Zaura-Arite E, Van Marle J, ten Cate JM.** Conofocal microscopy study of undisturbed and chlorhexidine-treated dental biofilm. J Dent Res 2001;80:1436-1440.
- **Zhu Y, Dashper SG, Chen YY, Crawford S, Slakeski N, Reynolds EC.** *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* synergistic polymicrobial biofilm development. PLoS One 2013;8:e71727.



© Initiatives Santé - JPIO des Éditions