
Étiopathogénie des maladies parodontales

Flore buccale et microbiologie des maladies parodontales

La cavité buccale abrite un des écosystèmes bactériens les plus complexes de l'organisme. Plusieurs centaines d'espèces de micro-organismes cohabitent dans le milieu buccal : bactéries, levures, protozoaires et virus. Cette cavité naturelle constitue avec le côlon la partie la plus septique de l'organisme humain. De nombreux auteurs ont essayé de quantifier cette population : un milligramme de plaque contient environ 100 millions de bactéries, 1 millilitre de salive contient un nombre moyen de 750 millions de bactéries (dont 100 millions de bactéries cultivables sur milieu de culture). La diversité bactérienne requiert, pour vivre et se développer dans ce milieu, des surfaces d'adhésions favorables, des conditions nutritives et respiratoires riches et variées, des facteurs physicochimiques compatibles et des facteurs inhibiteurs maîtrisables. La complexité de l'écosystème sous-entend l'existence d'une organisation structurale rigoureuse des bactéries (formation de la plaque bactérienne) et d'interactions nutritionnelles en cascade.

Écologie buccale

Distribution des bactéries dans la cavité buccale

Jusqu'en 1963, la plupart des bactériologistes ont considéré que la flore orale était uniformément répartie dans la cavité buccale. Les efforts de recherche furent donc concentrés sur la composition bactériologique de la

salive considérée comme le reflet de celle de la bouche. Puis des études comparatives de différents sites oraux ont clairement établi que les micro-organismes présents sur les surfaces dentaires n'étaient pas nécessairement les mêmes que ceux retrouvés sur la face dorsale de la langue ou sur les muqueuses jugales.

Par exemple, *Streptococcus sanguis* et *Streptococcus mutans* apparaissent à la surface dentaire dure de type émail dans la cavité buccale au cours de l'éruption des premières dents lactéales de l'enfant. *Streptococcus salivarius* est largement distribué sur les joues et la langue. Cependant, *S. salivarius* a une fixation plus importante sur la muqueuse de la face dorsale de la langue que sur les autres surfaces muqueuses de la cavité buccale.

La plaque dentaire constitue un habitat bactérien important de la cavité buccale. Il s'agit d'une organisation bactérienne complexe dont les premiers stades de formation correspondent à un dépôt de glycoprotéines sur les surfaces des tissus durs ou des tissus mous baignant dans la salive. Cette première couche porte le nom de pellicule exogène acquise. Elle est secondairement colonisée par des micro-organismes qui vont s'organiser en fonction de critères physicochimiques, nutritionnels ou relationnels. Deux types de plaque ont été l'objet d'un grand nombre d'études. Il s'agit de la plaque supra-gingivale et de la plaque sous-gingivale. Comme leur nom l'indique, ces deux types de plaque sont définis en fonction de leur localisation anatomique par rapport à la gencive. La plaque supra-gingivale est spécifiquement impliquée dans la pathologie carieuse alors que la plaque sous-gingivale est associée aux pathologies gingivales et parodontales.

Les principales bactéries retrouvées dans la plaque supra-gingivale sont : *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. salivarius*, *Lactobacillus* sp., *Actinomyces* sp. (*A. viscosus*). Des interactions spécifiques ont été décrites entre ces différentes bactéries. Par exemple *Bacterionema matruchottii* coaggrège avec différentes espèces d'actinomyces, *Actinomyces viscosus* avec *Streptococcus* sp., *Fusobacterium nucleatum* avec *Actinomyces* sp. Des associations particulières ont été décrites comme les formations dites « en épis de maïs » faisant intervenir *Fusobacterium nucleatum* et *Streptococcus sanguis*.

En fonction de sa situation côté dent ou côté épithélium, la composition de la flore sous-gingivale varie de façon importante. Les couches les plus anciennement constituées côté tissu dur sont fortement adhérentes et formées majoritairement de cocci et de bacilles Gram⁺. Quelques rares Gram⁻ peuvent être rencontrés. À l'inverse, la plaque constituée côté épithélium est faiblement adhérente et principalement composée de cocci et bacilles à Gram⁻. On y trouve également en quantité importante des bactéries mobiles dont des spirochètes.

La composition de la flore sous-gingivale est étroitement dépendante de la composition de la flore supra-gingivale. Mais en fonction de critères micro-

environnementaux (potentiel redox, température, réponse de l'hôte...), la colonisation et la croissance des bactéries spécifiques diffèrent fortement de celles de la flore supra-gingivale.

Croissance de la flore orale

Les surfaces dentaires représentent un faible pourcentage (5 %) de la surface totale de la cavité buccale. Elles jouent cependant un rôle important dans les processus de colonisation et de développement des micro-organismes buccaux.

Le temps de doublement en phase exponentielle de croissance d'une bactérie de référence comme *Escherichia coli* K12 est de l'ordre de 20 minutes. La plupart des bactéries orales aéro-anaérobies ont un temps de doublement de 30 à 50 minutes en culture. Ces mêmes bactéries *in vivo* ont un temps de doublement de plus de 5 heures. De nombreux paramètres limitent la croissance des différentes espèces bactériennes au sein de la flore. Les paramètres de limitation peuvent être de différentes natures : potentiel redox, pH, température, éléments nutritifs...

Facteurs physicochimiques

Le milieu buccal présente des caractéristiques physicochimiques spécifiques qui sont à l'origine de la constitution de la flore de la cavité buccale. Ces caractéristiques sont multiples : température, humidité, pression partielle en gaz (O_2 , CO_2 , H_2), potentiel d'oxydo-réduction... Elles peuvent subir des variations importantes d'un sujet à l'autre, d'un site à l'autre chez un même sujet et dans un même site en fonction du temps.

TEMPÉRATURE

La température a des effets importants sur la croissance bactérienne en raison de la thermosensibilité des réactions enzymatiques du métabolisme bactérien. Or les bactéries sont poïkilothermes, c'est-à-dire capables de supporter des variations importantes de température, leur température variant avec celle du milieu extérieur. Chaque espèce bactérienne possède des températures dites cardinales, c'est-à-dire des températures minimales, maximales et optimales de croissance.

La température moyenne de la cavité buccale est de 37 °C. Les bactéries de cet habitat sont pour la plupart de type mésophile. Elles présentent une température optimale de croissance entre 20 et 45 °C. La plupart des bactéries pathogènes humaines sont mésophiles. La cavité buccale est cependant le siège de variations très importantes pouvant dépasser les 50 °C d'amplitude, par exemple, au cours d'un repas lorsque l'ingestion d'une crème glacée (- 5 °C) est suivie de celle d'un café chaud (+ 60 °C). Les bactéries de la flore buccale devront être capables de supporter ces températures extrêmes et les variations rapides et de courte durée.

HUMIDITÉ

La cavité buccale est un milieu humide dans lequel s'associent deux fluides différents en proportions inégales : la salive et le fluide gingival.

- La salive est un élément spécifique et constant de la cavité orale. Le volume de production est variable en fonction du temps et de différents éléments de stimulation (les aliments). La salive, une fois produite, est rapidement déglutée. La sécrétion salivaire moyenne totale est de 750 ml/24 heures (300 à 1 500 ml/24 heures). La salive est un liquide composé principalement d'une phase aqueuse (99,5 % d'eau). Les constituants organiques sont quantitativement peu importants comparés aux valeurs plasmatiques (salive 3 à 3,4 g/l, plasma 70 g/l).
- Le fluide gingival est un élément spécifique mais inconstant de la cavité buccale car il est dépendant de l'état inflammatoire du site parodontal dont il est issu. Le fluide gingival est un suintement observé au collet (sulcus ou sillon gingival) des dents après isolement de la salive. Le volume total de fluide gingival produit en 24 heures dans des conditions physiologiques est évalué à 0,5 à 2,4 ml. Comme la salive, le fluide gingival est un liquide principalement composé d'eau. La teneur moyenne en protéines est comparable à celle du plasma : 70 g/l.

PRESSION PARTIELLE EN GAZ

Les principaux gaz dissous dans la salive sont l'azote, l'oxygène et le dioxyde de carbone. La concentration moyenne en azote est de 0,5 à 2,8 ml/100 ml. Les interactions de la forme dissoute de l'azote dans la salive avec la flore orale sont mal connues.

La concentration en oxygène varie de 0,5 à 1,35 ml/100 ml. Les sujets développant un grand nombre de caries présentent des valeurs de l'ordre de 0,5, alors que les sujets résistant à la carie ont des valeurs de l'ordre de 1,35. Aucune variation de ce type n'a pu être constatée en ce qui concerne la susceptibilité aux maladies parodontales.

Le principal gaz dissous dans la salive est le dioxyde de carbone. Sa concentration salivaire varie de 13 à 85 ml/100 ml. La moitié du CO_2 salivaire est sous forme bicarbonate à pH 6,9. Cette forme est très instable en raison d'une concentration salivaire du CO_2 plus forte que la concentration de l'air. Le CO_2 salivaire joue un rôle important dans la stabilité du pH salivaire (pouvoir tampon) et est également un élément nutritif important de nombreuses bactéries.

SYSTÈME TAMPON

Le pouvoir tampon de la salive est lié au niveau de sécrétion. Les systèmes tampons type bicarbonate constituent les plus importants moyens de stabilité du pH intra-buccal. La zone d'action de ces systèmes se situe entre pH 4 et 7. Les produits relargués par les bactéries de la plaque dentaire peuvent également jouer un rôle plus secondaire dans le contrôle du pH salivaire.

POTENTIEL D'OXYDO-RÉDUCTION

Le potentiel d'oxydo-réduction (POR) de la salive est un paramètre important dans le développement des micro-organismes de la flore orale. Le POR peut varier de façon très importante d'un sujet à l'autre mais subit peu de fluctuations au cours de la journée chez un même sujet. Des différences importantes ont été remarquées entre des sujets susceptibles à la carie (+ 237 +/- 9,9 mV) et des sujets non susceptibles (+ 309 +/- 4,7 mV). La salive des sujets résistants à la carie est saturée en oxygène.

La salive n'est pas un milieu favorable au développement des bactéries anaérobies. À l'inverse, la plaque dentaire et le fluide gingival possèdent un POR moyen de - 200 mV (variant de - 100 à - 300 mV) favorable à de nombreuses espèces bactériennes microaérophiles ou anaérobies.

Flore buccale

Bactéries à Gram⁻

Les bactéries à Gram⁻ sont principalement localisées dans le sillon gingival dont la modification pathologique entraîne la formation de la poche parodontale. La plupart des Gram⁻, anaérobies stricts non mobiles, font partie de la famille des Bacteroidaceae. Cette famille comprend les genres *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*...

Les principaux Gram⁻ mobiles sont les genres *Selenomonas*, *Centipeda* et *Campylobacter*.

Certaines autres bactéries, bacilles à Gram⁻, peuvent cohabiter avec les anaérobies stricts mais possèdent un métabolisme respiratoire capnophile donc plus tolérant à l'oxygène, comme *Actinobacillus*, *Capnocytophaga*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Haemophilus*...

COCCI À GRAM⁻

Des cocci à Gram⁻ sont aussi retrouvés de façon habituelle dans la cavité buccale : *Neisseria* et *Veillonella*, *Neisseria* sp, *N. sicca* et *N. flava* étant les principaux représentants du genre *Neisseria* rencontrés dans la cavité buccale, que ce soit dans la plaque supra-gingivale ou sur les surfaces muqueuses (joues, lèvres, langue...). Les *Neisseria* font partie des colonisateurs primaires de la pellicule exogène acquise. Aucun rôle pathogène ne leur a été attribué.

Les espèces du genre *Veillonella* les plus fréquemment présentes dans la cavité buccale sont : *V. parvula*, *V. atypica*, *V. dispar*. Elles sont retrouvées dans la flore supra- et sous-gingivale ainsi que sur les différentes muqueuses jugales. Les *Veillonella* représentent 5 à 10 % de la flore de la salive. Il s'agit de commensales des muqueuses. Elles sont retrouvées aussi bien

sur des sites sains que pathologiques. Ce sont aussi des colonisateurs primaires de la pellicule exogène acquise.

Aucun rôle pathogène n'a été attribué à ces germes, bien qu'ils soient fréquemment associés aux parodontites.

BACILLES À GRAM⁻

- *Haemophilus* sp. Les principales espèces du genre *Haemophilus* isolées dans la cavité buccale sont : *H. aphrophilus*, *H. influenzae*, *H. parahaemolyticus*, *H. para-influenzae*, *H. paraphrophilus*, *H. segnis*. Ces hôtes normaux de la cavité buccale peuvent parfois devenir des bactéries pathogènes opportunistes à l'origine d'infections des maxillaires (ostéites) ou d'endocardites infectieuses.

- *Eikenella* sp. Le principal représentant du genre *Eikenella* dans la flore orale chez l'homme est *Eikenella corrodens*. C'est un bacille capnophile et asaccharolytique, commensal de la cavité buccale dont l'habitat principal est la plaque dentaire. *E. corrodens* est un pathogène opportuniste impliqué dans des septicémies, des abcès du cerveau, des péritonites, des endocardites, des méningites et dans les parodontites.

- *Bacteroides* sp. Ce genre regroupe des bactéries non pigmentées. Les principaux représentants isolés dans la flore buccale sont : *B. forsythus*, *B. gracilis*. *B. forsythus* est d'isolement difficile en raison de ses exigences nutritionnelles (acide N-acétylmuramique). Il est principalement isolé dans des lésions parodontales en phase de destruction active.

- *Porphyromonas* sp. Les principales espèces du genre *Porphyromonas* identifiées dans la cavité buccale sont : *P. endodontalis*, *P. gingivalis*. Ce sont des anaérobies stricts, asaccharolytiques et pigmentés en noir sur gélose au sang. Ces deux espèces bactériennes sont directement impliquées dans des situations pathologiques. *P. endodontalis* intervient dans des infections de la pulpe dentaire. *P. gingivalis* est considéré comme un pathogène majeur des parodontites.

- *Prevotella* sp. Les principales espèces du genre *Prevotella* identifiées dans la cavité buccale sont : *P. denticola*, *P. intermedia*, *P. loeshii*, *P. melaninogenica*, *P. nigrescens*. Ce sont des anaérobies stricts, pigmentés et possédant un pouvoir fermentaire. *P. intermedia* est considéré comme un pathogène important dans les parodontites, mais aussi dans les infections endodontiques, les abcès périapicaux, les alvéolites, les ostéites et les péri-implantaires. Il est associé à de nombreuses infections mixtes ou anaérobies de la face.

- *Fusobacterium* sp. Les principales espèces du genre *Fusobacterium* identifiées dans la cavité buccale sont : *F. mortiferum*, *F. naviforme*, *F. necrophorum*, *F. nucleatum*, *F. periodonticum*. Ces anaérobies stricts ont une forme allongée aux extrémités effilées. Ils sont non mobiles et asporulés. *F. nucleatum* est un commensal de la cavité buccale qui est

régulièrement isolé à partir de la flore sous-gingivale et du dos de la langue. Son incidence augmente dans les parodontites de l'adulte ou les gingivites. *F. nucleatum* possède de nombreux facteurs de virulence (LPS phosphatase; DNase; leucotoxine; hémolysine), ce qui explique son rôle potentiel dans les pathologies parodontales.

- *Capnocytophaga* sp. Les principales espèces du genre *Capnocytophaga* identifiées dans la cavité buccale sont : *C. gingivalis*, *C. ochracea*, *C. sputigena*. Ces bacilles à Gram⁻, capnophiles, non sporulés et sans capsule ont une morphologie fusiforme. Ils sont doués d'une certaine mobilité. Leur habitat naturel est la cavité buccale et plus spécifiquement le sillon gingival. *Capnocytophaga* peut se comporter comme un pathogène opportuniste et intervenir dans des infections diverses : septicémie, endocardite, parodontite, mais son rôle dans les parodontites n'a pas été clairement établi. Il favorise cependant le développement d'autres bactéries pathogènes comme *P. gingivalis* par la production de succinate.

- *Actinobacillus* sp. Le genre *Actinobacillus* n'est représenté dans la cavité buccale humaine que par une seule espèce : *A. actinomycetemcomitans*. C'est un petit cocco-bacille à Gram⁻, capnophile, non sporulé, non mobile et saccharolytique. Ce micro-organisme a une importance historique en microbiologie orale car il a permis de démontrer l'aspect infectieux d'une forme de maladie parodontale (la parodontite juvénile localisée) et la spécificité des bactéries impliquées dans son étiologie. La présence de cette espèce dans la flore de sujet sain est occasionnelle. À l'inverse sa prévalence est de 90 % chez des sujets présentant une parodontite juvénile localisée et de 60 % chez des sujets présentant des parodontites de l'adulte avec des lésions en évolution.

La niche écologique de *A. actinomycetemcomitans* est la cavité buccale. Il est principalement retrouvé dans la flore sous-gingivale, mais a également été isolé à partir de la salive, des surfaces jugales, de la langue, des amygdales. *A. actinomycetemcomitans* possède de nombreux facteurs de pathogénicité : LPS, leucotoxine, phosphatase, facteurs d'adhésion, catalase, DNase, peptidase...

- *Autres bacilles à Gram⁻*. *Campylobacter*, principalement *C. rectus* (anciennement appelé *Wolinella recta*) est microaérophile, mobile, asaccharolytique, exigeant en formate et fumarate. Cette espèce est fréquemment associée aux parodontites et semble être un élément important de l'écosystème sous-gingival.

Centipeda periodontii est la seule espèce du genre, isolée dans les lésions de parodontite. C'est un anaérobie strict et mobile.

Les espèces de *Selenomonas* identifiées dans la cavité buccale sont au nombre de six. Ce sont des bacilles incurvés à Gram⁻, anaérobies, mobiles. Leur rôle potentiel dans les parodontites est mal connu.

Bactéries à Gram⁺

COCCI À GRAM⁺

- *Streptococcus sp.* Le genre *Streptococcus* est fortement présent dans tous les sites de la cavité buccale. Chez l'homme, certains streptocoques jouent un rôle écologique important en raison de leur synthèse de polysaccharides extracellulaires (dextranes, levanes) qui interviennent dans la constitution de la plaque et son métabolisme.
- *Streptococcus mutans* est un des streptocoques quantitativement dominants de la flore orale humaine. Il synthétise des polysaccharides extracellulaires à partir du saccharose salivaire. De nombreuses études ont montré le rôle étiologique de ce micro-organisme dans la carie. Dans l'espoir de mettre au point un vaccin anticarie, l'antigénicité de *Streptococcus mutans* a fait l'objet de nombreuses études. Cette espèce bactérienne a été fortement impliquée dans l'étiologie des endocardites infectieuses chez l'homme.
- *Streptococcus sanguis* est une des premières espèces bactériennes à coloniser la pellicule exogène acquise, au cours du processus de constitution de la plaque. Ce streptocoque synthétise des mutanes et des dextranes différents de celles de *S. mutans*. Des études chez le rat ont montré un certain pouvoir cariogène de *S. sanguis*. Il peut également être responsable d'endocardite chez l'homme.
- *Streptococcus mitis* est l'espèce quantitativement dominante des streptocoques oraux également responsables d'endocardite chez l'homme.
- *Streptococcus salivarius* est un streptocoque dominant de la flore orale de l'homme, principalement présent sur la surface de la langue. Il produit des levanes très labiles qui servent de réserve alimentaire aux bactéries de la plaque bactérienne.
- *Peptostreptococcus sp.* Les *Peptostreptococcus* sont des cocci à Gram⁺, (anaérobies stricts) présents dans la plupart des cavités naturelles de l'homme. Les espèces identifiées dans la cavité buccale sont : *P. anaerobius*, *P. magnus*, *P. prevotii*, *P. micros*. Fréquemment isolé à partir des poches parodontales associé à d'autres anaérobies stricts à Gram⁻, *P. micros* possède des facteurs pathogènes probablement impliqués dans l'initiation des lésions parodontales (collagénase, hyaluronidase...).

AUTRES STREPTOCOQUES

D'autres streptocoques (du groupe D, *Enterococcus faecalis*...) peuvent être isolés de la salive ou de la plaque chez l'homme. Mais ils ne sont pas des commensaux de la cavité buccale.

STAPHYLOCOQUES ET MICROCOQUES

La cavité buccale ne constitue pas une niche écologique normale pour les staphylocoques. Ils y sont assez rarement présents à la différence de la peau, des muqueuses nasales. Les staphylocoques ne sont qu'occasionnellement

isolés à partir de la plaque supra-gingivale (*Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus*).

Micrococcus mucilagenous est le seul microcoque isolé régulièrement de la flore orale humaine normale.

Bacilles et filaments à Gram⁺

- *Actinomyces sp.* Le genre *Actinomyces* est fortement représenté dans la cavité buccale et est présent sur l'ensemble des surfaces orales. Les *Actinomyces* sont des bacilles à Gram⁺ très polymorphes et non sporulés. Ce sont des commensaux oraux. Les espèces identifiées dans la cavité buccale humaine sont : *A. georgiae*, *A. gerencseriae*, *A. israelii*, *A. meyeri*, *A. odontolyticus*, *A. viscosus*. Ces bactéries jouent un rôle important dans l'étiologie des caries chez l'homme. Elles sont plus spécifiquement impliquées dans les caries radiculaires chez des sujets de plus de 50 ans en général.

- *Lactobacilles sp.* Les lactobacilles sont des bacilles rectilignes ou incurvés de longueur et d'épaisseur variables. Ils sont immobiles, Gram⁺, asporulés et acapsulés le plus souvent. Les espèces les plus fréquentes dans la cavité buccale sont : *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. crispatus*, *L. grasseri*. Le genre *Lactobacillus* est classé dans les bactéries lactiques dont les caractères fortement acidogènes les ont fait qualifier de bactéries cariogènes. En fait, les lactobacilles sont des colonisateurs secondaires des cavités carieuses. Leur faible capacité d'adhésion aux surfaces lisses explique leur localisation préférentielle dans les sillons et les faces dentaires triturantes.

- *Eubacterium sp.* Ce sont des bactéries filamenteuses présentant un Gram variable et anaérobies stricts. Elles font partie de la flore commensale du tube digestif. Les principales espèces identifiées dans la cavité buccale sont : *E. alactylicum*, *E. brachy*, *E. lentum*, *E. nodatum*, *E. saburreum*, *E. timidum*, *E. yurii*, régulièrement isolées de la flore sous-gingivale dans les cas de parodontite de l'adulte. Ce sont des pathogènes opportunistes mineurs.

- *Corynebacterium sp.* Le principal représentant oral est *C. matruchotii* (anciennement *Bacterionema matruchotii*). C'est un long filament jouant un rôle important dans la structure de la plaque. Il est impliqué dans la constitution des formations en épis de maïs et dans la constitution du tartre.

Microbiologie des maladies parodontales

Notion de spécificité bactérienne

Le développement très important de la microbiologie parodontale, au cours de ces dernières années, découle directement du concept de

spécificité. L'ensemble des études menées à partir de ce concept a permis de démontrer que les maladies parodontales sont des pathologies infectieuses. Chaque type de pathologie parodontale présente une flore sous-gingivale constituée d'une association de micro-organismes qui lui est propre. Ce concept de spécificité bactérienne n'a pu être mis en évidence que grâce aux progrès des techniques de cultures des anaérobies et à la mise au point de nouveaux milieux de cultures sélectifs. La plupart des micro-organismes intervenant dans ces pathologies sont des bacilles à Gram⁻, anaérobies stricts (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*...) ou capnophiles (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga ochracea*...). Les difficultés d'isolement et d'identification de ces micro-organismes expliquent pourquoi la plupart des laboratoires d'analyse médicale ne pratiquent pas la recherche de ces pathogènes parodontaux. Par contre, les travaux de différentes équipes de recherche ont permis de définir les associations bactériennes spécifiques retrouvées dans les différentes formes de pathologies parodontales.

Pathologies parodontales

GINGIVITES

La flore est constituée à 60 % de bactéries à Gram⁺ anaérobies facultatives ou anaérobies strictes. Elle est représentée principalement par *Actinomyces sp.* et *Streptococcus sp.* Un faible pourcentage de bacilles à Gram⁻, anaérobies stricts comme *Fusobacterium nucleatum* et *Prevotella intermedia*, est également retrouvé dans cette situation pathologique (Socransky et coll., 1982).

PARODONTITE ULCÉRO-NÉCROTIQUE

La flore sous-gingivale de sujets atteints de ce type de parodontite est composée de bacilles à Gram⁻ anaérobies stricts (*P. intermedia* et *F. nucleatum*) et de spirochètes (*Treponema sp.* et *Selenomonas sp.*).

PARODONTITES DE L'ADULTE

La flore peut être très hétérogène (Moore, 1987), mais reste dominée par des micro-organismes anaérobies et capnophiles à Gram⁻ (Dzink, 1985). Les formes de parodontites de l'adulte les plus agressives et les plus rapides dans leur évolution sont caractérisées par la présence d'un micro-organisme à haut pouvoir pathogène : *Porphyromonas gingivalis*. Slots (1986b) a décrit une association synergique entre *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* et *P. intermedius*, jouant un rôle particulièrement important dans ces formes de parodontites agressives à évolution rapide.

PARODONTITES JUVÉNILES

Les parodontites juvéniles sont subdivisées en deux entités cliniques : la parodontite juvénile localisée ou parodontite aiguë juvénile (PAJ) et la parodontite juvénile généralisée, chacune présentant une microbiologie différente. La PAJ constitue l'exemple caractéristique d'une pathologie infectieuse dans laquelle un agent étiologique primaire bactérien a été mis en évidence : *A. actinomycetemcomitans* (Slots et coll., 1980; Mandell et coll., 1981).

La microbiologie de la parodontite juvénile généralisée est plus complexe et présente une association de *P. gingivalis* (10 à 15 %) et d'autres bacilles à Gram⁻ [*Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga* sp. (Holdeman, 1985), *A. actinomycetemcomitans*...].

PARODONTITE À PROGRESSION RAPIDE

La parodontite à progression rapide est une forme agressive de parodontite qui détruit la plus grande partie des tissus de soutien des dents en moins de 5 ans. Cette forme clinique particulière est surtout fréquente chez des sujets adultes de moins de 35 ans. La flore sous-gingivale est généralement composée de proportions importantes de *P. gingivalis*. *P. intermedia* et d'autres bactéries du genre *Bacteroides*. Mais *P. gingivalis* semble être un des micro-organismes étiologiques essentiels de la parodontite à progression rapide.

PARODONTITE ASSOCIÉE AU SIDA

La flore des parodontites associées au sida présente d'une façon générale une composition proche de celle des parodontites classiques de l'adulte avec une augmentation du pourcentage de *Campylobacter rectus*.

PÉRI-IMPLANTITE

La péri-implantite est une forme de parodontite présente sur certains sites péri-implantaires. Elle est fréquemment associée à *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* et *Campylobacter rectus* (Sixou et coll., 1992).

Conclusions

Le milieu buccal est un milieu complexe dans lequel cohabitent un très grand nombre de micro-organismes. L'état de santé parodontal est un équilibre fragile entre l'agressivité de cet écosystème et la réponse de l'hôte. Toute perturbation de cet équilibre engendre l'apparition de manifestations cliniques infectieuses et inflammatoires de type parodontite ou gingivite. Une meilleure connaissance de cet écosystème et de ses perturbations permettra la mise en place de meilleures stratégies thérapeutiques et de tests diagnostiques, prédictifs ou pronostiques.

Mécanismes d'initiation et de progression de la maladie parodontale

Les bactéries de la plaque supra- et sous-gingivale sont des éléments essentiels pour l'apparition et le développement de gingivites et de parodontites. L'interruption des mesures d'hygiène bucco-dentaires entraîne rapidement une accumulation de plaque qui, dans les 4 jours, provoque des signes cliniques d'inflammation gingivale. Un certain nombre de bactéries Gram⁻ anaérobies ont été identifiées au cours de maladies parodontales. Cependant la colonisation n'est pas homogène : différentes espèces colonisent différents sites à différents moments. Des 250 espèces qui colonisent le sillon, une dizaine au plus est impliquée dans la maladie parodontale. Cela suppose que des facteurs locaux affectent la réponse de l'hôte, augmentant l'accumulation de plaque ou modifiant sa composition, la rendant ainsi plus ou moins pathogène (Clark et Loe, 1993).

On distingue quatre phases dans la progression de la lésion parodontale : initiale, précoce, établie et avancée. Aux deux premiers stades, on observe seulement des formes aiguës inflammatoires, tandis qu'aux deux derniers, les éléments inflammatoires se superposent aux lésions aiguës. Ainsi, le nombre de plasmocytes augmente avec la sévérité de la lésion. Cependant l'évolution d'un stade à un autre n'est pas une fatalité et on voit souvent des lésions non évolutives.

Le débat a été long pour déterminer si la maladie parodontale est continue, accentuant progressivement sa gravité, ou si elle procède par périodes intermittentes d'activité, suivies de périodes de latence. Certaines études du type de celle de Loe et coll. (1986), menée sur une population de travailleurs du thé du Sri Lanka, montrent que la pathologie apparaît à l'âge de 15 ans et croît en prévalence et sévérité pendant les sept années suivantes de façon graduelle et continue. D'autres études montrent que sur un certain nombre de poches installées pendant la période d'observation, la moitié présente des cycles d'approfondissement, puis des retours à la normale. De plus 83 % des sites ne présentent aucun changement pendant la période d'observation, 5,7 % deviennent significativement plus profonds et 11,5 % deviennent significativement moins profonds. Ce travail, confirmé depuis par d'autres études longitudinales, décrit donc une pathologie cyclique (Goodson et coll., 1982).

Un certain nombre de facteurs locaux interviennent dans l'étiologie des maladies parodontales, le rôle primaire et essentiel étant joué par les bactéries accumulées pendant la période d'initiation de la maladie. Cependant, chez le patient sain, des mécanismes de défense évitent l'initiation de la lésion.

L'apparition de la lésion initiale résulte de la combinaison de facteurs étiologiques locaux, du statut de l'hôte et de ses défenses et d'autres éléments tels que le statut socio-économique, le diabète, le vieillissement... (Kornman et Löe, 1993).

Bactéries et inflammation gingivale

La colonisation de l'épithélium gingival et l'invasion des tissus sous-jacents par les bactéries de la plaque (Russel, 1992) peuvent conduire à une réponse inflammatoire locale responsable de la destruction tissulaire (Kjeldsen et coll., 1993). Les bactéries ou certains de leurs constituants, en particulier les lipopolysaccharides (LPS), peuvent déclencher la réaction inflammatoire en activant directement les cellules épithéliales gingivales, activation qui va induire la synthèse de médiateurs de l'inflammation, en particulier les interleukines 6 et 8 (Henderson et coll., 1996; Shanley et coll., 1995). Ces dernières stimulent les cellules sous-jacentes, fibroblastes, cellules endothéliales, monocytes, neutrophiles et lymphocytes B et T qui, à leur tour, synthétisent leurs propres médiateurs de l'inflammation. Tout ceci conduit à un état inflammatoire local accompagné d'un phénomène de résorption osseuse après activation des ostéoclastes (Fig. 4-1) (Liebana et Castillo, 1994).

S'il y a rupture de la barrière épithéliale on aboutit à une activation directe des cellules sous-jacentes par les bactéries ou leurs constituants (Fig. 4-1) selon le même mécanisme général (Henderson et coll., 1996; Shanley et coll., 1995; Liebana et Castillo, 1994).

L'étude des mécanismes impliqués dans la physiopathologie de la réaction inflammatoire au niveau parodontal a fait l'objet de très nombreux travaux et a été abordée par la recherche de marqueurs spécifiques de l'inflammation, au niveau gingival (fluide, cellules et coupes tissulaires provenant de biopsies), au niveau bactérien par la recherche de(s) molécule(s) impliquée(s) dans le déclenchement et la propagation du processus inflammatoire.

L'hôte

De nombreux travaux ont été consacrés à la recherche et à la quantification des différents médiateurs de l'inflammation au niveau des fluides biologiques (salive, fluide gingival, sérum) ou au niveau cellulaire, en relation avec la gravité de l'atteinte parodontale. Des marqueurs tels l'IL-3, l'IL-4, l'IL-6, le TNF- α et les IgG₄ ont été mis en évidence dans le sérum, le PAF dans la

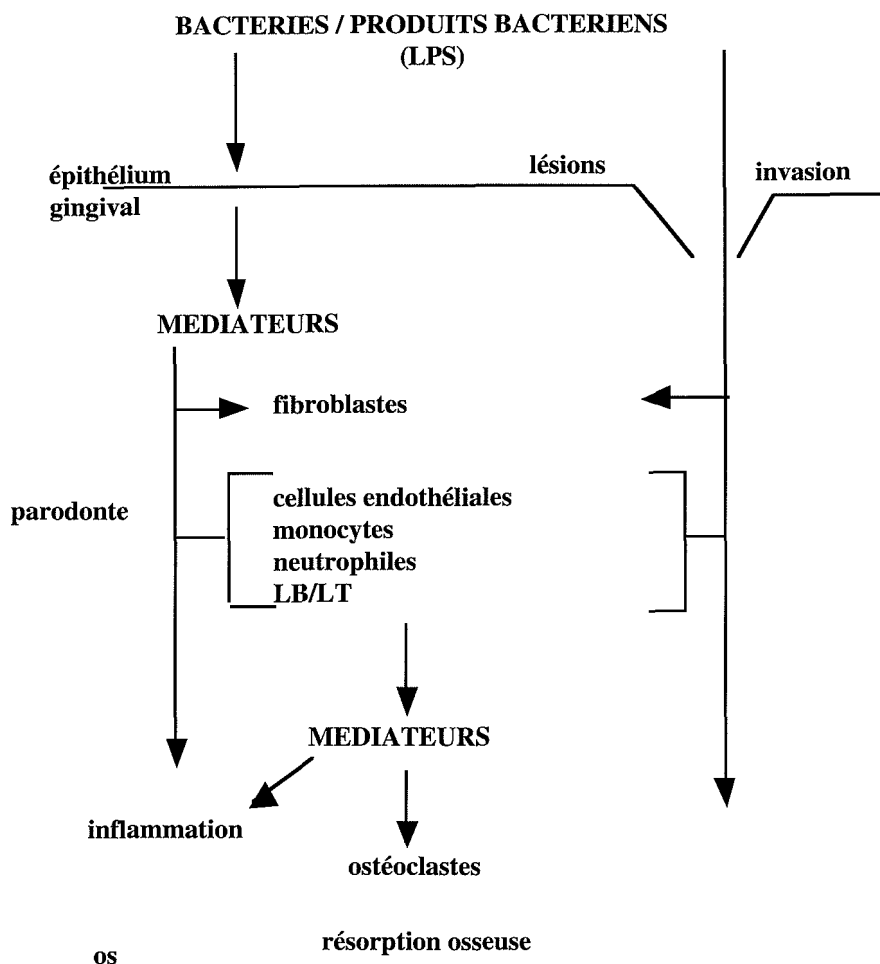


Fig. 4-1 Interaction bactéries/produits bactériens avec l'environnement gingival.

salive, l'IL-1 α et l'IL-6 dans le fluide gingival de malades (Yamamoto et coll., 1994; Garito et coll., 1995; Offenbacher et coll., 1993; Matsuo et coll., 1994). Mais aucune de ces études n'a permis d'établir une corrélation entre degré d'inflammation/degré de gravité des lésions parodontales et taux de marqueurs inflammatoires dans les trois types de fluides.

Au niveau cellulaire, ces études ont été réalisées sur coupes ou sur cellules isolées provenant de tissus gingivaux enflammés. Les très nombreux résultats démontrent que tous les types de cellules sont susceptibles de synthétiser et d'excréter un grand nombre de cytokines (Tableau 4-1) (Reinhardt et coll., 1993; Fujihashi et coll., 1993; Ebersole et coll., 1993; Irwin et coll., 1994; Shapira et coll., 1994; Takahashi et coll., 1994).

Tableau 4-1 Cytokines produites par les différentes cellules de la gencive inflammée

Cellules	Cytokines
épithéliales	TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TGF- β
monocytes	TNF- α , MCP1, IL-1 α et β , IL-6, IL-8, IL-1 ra?
fibroblastes	MCP1, IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8, PGE ₂
endothéliales	MCP1, IL-6, IL-1, G-CSF, GM-CSF,
neutrophiles	IL-1 β , IL-1 α , TNF- α
LB	IL-6, IL-1
LT	IL-2, IL-4, IL-6
LT α B	IL-6, IFN- γ , TNF- α , TGF- β 1

Bactéries

Les principales bactéries impliquées dans la maladie parodontale, telles *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* et *Fuseum nucleatum*, sont susceptibles de stimuler *in vitro* les monocytes sanguins et gingivaux. Cette activation conduit à la synthèse et à l'excrétion des principales cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-1 β et IL-6).

Ces mêmes bactéries sont également susceptibles de sécréter diverses protéines (toxines, enzymes...) capables d'agir directement sur les cellules environnantes. Ainsi, ces produits de sécrétion bactérienne, grâce à leur activité toxique, enzymatique, immunomodulatrice ou anti-phagocytaire, contribuent à la destruction tissulaire environnante et à la pérennisation de la réaction inflammatoire (Matsushita et coll. 1994; 1995).

De plus, certains constituants libérés après lyse bactérienne provoquent la synthèse de cytokines inflammatoires par les monocytes, les cellules endothéliales et les fibroblastes au niveau du tissu gingival. Ils peuvent aussi se comporter comme des chimioattractants des neutrophiles et sont alors impliqués dans l'induction de la synthèse de molécules d'adhérence à la surface des neutrophiles, en particulier les intégrines, favorisant ainsi l'afflux au niveau local de neutrophiles sanguins qui participent à la réaction inflammatoire par la libération de médiateurs (élastase, cathepsine G, protéase 3) et des radicaux libres.

Un des principaux constituants bactériens impliqués dans la réaction inflammatoire est le lipopolysaccharide (LPS) de la membrane externe des bactéries à Gram⁻. L'action du LPS de diverses bactéries intervenant dans les maladies parodontales a été testée *in vitro* sur les polynucléaires neutrophiles, les monocytes et les fibroblastes par des tests d'activation cellulaire classiques. Les résultats obtenus démontrent l'implication de ces

LPS dans le processus inflammatoire par leur aptitude à stimuler la synthèse des cytokines inflammatoires (Nichols et coll., 1991 ; Takada et coll., 1991 ; Shelburne et coll., 1993 ; Tamura et coll., 1992). Il faut toutefois noter que la plupart de ces expériences ont été réalisées *in vitro* en l'absence de sérum humain. Or, ce dernier contient deux facteurs très importants, le CD14 soluble (sCD14) et la LBP (*lipopolysaccharide binding protein*), protéines de la phase aiguë capables d'amplifier la synthèse des cytokines. Les deux molécules sont susceptibles de fixer le LPS et de l'orienter vers d'autres cellules. Ainsi, la LBP va servir de transporteur du LPS et permettre sa fixation, soit sur le sCD14 permettant sa fixation ultérieure sur toutes les cellules CD14 négatives (endothéliales, fibroblastes...), soit sur le CD14 membranaire des monocytes. La fixation du LPS sur le CD14 engendre alors une activation cellulaire et la synthèse de cytokines inflammatoires (Schumann et coll., 1994 ; Ulevitch et Tobias, 1995 ; Wurfel, 1995 ; Kusunoki et coll., 1995). Bien que ces deux molécules n'aient pas été mises en évidence au niveau des prélèvements gingivaux, on peut raisonnablement penser qu'elles puissent contribuer à l'accélération du processus inflammatoire local.

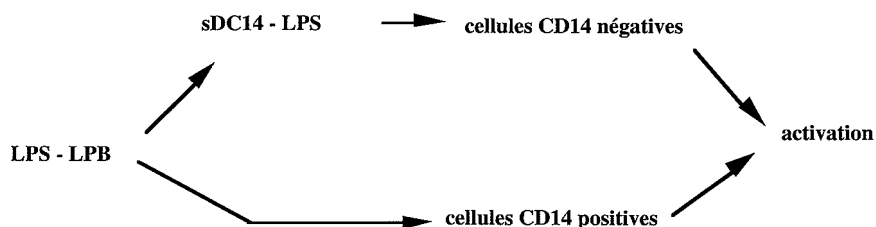


Fig. 4-2 Mécanismes d'activation cellulaire impliquant le LPS.

Bien que nos connaissances concernant le rôle joué par les différentes bactéries et leurs LPS, ainsi que les mécanismes impliqués dans l'initiation et le développement de la réaction inflammatoire locale conduisant aux maladies parodontales, aient beaucoup progressé au cours des dernières années, un grand nombre de questions reste en suspens.

- En dehors du LPS, quelle est la nature des autres constituants bactériens participant à l'activation cellulaire et quels sont les mécanismes mis en jeu ?
- Existe-t-il des marqueurs spécifiques fiables de l'inflammation gingivale à pouvoir diagnostique réel et permettant de prévoir l'évolution de la maladie ?
- Les molécules à pouvoir bactéricide (antibiotiques) sont-elles toujours utilisées à bon escient (nature, durée et administration du traitement) étant donné qu'en provoquant la lyse bactérienne elles conduisent à la libération de protéines intracytoplasmiques et de LPS dont l'activité inflammatoire semble être une des composantes majeures dans la réaction inflammatoire ?

- Enfin, l'emploi abusif d'antibiotiques peut provoquer l'apparition de bactéries buccales commensales résistantes (streptocoques oraux) dont certaines sont susceptibles de transférer leurs caractères de résistance à d'autres bactéries Gram⁺ et Gram⁻, dont les parodontogènes.

Colonisation des surfaces dentaires et des tissus parodontaux

Aspects infectieux des parodontopathies : remarques préliminaires

Le développement de pathologies inflammatoires du parodonte est-il l'effet d'une synergie bactérienne ou celui de l'expression opportuniste de caractères de virulence d'espèces spécifiques? La présence d'un consortium bactérien établi sur les surfaces dentaires au contact du parodonte, préalablement à l'apparition de la maladie et pendant son développement, est en tout cas une constante. Ce consortium s'établit en fonction d'interactions spécifiques hiérarchisées qui déterminent une répartition des espèces en colonisatrices primaires et secondaires. Cette hiérarchie résulte d'interactions spécifiques entre les espèces colonisatrices primaires et des ligands d'origine salivaire (GPS) présents sur les surfaces dentaires, d'une part, et d'interactions spécifiques des espèces colonisatrices secondaires avec les précédentes, d'autre part. Il est remarquable que les colonisatrices tardives, parmi lesquelles figurent les espèces dites parodonto-pathogènes, n'aient pas la capacité d'adhérer spécifiquement aux GPS et qu'elles s'agrègent aux espèces pionnières, souvent par l'intermédiaire de *Fusobacterium nucleatum*, espèce dont le répertoire de coagrégation intergénérique est large et dont l'incidence augmente en présence de parodontopathie (Kolenbrander et London, 1993).

Propriétés d'adhésion

Les surfaces dentaires et le tissu épithélial gingival ne sont pas les seuls substrats de colonisation pertinents. Au cours du développement de la maladie, d'autres substrats, comme les protéines matricielles, deviennent accessibles. Un certain nombre d'adhésines bactériennes sont impliquées dans des interactions directes avec les tissus de l'hôte, ou dans des phénomènes de coagrégation intergénériques et leurs récepteurs.

D'autres types d'adhésines méritent un commentaire particulier parce qu'elles peuvent être doublement impliquées dans la virulence des micro-organismes qui les expriment :

- **Protéases** : l'adhésion de *Porphyromonas gingivalis* au fibrinogène implique une cystéine-protéase ou porphypaïne (Simmons et coll., 1994). Le fibrinogène, dans sa forme polymérique, peut constituer un support de colonisation transitoire. L'activité lytique de la porphypaïne facilite probablement la dissémination du micro-organisme.
- **Hémagglutinines** : certaines des hémagglutinines de *P. gingivalis* ont une activité protéolytique, d'autres sont complexées avec des protéases (Hayashi et coll., 1992; Nishikata et Yoshimura, 1991; Progulske-Fox et coll., 1993). L'adhésion aux érythrocytes est sans doute un facteur de dissémination du micro-organisme.

L'activité des adhésines bactériennes, en fonction du récepteur ou du type cellulaire reconnu, peut induire des réponses biologiques différentes. Par exemple, les interactions entre cellules bactériennes et substrats naturellement présents dans la cavité buccale (ligands d'origine salivaire adsorbés sur les surfaces dentaires, cellules épithéliales), de même que les interactions inter- ou intra-espèces contribuent à l'établissement de communautés microbiennes sur ces substrats. Par ailleurs, les interactions de cellules bactériennes ou de certains de leurs constituants avec des récepteurs accessibles au niveau d'autres types cellulaires (monocytes, PMN), lors de l'effraction de l'épithélium, contribuent vraisemblablement à la stimulation des défenses de l'hôte, mais aussi à l'initiation et à la progression de l'inflammation.

Persistence

Les stratégies développées par les bactéries pour contourner les défenses de l'hôte ou interférer dans la fonction même d'effecteurs de l'immunité sont diverses.

- *Production de protéases à Ig.* *Porphyromonas* (*sp gingivalis*) et *Capnocytophaga* en particulier manifestent *in vitro* une activité protéasique vis-à-vis des IgA et IgG (Kilian, 1981). La dégradation des Ig peut entraîner une diminution significative de l'activité phagocytaire et de la neutralisation des toxines.
- *Production de protéases spécifiques de facteurs du complément.* *P. gingivalis* hydrolyse *in vitro* les facteurs C3, C4 et B du complément (Schenkein, 1988).
- *Production de protéases spécifiques d'inhibiteurs de protéases (α 1-anti-trypsin, α 2 macroglobuline).* Cette activité mise en évidence *in vitro* chez *P. gingivalis* (Carlsson et coll., 1984) faciliterait l'invasivité bactérienne.
- *Production de leucotoxines.* *A. actinomycetemcomitans* produit une leucotoxine protéique (LktA) qui lyse spécifiquement les PMN et les monocytes humains (Taichman, 1981).
- *Inhibition de l'activité des neutrophiles.* L'origine de l'altération fonctionnelle des PMN associée à certaines parodontopathies, en particulier aux parodontites juvéniles localisées (PJJ), demeure une question essentielle : est-elle constitutive? Est-elle due à l'effet de facteurs bactériens? L'inhibition du chimiotactisme des neutrophiles lors de PJJ est attribuée au rôle de cytokines (IL-1, TNF- α) dans la diminution de l'expression de récepteurs de chimioattractants, sans exclure un effet direct de facteurs bactériens.

Les LPS de *Fusobacterium nucleatum* comme ceux de *Escherichia coli* inhibent les fonctions chimiotactique et phagocytaire des PMN (Hatake et coll., 1996). D'autre part, l'activité bactéricide des neutrophiles vis-à-vis de *F. nucleatum* et *P. gingivalis* est inhibée par une adhésine protéique de *F. nucleatum*, sans que la protéine n'ait d'effet ni sur l'adhésion des micro-organismes sur les neutrophiles ni sur la viabilité de ces derniers.

Ces propriétés sont le fait de souches prélevées au niveau de sites actifs de parodontite. Toutes les souches ne sont pas également potentiellement virulentes.

- *Effet suppresseur sur la prolifération des lymphocytes T et B.* *Prevotella intermedia* inhibe la prolifération des cellules T et B en réponse à des mitogènes, en affectant les premiers stades de l'activation cellulaire (Shenker et coll., 1991).

Résistance au stress

Cette résistance dépend largement de l'expression de protéines de stress (*heat shock protein*, Hsp), qu'il s'agisse de stress oxydatif ou de conditions d'acidification du milieu. *P. gingivalis* de même que d'autres espèces associées au développement de parodontopathies, *Bacteroides forsythus*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *Capnocytophaga sp.*, *Treponema denticola*,

Actinomyces viscosus et *A. actinomycetemcomitans*, surexpriment en conditions de stress des protéines *Hsp60-like*, la surexpression de *Hsp70-like* étant restreinte à *Capnocytophaga* et *A. actinomycetemcomitans* (Vayssier et coll., 1994). Rappelons ici le rôle potentiel de ces Hsp, tant dans l'induction de pathologies autoimmunes que dans la survie de certaines espèces pathogènes invasives (*S. typhimurium*, *L. monocytogenes*) dans le macrophage.

Étiopathogénie des parodontites et immunité

Les parodontopathies sont des maladies infectieuses non transmissibles qui se traduisent cliniquement par une perte d'attache des tissus mous du parodonte et une résorption osseuse. Ces destructions tissulaires résultent de l'action directe d'un certain nombre de bactéries, en particulier Gram⁻, mais aussi des réactions de défense de l'hôte qu'elles suscitent. Contrairement aux maladies infectieuses habituellement dues à la pénétration dans l'organisme de micro-organismes pathogènes qui lui sont étrangers, les parodontopathies se caractérisent par l'accumulation anormale de germes, en général des symbiotes non pathogènes, faisant partie, pour la plupart, de la flore buccale. Ainsi, *stricto sensu*, c'est la perturbation de l'écosystème bactérien plutôt que la présence de pathogènes exogènes qui est responsable de ces affections. Le terme « maladie infectieuse » est en fait un abus de langage.

Les bactéries jouent un rôle étiologique majeur par l'intermédiaire des facteurs de virulence qu'elles libèrent et par la stimulation des réactions immunologique et inflammatoire de l'hôte engendrant la destruction des tissus parodontaux. Les facteurs de virulence dépendent à la fois du micro-organisme, de son écosystème et de l'hôte (état général, stress, pathologies diverses, facteurs génétiques et socio-économiques). L'immunité locale induite au niveau du parodonte fait intervenir des réactions classiques d'immunité spécifique et non spécifique, dont les conséquences immunopathologiques sont indissociables des effets antibactériens. L'équilibre des interactions entre les protagonistes conditionne les caractéristiques physiopathologiques et le pronostic de la parodontite.

Quelle est la conséquence de l'interaction hôte/bactérie sur le plan physiopathologique? Pourquoi certains individus développent-ils la maladie et d'autres non? Faut-il stimuler ou non l'immunité spécifique pour prévenir ou ralentir le développement de la maladie? La réponse à ces questions devrait permettre de mieux comprendre les mécanismes étiopathogéniques et d'envisager une immunointervention dans les thérapeutiques des parodontopathies.

Immunité spécifique dans les parodontopathies

Immunité humorale : effet protecteur des anticorps spécifiques

ÉTUDES CHEZ L'HOMME

Les anticorps spécifiques produits au cours de la réponse humorale sont-ils protecteurs? Parmi les différentes études rapportées chez l'homme, la plus complète décrit l'analyse, chez 36 patients atteints de parodontite sévère précoce et sur 36 sujets sains appariés par tranche d'âge et par sexe, du titre et de l'avidité des anticorps anti-*Porphyromonas gingivalis*, de leur répartition en sous-classes d'IgG et de leur fonction opsonisante (permettant de potentialiser la phagocytose). Cette étude montre :

- une augmentation significative du titre anticorps spécifiques, mais seulement pour un tiers des patients;
- une avidité des anticorps spécifiques significativement plus faible chez les patients;
- une répartition en sous-classes d'IgG normale chez les patients avec une majorité d'IgG₂; la seule différence étant l'absence d'IgG₁ et un taux plus faible d'IgG₃ chez les témoins. À noter que les IgG₁ et les IgG₃ ont une forte avidité pour l'antigène, fixent le complément et augmentent la phagocytose et la lyse des bactéries par les phagocytes; alors que les IgG₂ activent faiblement le complément et sont peu opsonisantes. Il n'y a donc pas d'arguments en faveur du rôle d'un déséquilibre en sous-classe d'IgG dans la parodontite, ni même en faveur d'un rôle protecteur de certaines sous-classes d'IgG.

Dans cette étude, on observe que le traitement par détartrage et surfaçage des surfaces radiculaires, qui provoque une bactériémie, induit (6 et 12 mois après le traitement) une augmentation du titre ainsi que de l'avidité des anticorps anti *P. gingivalis* chez les patients séropositifs avant les traitements. De plus, on note une séroconversion chez les patients qui étaient séronégatifs avant le traitement. Cependant, l'effet bénéfique du traitement sur l'amélioration clinique n'a pas été évalué dans cette étude.

MODÈLES ANIMAUX

Plusieurs modèles animaux ont été utilisés pour tester l'effet de l'immunisation avec des bactéries impliquées dans les maladies parodontales, sur la production d'anticorps spécifiques, le nombre de bactéries dans la flore buccale et la prévention de lésions parodontales induites par ligature des dents.

Le modèle *Macaque* montre que l'immunisation avec *Porphyromonas gingivalis* protège les animaux de la perte d'os alvéolaire.

Le modèle *singe-écureuil* montre que l'immunisation par *Prevotella intermedia* induit une augmentation d'un facteur 200 de la réponse

humorale IgG spécifique à cette bactérie, et une diminution du nombre de ces bactéries dans la flore buccale, prévenant donc la colonisation.

Le modèle de rat gnotobiotique montre que des rats axéniques monoinfectés par *P. gingivalis* présentent une destruction du parodonte. Dans ce modèle, l'immunisation par *P. gingivalis* entier inactivé par chauffage, ou par une protéine fibrillaire de *P. gingivalis*, protège de la perte osseuse, induit une augmentation des anticorps par rapport au titre obtenu chez les rats infectés mais non immunisés, en particulier de l'isotype IgA.

À noter que des épitopes T peptidiques immunodominants d'une protéine fibrillaire de *P. gingivalis* (6 peptides de 20 acides aminés) qui ont pu être définis à partir d'une séquence de 337 acides aminés, sont reconnus par les sérums de patients atteints de parodontite de l'adulte. Des cobayes immunisés par les fibrilles ou des peptides de *P. gingivalis* produisent également des IgG spécifiques.

Il est intéressant de noter que le taux des IgA dans le fluide gingival est plus élevé dans la gingivite que dans la parodontite, plus élevé dans les formes stables que dans les formes actives de la parodontite, et qu'il y a corrélation entre le taux d'IgA et les paramètres cliniques. Cela suggère que les IgA salivaires pourraient exercer un rôle protecteur via des mécanismes mettant en jeu l'inhibition de l'adhésion des bactéries à la plaque. Contrairement aux IgG, les IgA ne fixent pas le complément et sont donc capables d'exercer un effet protecteur en l'absence d'effets inflammatoires.

Immunité cellulaire : est-elle protectrice ou destructrice ?

La majorité des données bibliographiques concernant l'immunité cellulaire au cours de parodontopathies portent sur l'analyse phénotypique et fonctionnelle *in vitro* des lymphocytes T isolés du sang et très peu sur les cellules T de l'infiltrat lésionnel. Ces études sont toutes orientées vers la recherche d'une dysrégulation de la balance immunitaire. Généralement les analyses sont effectuées à partir du sang périphérique. En outre la plupart des études portent sur des tests fonctionnels de routine de l'immunocompétence T. On ne dispose d'aucune information sur la présence et la fonction de lymphocytes T spécifiques d'antigènes bactériens.

PHÉNOTYPE DES CELLULES T

Dans la gingivite comme dans la parodontite, l'infiltrat de cellules T est très similaire et comporte des cellules T activées-mémoires avec des rapports CD4/CD8 diminués ou inchangés. Dans la parodontite adulte, le rapport CD4/CD8 est diminué dans le sang et les lésions gingivales. La présence de macrophages et de cellules T activées dans les lésions gingivales évoque le développement de réactions d'hypersensibilité retardée.

FONCTION DES CELLULES T

Les analyses fonctionnelles *in vitro* montrent que les cellules T isolées de lésions de type parodontite sévère :

- ne prolifèrent pas en réponse à une stimulation par des extraits bactériens, ou à des mitogènes T activateurs non spécifiques;
- sont capables de produire de l'interleukine-2, hormis chez les patients dont le rapport CD4/CD8 est diminué;
- ne sont pas capables de proliférer en culture mixte lymphocytaire autologue (stimulation de cellules CD4⁺ par les cellules non T autologues). La réponse, variable selon les individus, peut être restaurée par le traitement.

Les apparentes « anomalies de régulation de l'immunité cellulaire » témoignent en fait du développement de réactions d'hypersensibilité retardée et de l'inflammation du parodonte, c'est-à-dire du développement d'une réponse immunitaire consécutive à la modification de l'écosystème bucco-dentaire. Les modifications des proportions relatives des différentes sous-populations lymphocytaires semblent associées au stade de la maladie (c'est-à-dire à l'évolution des poussées inflammatoires), mais ne permettent en aucun cas de penser que les parodontopathies résultent d'anomalies fonctionnelles du système immunitaire.

Place des lymphocytes T intraépithéliaux dans l'intégrité de l'épithélium de jonction de la muqueuse buccale

On trouve de façon constitutive dans les épithéliums de revêtement des muqueuses des lymphocytes T intercalés entre les cellules épithéliales. Le nombre de ces cellules augmente dans les infections parasitaires ainsi que dans les maladies inflammatoires touchant les muqueuses, en particulier le tube digestif.

Ces lymphocytes T intraépithéliaux sont majoritairement CD8⁺ et sont étroitement associés aux cellules épithéliales par l'intermédiaire de molécules d'adhésion. Ils sécrètent des cytokines pro-inflammatoires et sont cytotoxiques. Ils constituent la première ligne de défense contre les micro-organismes invasifs, et assureraient l'intégrité du revêtement épithélial en éliminant les cellules épithéliales altérées ou détruites par l'infection, le stress, etc.

Perspectives de recherche

Il apparaît important de vérifier si des mécanismes de défense anti-infectieuse, faisant intervenir l'activation de lymphocytes T intraépithéliaux, peuvent être aussi impliqués dans des réactions inflammatoires induites par rupture de tolérance vis-à-vis de bactéries commensales, par exemple à la suite d'un bouleversement de l'écosystème de la muqueuse buccale. Ainsi, compte tenu des

similitudes entre parodontopathies et maladies inflammatoires chroniques du tube digestif, ainsi que des similitudes histologiques et fonctionnelles entre la muqueuse gingivale et la muqueuse intestinale, il est essentiel d'étudier la contribution relative des cellules épithéliales et des cellules dendritiques dans la présentation d'antigènes et l'activation de lymphocytes T intraépithéliaux.

Dégradation de la matrice extracellulaire gingivale par les micro-organismes

Il est clair aujourd'hui que les micro-organismes jouent un rôle central dans la progression et le développement de la maladie parodontale. Cette maladie est polymicrobienne et implique le développement d'un nombre très limité d'espèces anaérobies dans la région sous-gingivale.

L'hypothèse de l'infection polymicrobienne à partir de germes résidents de la cavité buccale est actuellement retenue, mais d'autres hypothèses peuvent être formulées, en particulier celle d'une monoinfection à partir d'un germe opportuniste qui permettrait le développement d'autres germes. Un tel germe opportuniste n'a jamais été détecté.

Dans la majorité des cas, l'établissement d'une infection bactérienne du même type que celles qui se produisent dans le tractus respiratoire, alimentaire, urogénital ou dans la cavité buccale (associant tissus durs et tissus périphériques) requiert au moins cinq événements pour s'établir chez un sujet-hôte :

- 1 - une colonisation initiale de la surface tissulaire;
- 2 - une pénétration directe ou indirecte de cette surface;
- 3 - l'émergence et la multiplication de bactéries invasives dans l'environnement;
- 4 - la survie de la bactérie invasive dans une niche écologique échappant aux systèmes de défense de l'hôte;
- 5 - l'éventuelle destruction du tissu-hôte.

Dans cette partie, consacrée à la dégradation de la matrice extracellulaire conjonctive, seul ce dernier aspect sera étudié.

La matrice extracellulaire est constituée de quatre grandes familles de macromolécules : les collagènes, les élastines, les glycoprotéines de structure, les protéoglycannes. Il existe également divers types de lipides sur lesquels très peu d'études ont porté dans le cadre de ces pathologies. Au niveau du revêtement épithélial, les cellules sont de type conjonctif, avec les fibroblastes dont plusieurs phénotypes sont actuellement décrits. Parmi les cellules résidentes, il faut citer les cellules de l'immunité (lymphocytes), les cellules du type macrophage et polynucléaire. À ces cellules de l'hôte, il faut ajouter les bactéries de la plaque.

De nombreux facteurs de virulence des bactéries interviennent dans la dégradation de la matrice : ce sont les LPS et des enzymes. Mais on ne peut considérer que l'ensemble de ces facteurs de dégradation entraîne la dégradation de la matrice extracellulaire telle qu'elle est observée en clinique humaine, il existe donc d'autres facteurs, indépendants ou dépendants de la bactérie.

Bactéries

Activités biologiques des LPS

Elles ont été décrites précédemment (voir p. 117).

Activité enzymatique de bactéries pathogènes sur le parodonte

Les enzymes protéolytiques provenant de bactéries potentiellement pathogènes pour les tissus parodontaux sont nombreuses : hyaluronidases, héparinases, collagénases, chondroïtine-4-sulfatases, peptidases et aminopeptidases. Chacune de ces enzymes est capable de dégrader les macromolécules de l'hôte pour utiliser le carbone comme source d'énergie.

L'activité de protéolyse est largement dépendante du pH. Pour *Porphyrromonas gingivalis*, l'activité est maximale pour un pH compris entre 7,5 et 8. Pour d'autres micro-organismes, l'activité est maximale à pH 7. *In vivo* la présence de *Bacillus intermedius*, l'actuel *Prevotella intermedia*, doit être importante pour permettre l'émergence et la croissance de *P. gingivalis*. Dans ce contexte, Hamilton et coll. (1989) montrent que *Bacteroides intermedius* est capable d'élever le pH du milieu de culture en produisant de l'ammoniaque. Cette élévation du pH permet le développement de *Porphyrromonas gingivalis*. Tandis qu'il existe de nombreuses informations sur l'écologie de la cavité buccale et spécifiquement sur la microbiologie de la poche parodontale, il y a peu d'informations sur le rôle et la fonction des pathogènes dans la maladie parodontale. Les bactéries élaborent un nombre important d'enzymes hydrolytiques et protéolytiques *in vivo* (que nous connaissons bien *in vitro*) dont on ignore la contribution réelle dans la dégradation des tissus-hôtes. En revanche, les substances élaborées par les bactéries provoquent une protéolyse de protéines tissulaires nécessaires à l'intégrité du parodonte.

Activité protéolytique dans l'environnement parodontal

Dans la maladie parodontale, l'existence d'une poche fournit une niche écologique comportant différents étages d'oxygénation responsables de la sélection de germes. Les bactéries de la plaque supra-gingivale sont majoritairement des bactéries saccharolytiques et leur métabolisme est lié à

la présence de nombreux sucres susceptibles de fermenter dans la cavité buccale. Les bactéries présentes dans la partie sous-gingivale sont des bactéries principalement asaccharolytiques qui utilisent, pour la plupart, les acides aminés et des peptides comme source d'énergie.

La capacité des bactéries parodontales à élaborer des enzymes susceptibles de dégrader les composants du parodonte leur confère un avantage écologique sélectif car elles trouvent dans leur microenvironnement le carbone et les nitrates nécessaires à leur croissance.

COLLAGÉNASES

On sait que *Porphyromonas gingivalis* possède une activité collagénolytique importante, mais comment cette bactérie se situe-t-elle par rapport au développement de la pathologie parodontale, quel est son rôle dans la pathogénie, sont autant de questions non élucidées. Il n'a jamais été démontré que les collagénases de *P. gingivalis* ont une activité directe dans la dégradation du tissu. Les collagénases d'origine procaryote et eucaryote se différencient par leur site de coupure du collagène. Les collagénases issues de *P. gingivalis* sont vraisemblablement peu impliquées dans la dégradation des collagènes de type I mais, en fragmentant le collagène en petits peptides, elles fournissent une source d'acides aminés utiles à leur croissance ainsi qu'à celle d'autres pathogènes du parodonte. Récemment, il a été montré que *Actinobacillus actinomycetemcomitans* produit également une collagénase.

Les deux autres types majeurs d'activité enzymatique sont les pseudo-trypsines et les glycyprotéases.

ACTIVITÉ PSEUDO-TRYPSINE

Les enzymes responsables de cette activité appartiennent au groupe des thiolprotéases. Elles sont aussi actives contre certaines protéines natives telles que l'albumine sérique et la caséine.

ACTIVITÉ GLYCYLPROLYL PROTÉASE

Cette activité a été démontrée par plusieurs auteurs. Les enzymes appartiennent au groupe des sérines. Celles-ci faciliteraient le rôle des collagénases.

ACTIVITÉ CYSTÉINE-PROTÉASE

Il s'agit essentiellement de la gingivaïne et d'une cystéine protéinase arginine spécifique, dont les rôles concerneraient essentiellement l'hémostase.

AUTRES PROTÉASES

Pour mémoire, il existe quatre types de protéinases classées en fonction de leur métabolisme catalytique : sérine, métallo, aspartique (acide) ou thiol (cystéine). Les différentes souches de *Porphyromonas gingivalis* sont largement protéolytiques. Les différentes protéases doivent contribuer à la

virulence du germe en hydrolysant des protéines fournissant des acides aminés essentiels à la croissance des micro-organismes, à la neutralisation du système de défense de l'hôte; en activant les collagénases de l'hôte; en exposant les récepteurs cryptiques sur les cellules cibles; et, plus généralement, en médiant l'attachement aux érythrocytes et aux autres cellules. Les *Bacteroides* sont capables de produire des Ig protéases responsables d'une diminution à la fois de la phagocytose, de la lyse bactérienne provoquée par le complément et de la neutralisation des toxines. La dégradation des IgA doit jouer un rôle dans l'adhésion du germe aux cellules-hôtes. Par exemple, *Capnocytophaga* est également susceptible, dans certaines conditions, d'élaborer des IgA et des IgG protéases.

La dégradation de plusieurs de ces protéines doit être directement dépendante de la virulence des bactéries. Outre les protéases, ces bactéries produisent des hydrolases. Plusieurs laboratoires ont étudié les protéases et hydrolases, mais les travaux sont difficiles à analyser du fait de l'utilisation de souches différentes, de différents milieux et de différentes origines. Il semble cependant que la sécrétion des protéases varie selon la phase de croissance des bactéries étudiées.

Localisation des protéases

Les différentes fractions de *P. gingivalis* (extraits cellulaires, fluide de culture, enveloppe cellulaire et vésicules) montrent toutes une activité protéolytique. Cette activité est principalement associée à l'enveloppe cellulaire, mais serait aussi liée à la présence de vésicules élaborées par la bactérie et donc liée à la membrane. Ces vésicules de petite taille (300 à 800 nm) seraient susceptibles d'envahir le tissu et de le dégrader. Néanmoins, les quantités d'enzymes mises en jeu restent minimales (Fujimura et coll., 1992). De nombreuses protéinases ont été identifiées, mais il est très probable que les différentes bandes observées sur les gels résultent d'autodigestions. Grenier et Mac Bride (1989) ont récemment utilisé une technique d'immunomarquage pour localiser spécifiquement une glycylpropyl protéinase sur les membranes de *Porphyromonas gingivalis*.

Rôle potentiel des protéases

RÔLE DANS L'ADHÉRENCE

Les composants moléculaires impliqués dans l'adhérence incluent les glucides, les protéines, les LPS et probablement les protéases. L'action des protéases a pour conséquences l'exposition d'un récepteur cryptique impliqué dans l'adhésion, ou la liaison directe au substrat via un site actif de l'enzyme.

Les protéases de *P. gingivalis* peuvent modifier les récepteurs tissulaires pour la bactérie et ainsi moduler l'adhérence bactérienne et la colonisation du tissu. Childs et Gibbons (1988) rapportent que le prétraitement de cultures

de cellules épithéliales et de complexes collagène-fibronectine avec de la trypsine augmente considérablement l'adhérence de *P. gingivalis* aux cellules. Des observations semblables sont notées avec *Treponema denticola* sur le fibroblaste. De plus, *P. gingivalis* fabrique des enzymes pseudo-trypsine; il est fortement probable que ceci se déroule également *in vivo*. Plusieurs groupes d'investigateurs ont aussi montré une implication directe de l'activité pseudo-trypsine liée à la membrane de *P. gingivalis*, dans l'adhérence aux cellules-hôtes, mais aussi aux autres bactéries de la cavité buccale. Sur la base d'expérimentation d'inhibition, Nishikata et coll. (1989) proposent que l'activité d'héماغglutination et de protéolyse de *P. gingivalis* soit due à la même molécule. Le même site de la molécule participe à la liaison aux érythrocytes et aux substrats.

RÔLE DANS LA NUTRITION BACTÉRIENNE

P. gingivalis, par exemple, a un métabolisme dépendant de petits peptides et d'acides aminés. La dégradation protéolytique de protéines-hôtes présente dans ce cas une grande importance dans la pathogénicité de *P. gingivalis*. L'hémine est un facteur clé pour la croissance de *P. gingivalis*. Chez l'hôte, ce composé est complexé avec des protéines, telles que l'hémopexine, l'haptoglobine et la transferrine. La capacité de *P. gingivalis* à dégrader ces composés a été démontrée. Shah et Gardia (1989) ont isolé une thiol-protéase qui a une activité hémolytique. La libération de l'hémoglobine des globules rouges et le fait que *P. gingivalis* puisse utiliser cette molécule sont des déterminants écologiques importants. D'autre part, les protéinases jouent un rôle biologique dans la croissance de *P. gingivalis*, par exemple, en clivant des petits peptides à partir des protéines présentes dans le milieu ou dans l'environnement parodontal.

DOMMAGES TISSULAIRES

Les protéases bactériennes peuvent-elles diffuser dans le tissu conjonctif et participer à la destruction matricielle? Le rôle principal de la membrane basale est de maintenir l'intégrité tissulaire, de fournir un support aux cellules épithéliales et de servir de filtre entre les tissus épithéliaux et conjonctifs. *P. gingivalis* peut adhérer à des membranes basales artificielles et les dégrader. De plus, les composants extraits de *P. gingivalis* dégradent le collagène IV et la fibronectine. Il est donc logique de spéculer sur l'intervention des protéases dans la capacité de *P. gingivalis* à envahir le tissu gingival. Cependant, aucune démonstration formelle n'a pu à ce jour mettre en évidence cette activité enzymatique d'origine bactérienne *in vivo*. De même *P. gingivalis* est susceptible de détacher les cellules épithéliales de lignées établies, par l'action des protéases libérées, sans toutefois que ce mécanisme soit formellement démontré. Il est actuellement hautement probable que *P. gingivalis* et d'autres pathogènes déclenchent et perturbent les réactions inflammatoires dans la gencive, éventuellement en augmentant les protéinases matricielles, et en particulier les collagénases.

Facteurs de virulence des pathogènes parodontaux

Les facteurs de virulence propres aux bactéries ont été souvent analysés en culture, donc dans des conditions *in vitro*. Il est difficile d'évaluer le rôle de ces facteurs *in vivo* et d'y relier la réponse inflammatoire observée en clinique parodontale. Très peu d'informations sont aujourd'hui disponibles sur les effets *in vivo* des pathogènes du parodonte. Par exemple, les vésicules extra-membranaires observées en culture existent-elles réellement *in vivo*? Sont-elles identiques dans les deux cas? Les différents phénotypes bactériens présents *in vivo* sont peu connus. Les différences d'une croissance *in vivo* portent sur la modification de la rigidité et d'épaisseur de la paroi bactérienne. De plus, les facteurs de virulence propres aux bactéries *in vitro* doivent être modulés par les facteurs dépendant de l'hôte. Des études supplémentaires prenant en compte les interrelations hôte-parasite, en particulier les réponses des cellules parodontales aux pathogènes parodontaux et les modifications des pathogènes quand ils sont mis au contact des cellules parodontales, doivent être entreprises.

Activités biologiques des peptidoglycannes

Bramanti et Holt (1984) ont montré que les peptidoglycannes isolés de pathogènes du parodonte agissent comme facteurs de virulence. Ils montrent en particulier leur capacité à activer des enzymes de macrophages murins. Chaque peptidoglycanne produit une réponse dose-dépendante de PGE_2 avec *A. viscosus* et *B. capillus*. Ces peptidoglycannes isolés activent le complément, en particulier la voie alterne.

Bien que ces types d'activités de dégradation soient multiples, les bactéries à elles seules ne contribuent que très faiblement à la dégradation de la matrice extracellulaire du tissu hôte. Des enzymes ou des déséquilibres enzymes-inhibiteurs propres à l'hôte sont impliqués.

L'hôte

Collagénases matricielles et différentes protéases

Les protéases impliquées dans le remodelage protéolytique normal de la matrice extracellulaire sont essentiellement les métalloprotéases et leurs inhibiteurs, le plasminogène, les protéases lysosomales. Leur activité peut s'amplifier et jouer un rôle dans l'étiopathogénie de maladies parodontales.

Métalloprotéases (MMP) et inhibiteurs de métalloprotéases (TIMP)

Les MMP constituent une famille de 11 (voire plus) endopeptidases. Elles sont exprimées physiologiquement à un certain taux de base et sur-

exprimées pendant les processus de remodelage, réparation tissulaire, inflammation, invasion tumorale et métastase (Cawston, 1995). L'expression des MMP est largement contrôlée par les facteurs de croissance et les cytokines. L'IL-1, le TNF, le TGF- α , l'EGF, le FGF et le PDGF induisent la transcription des gènes des MMP (Birkedal-Hansen, 1993). Le TGF- β et l'IL-4 répriment cette étape. Parallèlement, les TIMP régulent l'activité biologique de ces MMP.

Depuis 1995, on connaît deux nouvelles MMP : la MMP13 ou collagénase 3 et la MMP14 ou membrane MMP (MT-MMP) dont le substrat serait la glycoélastinase A (Birkedal-Hansen, 1993). En effet, les MMP, quelles qu'elles soient, sont synthétisées dans le milieu extracellulaire sous forme de proenzyme. La MT-MMP serait nécessaire à l'activation de la gélastinase A. Pour les autres MMP, aucun activateur spécifique n'a été mis en évidence à ce jour.

Le rôle des MMP est de dégrader les différents collagènes, protéoglycannes, élastine, fibronectine, laminine, etc. Sous l'effet de stimulus (non démontré pour les LPS, membranes, vésicules des pathogènes parodontaux), leur niveau de sécrétion serait augmenté sans augmentation concomitante des TIMP. Dans le cadre de maladies parodontales, cet effet serait dû à l'augmentation de cytokines du type IL-1, TGF- α (non démontré formellement). Ingman (1994) a mis en évidence une augmentation des MMP8, MMP3 et MMP1 en corrélation avec la gravité de la maladie parodontale, tandis que Sorsa et coll. (1992) identifient une protéase de pathogènes parodontaux susceptibles d'activer MMP8 et MMP2.

À côté du rôle des MMP dans la régulation et la dégradation des éléments de la matrice extracellulaire, il faut citer leur rôle dans la réponse immunitaire. Il a été montré que les cellules T seraient susceptibles de synthétiser la MMP2 lors du contact avec les cellules épithéliales (molécule d'adhésion impliquée, VCAM-1). Gearing et coll. (1994) montrent que des inhibiteurs de synthèse de MMP bloquent le TNF- α . Les MMP seraient capables d'activer le précurseur du TNF- α . Les TIMP pourraient donc jouer aussi un rôle en tant que facteur de croissance.

À partir des données de la littérature, il est possible d'imaginer un schéma de la maladie parodontale où les micro-organismes induisent la maladie et où, en réponse, l'hôte réagit. « Les signaux émis par les micro-organismes sous forme de LPS ou d'antigènes donnent lieu à un infiltrat de cellules mononucléées dans le tissu conjonctif sous-jacent. Les macrophages et les lymphocytes recrutés libèrent des cytokines pro-inflammatoires et des facteurs de croissance, tels que l'IL-1b, le TNF- α et peut-être le TGF- α , activant la transcription des gènes de MMP des fibroblastes et des kératinocytes. Ils induisent une résorption osseuse. Les fibroblastes, kératinocytes, macrophages et les cellules endothéliales répondent aux produits cataboliques provenant de la régulation de l'expression des MMP. Les MMP libérées par la cellule sont activées et clivent ou fractionnent les constituants de la

matrice extracellulaire tandis que les ostéoclastes activés par les mêmes facteurs détruisent l'os. Malheureusement, de nombreuses étapes dans ce schéma ne sont pas complètement élucidées » (Birkedal-Hansen et coll., 1992).

Protéases lysosomales

Ce sont essentiellement les protéases des polynucléaires neutrophiles. Rappelons que l'afflux de PMN est conditionné par la libération de substances chimiotactiques sous l'influence de bactéries. La présence de bactéries au sein du tissu parodontal entraîne l'activation des plaquettes du sang et des mastocytes tissulaires, et de quatre ensembles de protéines sériques (système de coagulation, des kinines, de fibrinolyse et du complément). Ces cellules et ces protéines entraînent la libération de médiateurs qui peuvent être responsables de l'initiation de la maladie parodontale. Lors de cette réaction, il existe une augmentation constatée de la perméabilité vasculaire qui permet l'extravasation des protéines du complément, de la lactoferrine, de la transferrine.

Les substances attractives responsables de l'afflux des PMN, puis des monocytes, hors du système vasculaire vers le site d'infection, sont essentiellement les protéines du complément (C3a et C5a). Les cellules migrent à travers les jonctions intercellulaires des cellules endothéliales, après contact avec les récepteurs d'adhésion leucocytaire, et pénètrent le tissu conjonctif adjacent. Une fois sur le site, ces cellules phagocytaires ingèrent et détruisent les bactéries présentes. L'activité antibactérienne s'effectue selon deux mécanismes principaux : *bactéricidie oxydative* et *non oxydative*.

Pour le polynucléaire, la lyse bactérienne indépendante de l'oxygène dépend de substances comme la cathepsine G, la lactoferrine, le lysozyme, des protéases et de protéines cationiques qui augmentent la perméabilité de la bactérie. Les mécanismes de bactéricidie oxydative sont liés à la production de dérivés actifs de l'oxygène (anion superoxyde, peroxyde d'hydrogène, singulet d'oxygène et myéloperoxydase).

Parallèlement, les PMN actifs libèrent dans les tissus de nombreux produits (collagénase, élastase...) ou des dérivés oxygénés qui entretiennent la réaction inflammatoire. De même, sous l'influence des produits bactériens, les macrophages produisent d'autres médiateurs de l'inflammation tels que l'IL-1, le TNF (IL-6), provoquant une importante destruction tissulaire qui favorise la dissémination bactérienne.

Parmi les enzymes libérées par les PMN activés, citons l'élastase leucocytaire, la MMP8 ou PMN collagénase, décrites abondamment dans la littérature. L'élastase est une sérine protéase qui est stockée dans les grains azurophiles du PMN. L'élastase dégrade l'élastine et de nombreux autres composants, en particulier les collagènes et les protéoglycannes. L'élastase, associée à la cathepsine G et à la MMP8, tient une place importante dans

le renouvellement des tissus sains ou infectés. Sa libération excessive ou son inhibition inadéquate entraînent des dommages tissulaires (ex : emphysème pulmonaire, détresse respiratoire de l'adulte, arthrite rhumatoïde).

Dans les parodontites juvéniles, le taux d'élastase présent dans les tissus a été corrélé à la gravité de la maladie. Les travaux récents de Cox et coll. (1994), Sorsa (1992), Gustafsson (1992) et Flemmig (1994) tentent de montrer que le dosage de l'élastase dans le liquide du sillon gingivo-dentaire peut être utilisé pour distinguer la parodontite de la gingivite, ou distinguer la phase aiguë de la phase chronique dans la parodontite. L'activité de l'élastase des PMN a été aussi associée *in situ* avec l'inflammation parodontale ainsi qu'avec la profondeur des poches parodontale (Eley et coll., 1994).

Compte tenu de l'importance de l'élastase associée aux inhibiteurs $\alpha 1$ -protéase et $\alpha 2$ -macroglobuline, il devient très pertinent de doser l'élastase et les inhibiteurs de dégradation, et de mesurer leur activité. Il existe plusieurs formes latentes d'inhibiteurs des sérines protéases (Potempa et coll., 1994) : ce sont les inhibiteurs de l'activateur du plasminogène (PA), l'anti-thrombine III, l' $\alpha 1$ -anti-chymotrypsine et l'inhibiteur de l'élastase des neutrophiles. Il est donc possible de les utiliser avec des substrats spécifiques de synthèse, d'autant que les protéases leucocytaires et bactériennes peuvent être différenciées (Cox et coll., 1994).

PMN et *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis et les vésicules libérées *in vitro* sont cytotoxiques pour le PMN (Smalley, 1994). *P. gingivalis* déprime les fonctions d'adhérence, de phagocytoses, de chimiotaxie. De ce fait, *P. gingivalis* altère la fonction générale des PMN, mais ces résultats ne concernent que des situations *in vitro* (Wilton et coll., 1993).

Nutrition et étiopathogénie des maladies parodontales

Les types les plus courants de maladies parodontales sont des lésions inflammatoires déclenchées par des pathogènes de la plaque dentaire. Exposé aux agents infectieux ou inflammatoires, l'hôte répond non seulement par une réponse immune spécifique ou non, mais aussi par une suite bien caractérisée d'ajustements métaboliques (Klasing, 1988). Les stimulus inflammatoires issus de la plaque dentaire favorisent la libération de radicaux libres par les phagocytes, et déclenchent des changements métaboliques modulés par les puissants médiateurs solubles que sont les cytokines.

Les déficits dans la synthèse et les effets cellulaires de ces importants médiateurs limitent la phase aiguë de la réponse à l'infection, même dans un contexte de malnutrition modérée. Lors des malnutritions, il y a souvent une réduction très marquée de nutriments-clés, en particulier d'antioxydants (ascorbate, GSH...).

Depuis plusieurs dizaines d'années, on affirme que gingivites et parodontopathies sont, chez les enfants et les jeunes adultes, plus prévalentes et plus graves dans les communautés économiquement défavorisées. Pourtant, les parodontites les plus destructrices affectent une proportion relativement faible de la population générale africaine. Mais la forte prévalence de gingivites dans ces populations reste un piètre indicateur de la fréquence des parodontopathies (Prayitno et coll., 1993). Cela se confirme par le fait que, contrairement aux adultes, la prévalence de parodontite juvénile et de gingivite ulcéro-nécrotique aiguë est plus forte chez les sujets défavorisés. Dans les pays industrialisés occidentaux, la prévalence de parodontites juvéniles est 40 fois supérieure chez les Noirs comparée à celle des Caucasiens. Toutefois, l'hygiène insuffisante n'explique pas à elle seule la haute fréquence et la gravité des parodontites dans le tiers-monde (Johnson et coll., 1988).

Les enfants (5-10 ans) nigériens du village de Osegere ont un OHI-s (*oral hygien index*) de 3,2, un PIS (*perio index score*) de 2,42. Ce PIS est 2,5 fois supérieur à celui de la même ethnie (6-7 ans) avec un OHI-s comparable (2,74), mais ils vivent en zone urbaine et sont mieux nourris. Ces observations suggèrent qu'une malnutrition prolongée pourrait modifier la réponse des tissus parodontaux et gingivaux aux irritants locaux.

Une réduction en réserves de nutriments est associée à l'installation progressive de dommages aux muqueuses, une immunité affaiblie, une résistance diminuée à la colonisation et à l'invasion par les germes pathogènes (Chandra, 1991).

Malnutrition et écologie microbienne

Les anticorps et les autres facteurs protecteurs réduisent l'adhésion bactérienne et favorisent le maintien d'une balance écologique appropriée. De nombreuses études ont montré que le volume et les propriétés antibactériennes et physicochimiques de la salive sont affectés par la malnutrition et par la consistance physique des aliments consommés (Johansson et coll., 1992). Les humains malnutris présentent une réduction significative du contenu salivaire en IgA et α -amylase notamment (Agarwal, 1984), avec atrophie des cellules acineuses et désorganisation de l'appareil de production des protéines (glandes parotides et sous-mandibulaires). L'activité des glycoprotéines agglutinant les bactéries diminue au cours des malnutritions,

avec intensification de la formation de la plaque. Les anaérobies pourraient être favorisés par la carence protéino-calorique. L'arginase, la protéine la plus représentée dans les glandes salivaires, chute en cas de malnutrition, ce qui favorise la disponibilité en arginine libre dans la salive (Agarwal et coll., 1984). Or, de nombreuses bactéries orales utilisent justement la voie de l'arginine pour leur croissance.

Il est vraisemblable que la surreprésentation des anaérobies lors de maladies parodontales reflète un accroissement des stéroïdes salivaires, particulièrement les glucocorticoïdes qui sont un support nutritionnel pour *Prevotella intermedia*. Lors des malnutritions, la part des glucocorticoïdes libres augmente dans le plasma. Une corrélation linéaire existe entre le taux de cortisol libre sérique et salivaire ($r \geq 0,90$). Le cortisol libre du plasma diffuse dans les glandes salivaires où il est converti en cortisone par la 11β -hydroxystéroïde déshydrogénase. Le taux de diffusion est assez fort pour maintenir l'équilibre de concentration entre le cortisol libre (et cortisone) salivaire et la fraction cortisol libre sérique, indépendamment du débit salivaire. L'augmentation de l'activité « adrénocorticoïde » pourrait expliquer pourquoi une malnutrition (la diminution en ascorbate dans la glande surrénale favorise la synthèse de glucocorticoïdes) ou un stress psychosocial constituent un important facteur de risque gingivite ulcéro-nécrotique aiguë.

Malnutrition et phase de réponse aiguë

La phase de réponse aiguë est une réaction non spécifique, bénéfique, qui inclut la fièvre, un nombre augmenté de leucocytes, des modifications hormonales (augmentation de la sécrétion de corticotropine, glucocorticoïdes, catécholamines), et une altération du profil protéique hépatique :

- Augmentation ($\times 1000$) de CRP (*C-reactive protein*) : activation du complément, opsonisation, augmentation de l'agrégation plaquettaire;
- Augmentation ($\times 1000$) de SAA (*serum amyloid A*) : inhibe la flambée oxydative de l'inflammation;
- Augmentation ($\times 2-4$) de $\alpha 1$ -acid glycoprotein;
- Augmentation ($\times 2-4$) de $\alpha 1$ -AT ($\alpha 1$ -proteinase inhibitor) : 90 % du potentiel inhibiteur protéique total du plasma; l'élastase antigénique (élastase liée à $\alpha 1$ -AT) du fluide gingival est multipliée par 3 après trois semaines d'accumulation de plaque, alors que la concentration de $\alpha 1$ -AT est davantage augmentée. $\alpha 1$ -AT est particulièrement vulnérable à l'inactivation oxydative avec perte de la capacité inhibitrice d'élastase; cette perte peut être prévenue par un taux adéquat de vitamine C.
- Augmentation ($\times 2-4$) d'haptoglobine;
- Augmentation ($\times 2-4$) de fibrinogène;

- Augmentation (+ 50 %) de céruloplasmine (CP);
- Augmentation (+ 50 %) de composants du complément C3 et C4.

L' α 2-macroglobuline (α 2MG), avec son unique pont disulfure cyclique interne, interagit et capture virtuellement toutes les protéases, de l'hôte ou étrangères. Elle se comporte comme une *panprotease inhibitor*. Synthétisée par les monocytes, les fibroblastes, les macrophages et les hépatocytes, α 2-MG est une puissante protéine immunorégulatrice, puisqu'elle interagit, et parfois modifie les propriétés de nombreuses cytokines (IL-1 β , TGF- β 1 et TGF- β 2). α 2-MG diminue en cas de parodontites et très sensiblement (- 50 %) en cas de malnutrition, ce qui est aussi le cas de IL-1 et IL-6, stimulateurs des protéines de la réponse aiguë.

Nutrition et biologie des cytokines

Les facteurs nutritionnels agissent à deux niveaux : synthèse et libération des cytokines, action directe et indirecte des cytokines sur les tissus cibles.

Une alimentation pauvre en protéines ou/et en éléments traces (Zn, Cu, Mg) réduit la réponse protéique hépatique aux agents inflammatoires.

Malnutrition et fonction neutrophile

Une neutropénie secondaire peut être induite par malnutrition, infection et autres conditions, qui intensifie la gravité des infections bactériennes. Les désordres des neutrophiles comprennent la neutropénie cyclique, l'agranulocytose et la maladie de Chediak-Higashi.

Les leucocytes polynucléaires neutrophiles accumulent l'acide ascorbique sous une forme réduite selon un mécanisme actif (de 10 à 80 fois le taux plasmatique). La fonction de l'acide ascorbique au sein des LPN consiste à augmenter la chémotaxie, faciliter la destruction oxydative des micro-organismes, préserver l'intégrité neutrophile, et protéger le tissu hôte en agissant comme un neutralisant des produits bactériens. En cas de malnutrition, on note un déficit en anti-oxydants.

Autres aspects de malnutrition

D'autres formes de malnutrition entraînent des adaptations de la fonction endocrine. Toutes ces modifications induites par les malnutritions ont des répercussions sur le pronostic de l'inflammation parodontale.

L'ascorbate joue un rôle important dans la détoxification de l'histamine, elle-même augmentée dans le plasma lors de l'inflammation. Quand le taux

d'ascorbate chute ($< 0,7$ mg/100 ml), le taux sanguin d'histamine augmente, ce qui provoque une hyperhémie, augmente la perméabilité vasculaire et baisse la chémotaxie LPN.

Un certain nombre d'évidences suggère fortement que les sujets chroniquement mal nourris, comme les sujets VIH⁺ immunodéprimés, constituent un groupe à risque pour les maladies parodontales sévères. Les effets moléculaires et cellulaires des malnutritions démontrent clairement que tout déficit ou déséquilibre a la capacité d'influencer le gradient biologique et l'histoire naturelle des infections parodontales, particulièrement chez l'enfant et le jeune adulte. Le but essentiel d'une nutrition équilibrée dans un contexte de maladie parodontale est de fournir l'énergie adéquate et les nutriments essentiels nécessaires à la réparation, à la production des facteurs solubles (cytokines), à une fonction cellulaire optimum, et à la protection des tissus hôtes des effets destructeurs des radicaux oxygénés et des enzymes lysosomales. Mais tout cela n'aura qu'un effet limité si les stimulus inflammatoires issus de la plaque ne sont pas éliminés.

RÉFÉRENCES

- AGARWAL S. Biochemical changes in saliva of malnourished children. *Am J Clin Nutr* 1984 **39** : 181-184
- AGARWAL S, SUZUKI JB, RICCELLI AE. Role of cytokines in the modulation of neutrophil chemotaxis in localized juvenile periodontitis. *J Periodont Res* 1994 **29** : 127-137
- BIRKEDAL-HANSEN H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodont Res* 1993 **28** : 500-510
- BIRKEDAL-HANSEN H. Proteolytic remodeling of extracellular matrix. *Curr Opin Cell Biol* 1995 **7** : 728-735
- BIRKEDAL-HANSEN H, LIN H-Y, BIRKEDAL-HANSEN B, WINDSOR LJ, PIERSON MC. Degradation of collagen fibrils by live cells : role of expression and activation of procollagenase. *Matrix* 1992 **1** : 368-374
- BRAMANTI MR, HOLT SC. Isolation and characterization of the peptidoglycans from selected Gram-positive and Gram-negative periodontal pathogens. *Can J Microbiol* 1984 **31** : 154
- BRAMANTI M, HOLT SC. Effects of peptidoglycans from periodontal pathogens on selected biological activities of CD-1 murine peritoneal macrophages. *Can J Microbiol* 1985 **14** : 95
- CARLSSON J, HERRMANN BF, HÖFLING JF, SUNDQVIST GK. Degradation of the human proteinase inhibitors alpha-1-antitrypsin and alpha-2-macroglobulin by *Bacteroides gingivalis*. *Infect Immun* 1984 **43** : 644-8
- CAWSTON TE. Proteinases and inhibitors. *Br Med Bull* 1995 **51** : 385-401
- CHANDRA. 1990 Mc Collum Award lecture. Nutrition and immunity : lessons from the past and the new insights into the future. *J Clin Nutr* 1991 **53** : 1087-1101

- CLARK WB, LÖE H. Mechanisms of initiation and progression of periodontal disease. *Periodontol* 2000 1993 **2** : 72-82
- COX SW, GAZI MI, CLARK DT, ELEY BM. Elastase-like activities in gingival tissue, crevicular fluid and *Capnocytophaga sputigena*. *J Dent Res* 1994 **73** : 799
- DZINK JL, TANNER ACR, HAFFAJEE AD., SOCRANSKY SS. Gram negative species associated with active periodontal lesions. *J Clin Periodontol* 1985 **12** : 648-659
- EBERSOLE J, CAPELLI D. Gingival crevicular fluid antibody to *Actinobacillus actinomyces* *temcomitans* in periodontal disease. *Oral Microbiol Immun* 1994 **9** : 335-344
- EBERSOLE JL, SINGER RE, STEFFENSEN B, FILLOON T, Kornman KS. Inflammatory mediators and immunoglobulins in GCF from healthy, gingivitis and periodontitis sites. *J Periodont Res* 1993 **28** : 543-546
- ELEY BM, COX SW. GCF bacterial proteases before and after periodontal treatment. *J Dent Res* 1994 **73** : 799-805
- EVANS R, KLAUSEN B, SOJAR HT, BEDI GS, SFINTESCU C, RAMAMURTHY N, GOLUB LM, GENCO RJ. Immunization with *Porphyromonas (bacteriodes) gingivalis* fimbriae protects against periodontal destruction. *Infect Immun* 1992 **60** : 2926-2935
- FLEMMIG TF, MIYASAKI KT. Neutrophil lysosomal nonoxidative microbicidal proteins in early-onset periodontitis. *Oral Microbiol Immun* 1994 **9** : 272-277
- FUJIIHASHI K, KONO Y, BEAGLEY KW, YAMAMOTO M, MCGHEE JR, MESTECKY J, KİYONO H. Cytokines and periodontal disease : immunopathological role of interleukins for B-cell responses in chronic inflamed gingival tissues. *J Periodontol* 1993 **64** : 400-406
- FUJIMURA S, SHIBATA Y, NAKAMURA T. Comparative studies of three proteases of *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immun* 1992 **7** : 212-217
- GARITO ML, PRIHODA TJ, MCMANUS LM. Salivary PAF levels correlate with the severity of periodontal inflammation. *J Dent Res* 1995 **74** : 1048-1056
- GEARING AJH, BECKETT P, CHISTODOULOU M et al. Processing of tumour necrosis factor- α precursor by metalloproteinases. *Nature* 1994 **370** : 555-557
- GEMMEL E, SEYMOUR G. Modulation of immune responses to periodontal bacteria. *Curr Opin Periodontol* 1994 : 28-38
- GEMMELL E, YAMAZAKI K, KJELDSEN M, SEYMOUR G. Immunology of periodontal diseases. *Mucos Immunol Update (summer)* 1995 : 4-15
- GENCO RJ, ZAMBON JJ, CHRISTERSSON LA. Use and interpretation of microbiological assays in periodontal diseases. *Oral Microbiol Immunol* 1986 **1** : 73-79
- GOODSON JM. Present status of studies on the microbial etiology of periodontal diseases. In RJ Genco, SE Mergenhagen (eds) : *Host-Parasite Interactions in Periodontal Diseases*. Washington DC, American Society for Microbiology, pp. 1-12
- GOODSON JM, TANNER ACR, HAFFAJEE AD, SORNBERGER GC, SOCRANSKY SS. Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1982 **9** : 472-481
- GRENIER D, MCBRIDE BC. Surface location of a *Bacteroides gingivalis* glycylprolyl protease. *Infect Immun* 1989 **57** : 3265-3269
- GUSTAFSSON A, ASMAN B, BERGSTROM K, SÖDER PO. Granulocyte elastase in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1992 **19** : 535-540

- HAMILTON IR, MCKEE AS, BOWDEN GH. Growth and metabolic properties of *Bacteroides intermedius* in anaerobic continuous culture. *Oral Microbiol Immunol* 1989 **4** : 89-97
- HAYASHI H, NAGATA A, HINODE D, SATO M, NAKAMURA R. Survey of a receptor protein in human erythrocytes for hemagglutinin of *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol* 1992 **7** : 204-211
- HENDERSON B, POOLE S, WILSON M. Bacterial modulins : a novel class of virulence factors which cause host tissue pathology by inducing cytokine synthesis. *Microbiol Rev* 1996 **60** : 316-341
- HOLDMAN LV, MOORE WEC, CATO EP, BURMEISTER JA, PALCANIS KG, RANNEY RR. Distribution of *Capnocytophaga* in periodontal microfloras. *J Periodont Res* 1985 **20** : 475-48
- INGMAN T, SORSA T, MICHAELIS J, KONFFIMEN Y. Immunohistochemical study of neutrophil-and fibroblast-type collagenases and stromelysin-1 in adult periodontitis. *Scand J Dent Res* 1994 **102** : 342-349
- IRWIN CR, SCHOR SL, FERGUSON MWJ. Effects of cytokines on gingival fibroblasts in vitro are modulated by the extracellular matrix. *J Periodont Res* 1994 **29** : 309-317
- JOHANSSON. Salivary flow and dental caries in Indian children suffering from chronic malnutrition. *Caries Res* 1992 **26** : 38-43
- JOHNSON NW et al. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1988 **15** : 276-282
- KILIAN M. Degradation of immunoglobulins A2 and G by suspected principal periodontal pathogens. *Infect Immunol* 1981 **34** : 757
- KLASING. Nutritional aspects of leukocytic cytokines. *J Nutr* 1988 **118** : 1436-1446
- KJELDSEN M, HOLMSTRUP P, BENDZTEN K. Marginal periodontitis and cytokines : a review of the literature. *J Periodontol* 1993 **64** : 1013-1022
- KOLENBRANDER PE, LONDON J. Adhere today, here tomorrow : oral bacterial adherence. *J Bacteriol* 1993 **175** : 3247-3252
- KORNMAN KS, LÖE H. The role of local factors in the etiology of periodontal diseases. *Periodontol* 2000 1993 **2** : 83-97
- KUSUNOKI T, HAILMAN E, JUAN TSC, LICHENSTEIN HS, WRIGHT SD. Molecules from *Staphylococcus aureus* that bind CD14 and stimulate innate immune responses. *J Exp Med* 1995 **182** : 1673-1682
- LIEBANA J, CASTILLO A. Physiopathology of primary periodontitis associated with plaque. Microbial and host factors. A review. Part 2. *Austr Dent J* 1994 **39** : 310-315
- LÖE H, ANERUD A, BOYSEN H, SMITH M. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lanka labourer 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol* 1986 **13** : 431-440
- LUNDQVIST C, BARANOV V, TEGLUND S, HAMMARSTRÖM S, HAMMARSTRÖM ML. Cytokine profile and ultrastructure of intraepithelial $\gamma\delta$ T cells in chronically inflamed human gingiva suggest a cytotoxic effector function. *J Immunol* 1994 **153** : 2302-2312
- LUNDQVIST C, HAMMARSTRÖM ML. T-cell receptor $\gamma\delta$ -expressing intraepithelial lymphocytes are present in normal and chronically inflamed human gingiva. *Immunology* 1993 **79** : 38-45

- MANDELL RL, SOCRANSKY SS. A Selective medium for *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and the incidence of the organism in juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1981 **52** : 593-598
- MATSUO T, EBISU S, NAKANISHI T, YONEMURA K, HARADA Y, OKADA H. Interleukin-1 α and interleukin-1 β in periapical exudates of infected root canals : correlations with the clinical findings of the involved teeth. *J Endodontics* 1994 **20** : 432-435
- MATSUSHITA K, FUJIMAKI W, KATO H, UCHIYAMA T, IGARASHI H, OHKUNI H, NAGAOKA S, KAWAGOE M, KOTANI S, TAKADA H. Immunopathological activities of extracellular products of *Streptococcus mitis*, particularly a superantigenic fraction. *Infect Immun* 1995 **63** : 785-793
- MATSUSHITA K, NAGAOKA S, ARAKAKI R, KAWABATA Y, IKI K, KAWAGOE M, TAKADA H. Immunobiological activities of a 55-kilodalton cell surface protein of *Prevotella intermedia* ATCC 25611. *Infect Immun* 1994 **62** : 2459-2469
- MOONEY, K, MACFARLANE J, McDONALD M. Local and systemic antibody response to putative periodontopathogens in patients with chronic periodontitis : correlation with clinical indices. *Oral Microbiol Immunol* 1993 **8** : 65-68
- MOORE WEC. Microbiology of periodontal disease. *J Periodont Res* 1987 **22** : 335-341
- NICHOLS FC, PELUSO JF, TEMPRO PJ, GARRISON SW, PAYNE JB. Prostaglandin E release from human monocytes treated with lipopolysaccharides isolated from *Bacteroides intermedius* and *Salmonella typhimurium* : potentiation by gamma interferon. *Infect Immun* 1991 **59** : 398-406
- NISHIKATA M, YOSHIMURA F. Characterization of *Porphyromonas (bacteroides) gingivalis* hemagglutinin as a protease. *Biochem Biophys Res Commun* 1991 **178** : 336-342
- NISHIKATA M, YOSHIMURA F, NODASAKA Y. Possibility of *Bacteroides gingivalis* hemagglutinin possessing protease activity revealed by inhibition studies. *Microbiol Immun* 1989 **33** : 75-80
- OFFENBACHER S, COLLINS JG, HEASMAN PA. Diagnostic potential of host response mediators. *Adv Dent Res* 1993 **7** : 175-181
- OGAWA T. The potential protective immune responses to synthetic peptides containing conserved epitopes of *Porphyromonas gingivalis* fimbrial protein. *J Med Microbiol* 1994 **41** : 349-358
- PERSSON R, ENGEL D, WHITNEY C, DARVEAU R, WEINBERG A, BRUNSVOLD M, PAGE R. Immunization against *Porphyromonas gingivalis* inhibits progression of experimental periodontitis in non human primates. *Infect Immun* 1994 **62** : 1026-1031
- POTEPA J, KORZUS E, TRAVIS J. The serpin superfamily of proteinase inhibitors : structure, function, and regulation. *J Biol Chem* 1994 **269** : 15957-15960
- PRAYITNO SW et al. Does gingivitis lead to periodontitis in young adults? *Lancet* 1993 **342** : 471-472
- PROGULSKE-FOX A, RAO V, HAN N, LEPINE G, WHITLOCK J, LANTZ MM. Molecular characterization of hemagglutinin genes of periodontopathic bacteria. *J Periodont Res* 1993 **28** : 473-474
- REINHARDT RA, MASADA MP, KALDAHL WB, DUBOIS LM, KORNMAN KS, CHOI JI, KALKWARF KL, ALLISON AC. Gingival fluid IL-1 and IL-6 levels in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol* 1993 **20** : 225-231

- RUSSELL RRB. Bacteriology of periodontal disease. *Oral Maxillofac Surg Infect* 1992 **2** : 66-71
- SCHENKEIN HA. The effect of periodontal proteolytic *Bacteroides* species on proteins of the human complement system. *J Periodont Res* 1988 **23** : 187-192
- SCHUMANN RR, RIETSCHEL ET, LOPPNOW H. The role of CD14 and lipopolysaccharide-binding protein (LBP) in the activation of different cell types by endotoxin. *Med Microbiol Immunol* 1994 **183** : 279-297
- SEYMOUR GJ. Importance of the host response in the periodontium. *J Clin Periodontol* 1991 **18** : 421-426
- SHAH HN, GARDIA SE. Lysis of erythrocytes by the secreted cysteine proteinase of *Porphyromonas gingivalis* W83. *FEMS Microbiol Lett* 1989 **61** : 213-218
- SHANLEY TP, WARNER RL, WARD PA. The role of cytokines and adhesion molecules in the development of inflammatory injury. *Mol Med Today* 1995 **1** : 40-45
- SHELBURNE CE, SANDBERG GP, BINSFELD CA, WOLFF LF, CURRY RA. Monoclonal antibodies to lipopolysaccharide of four oral bacteria associated with periodontal disease. *J Periodont Res* 1993 **28** : 1-9
- SHENKER BJ, VITALE L, SLOTS J. Immunosuppressive effects of *Prevotella intermedia* on in vitro human lymphocyte activation. *Infect Immun* 1991 **59** : 4583-4589
- SIXOU M, LODTER JP. Étude de la flore sous-gingivale des implants ostéo-intégrés dans des situations d'échecs et de succès chez des patients édentés et partiellement édentés. *Journal de Parodontologie* 1992 **13** : 67-76
- SLOTS J, REYNOLDS HS, GENCO RJ. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease : a cross-sectional microbiological investigation. *Infect Immun* 1980 **29** : 1013-1020
- SLOTS J. Relationship between some subgingival bacteria and periodontal pocket depth and gain or loss of periodontal attachment after treatment of adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 1985 **12** : 540-552
- SLOTS J. Rapid identification of important periodontal microorganisms by cultivation. *Oral Microbiol Immun* 1986a **1** : 48-55.
- SLOTS J. Bacterial specificity in adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 1986b **13** : 912-917
- SMALLEY JW. Pathogenic mechanisms in periodontal disease. *Adv Dent Res* 1994 **8** : 320-328
- SOCRANSKY SS, TANNER ACR, HAFFAJEE AD, HILLMAN JD, GOODSON JM. Present status of studies on the microbial etiology of periodontal diseases. In RJ Genco, SE Mergenhagen (eds) : *Host-Parasite Interactions in Periodontal Diseases*. Washington D.C.; American Society for Microbiology, pp. 1-12.
- SORSA T, INGMAN T, SUOMALAINEN K et al. Identification of proteases from periodontopathogenic bacteria as activators of latent human neutrophil and fibroblast-type interstitial collagenases. *Infect Immun* 1992 **60** : 4491-4495
- TAICHMAN NS. Leukotoxicity of an extract from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* for human gingival polymorphonuclear leukocytes. *Inflammation* 1981 **5** : 1-12
- TAKADA H, MIHARA J, MORISAKI I, HAMADA S. Induction of interleukin-1 and -6 in human gingival fibroblast cultures stimulated with *Bacteroides* lipopolysaccharides. *Infect Immun* 1991 **59** : 295-301

- TAKAHASHI K, TAKASHIBA S, NAGAI A, TAKIGAWA M, MYOUKAI F, KURIHARA H, MURAYAMA Y. Assessment of interleukin-6 in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol* 1994 **65** : 147-153
- TAMURA M, TOKUDA M, NAGAOKA S, TAKADA H. Lipopolysaccharides of *Bacteroides intermedius* (*Prevotella intermedia* and *Bacteroides*). *Porphyromonas gingivalis* induce interleukin-8 gene expression in human gingival fibroblast cultures. *Infect Immun* 1992 **60** : 4932-4937
- ULEVITCH RJ, TOBIAS PS. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. *Annu Rev Immunol* 1995 **13** : 437-457
- VAYSSIER C, MAYRAND D, GRENIER D. Detection of stress proteins in *Porphyromonas gingivalis* and other oral bacteria by western immunoblotting analysis. *FEMS Microbiol Lett* 1994 **121** : 303-307
- WILTON JMA, HURST TJ, SCOTT EE. Inhibition of polymorphonuclear leucocyte phagocytosis by *Porphyromonas gingivalis* culture products in patients with adult periodontitis. *Arch Oral Biol* 1993 **38** : 285-289
- WURFEL MM, HAILMAN E, WRIGHT SD. Soluble CD14 acts as a shuttle in the neutralization of lipopolysaccharide (LPS) by LPS-binding protein and reconstituted high density lipoprotein. *J Exp Med* 1995 **181** : 1743-1754
- YAMAMOTO T, YONEDA K, UETA E, OSAKI T. Serum cytokines, interleukin-2 receptor, and soluble intercellular adhesion molecule-1 in oral disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994 **78** : 727-735
- YAMAZAKI K, NAKAJIMA T, HARA K. Immunohistological analysis of T cell functional subsets in chronic inflammatory periodontal disease. *Clin Exp Immunol* 1995 **99** : 384-391