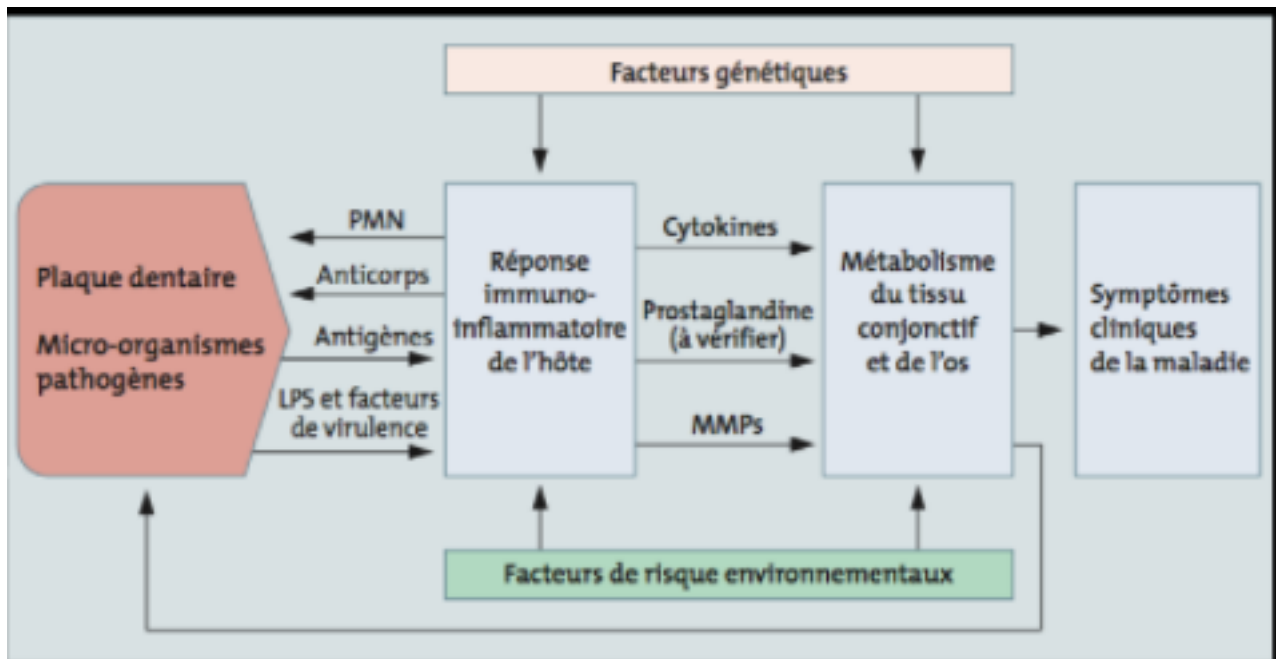


PLACE DES TESTS BIOLOGIQUES EN PARODONTOLOGIE

Elle est passée très rapidement sur ce chapitre. Les cultures bactériennes sont ce qu'il faut retenir. Le reste n'est pas utilisé en clinique, mais seulement dans les recherches cliniques.

INTRODUCTION

Etiopathogénie des parodontites:



D'après Page, 1997

I- Les tests bactériens

La réponse immunitaire du patient crée la destruction des tissus.

Des bactéries ont été identifiées comme étant hautement et moyennement parodontopathogènes. Ces bactéries s'organisent en complexes plus ou moins parodontopathogènes.

D'après Socransky, on peut décrire plusieurs complexes:

- complexe Rouge *Pg*, *Tf*, *Td*
 - Détecté par une plus grande fréquence dans les sites présentant une perte d'attache importante
 - Souvent associé avec le complexe orange mais non avec le complexe pourpre, jaune et vert
- Complexe orange *Fusobacterium spp*, *Prevotella spp*, *Campylobacter* et *P.m*, *E.n*, *S.c*
 - Souvent détecté avec une plus grande fréquence dans les sites avec une perte d'attache importante
- Complexes bleu, jaune et vert
 - Compatibles avec les sites sains
 - Bactéries bénéfiques

Les tests biologiques comprennent les tests bactériens, génétiques et ceux permettant d'évaluer les réponses de l'hôte.

1) Cultures bactériennes

- isolement et culture de toutes les bactéries présentes
- Prélèvement pointes de papier stériles
- Milieu de transport spécifique
- Délai bref entre la collecte et l'étude: 48h
- Ensemencement en milieux sélectifs (103) ou non (104-105)
- Identification bactérienne
- antibiogramme (sensible/intermédiaire/résistante)

Avantages:

- test de référence: gold standar
- Seule méthode pour détecter le plus grand nombre de pathogènes dans l'échantillon

Inconvénients:

- manque de reproductibilité
- Coût
- Délai: 2 à 3 semaines

Ce qui est compliqué c'est qu'il faut réussir à prélever les bactéries et à les garder vivantes.

2) Tests biologico-moléculaires

Dans ce test, les bactéries n'ont plus besoin d'être vivantes. Ce qui nous intéresse c'est leur ADN ou ARN.

- prélèvement non vital / facilité de transport
- Analyse ciblée sur quelques pathogènes
- Rapidité des résultats: 1 à 7 jours
- Pas d'antibiogramme

Sondes nucléotidiques (ADN ou ARN):

- coût
- semi-quantification

PCR:

- diminue le seuil de détection
- Haut niveau de sensibilité

PCR en Temps Réel:

- analyse quantitative
- Reproductibilité
- Automatisation de l'analyse

On peut faire une analyse multi-sites: on a alors une vision globale du microbiote du patient. On fait des prélèvements dans les poches supérieures à 4mm, on peut en réaliser jusqu'à 5.

On peut aussi faire une analyse site par site, ce qui permet d'évaluer la flore au niveau de chaque poche: localisation.



Protocole de prélèvement:

- élimination de la plaque et séchage
- Insertion d'une mèche de papier stérile au fond de la poche et retirer après 15 secondes.
- Transférer dans chaque tube respectif en notant la dent et la profondeur de poche la plus élevée

Photos des différents tests sur le diapo

3) Tests enzymatiques

- recherche d'une enzyme spécifique à une ou plusieurs bactéries (Tf, Pg, Td, Capnocytophaga)
- Enzyme à activité trypsine qui dégrade le substrat BANA
- > visualisation du produit de dégradation par réaction colorimétrique

Avantages:

- peu coûteux et rapide
- Pas de nécessité de viabilité

Inconvénients:

- seuil de détection élevé : 10^4 bactéries
- Pas de dépistage spécifique d'une bactérie mais de 4
- Pas d'antibiogramme
- Pas de détection chez les très jeunes sujets
- Ne reflète pas l'état clinique de la maladie parodontale, ni le résultats après traitement

4) Test immunologiques

- tests basés sur les réactions Ag-AC
 - Soit détection des Ag bactériens = de la bactérie
 - Soit détection des IgG ou IgM = de la réponse de l'hôte
- nombreux tests:
 - Microscopie à immunofluorescence
 - Immunoabsorption (test ELISA)
 - Réaction d'agglutination au latex
 - Cytométrie de flux
- pas besoin d'échantillon aseptique ni d'organismes viables

Avantages:

- identification de bactéries hautement spécifiques (AC monoclonaux) et détection de bactéries non cultivables
- Rapidité d'obtention des résultats

Inconvénients:

- on ne trouve que ce que l'on cherche
- Seuil de détection élevé
- Pas d'antibiogramme
- Très coûteuse pour l'immunofluorescence

5) Microscopie à fond noir et contraste de phase

- étude de la plaque bactérienne vitale immédiatement après prélèvement sans coloration
- Analyse: 9 morphot (cocci, bacilles, spirochètes, filaments, fusiformes...)
- Appréciation de la densité microbienne moyenne et la mobilité globale

Avantage:

- facile, rapide, non invasive et peu coûteuse

Inconvénients:

- aucune valeur diagnostique ou pronostique

Il s'agit plutôt d'un outil de motivation. Le praticien montre au microscope la plaque bactérienne au patient. Celui-ci voit les bactéries bouger.

II- Tests génétiques: Polymorphisme IL-1

- interleukine = protéine de l'inflammation
- Différentes formes de gènes pour l'interleukine IL-1
- Certains génotypes peuvent induire une sécrétion de IL-1, 2 à 4 fois supérieures
- Si génotype IL-1 positif: pas d'effet immédiat sur le parodonte si pas de tabac, bonne HBD et pas de diabète; sinon, renforce et accélère la parodontale

Inconvénients:

- sensibilité et spécificité limitées car IL-1 ubiquitaire
- Valeur prédictive moyenne
- Par un marqueur de parodontale agressive dans la population caucasienne et afro-américaine
- Autres polymorphisme d'autres cytokines (Ig-G2, PGE2)?

III- Réponse de l'hôte: marqueurs biologiques

Marqueurs biologiques:

- de l'inflammation: interleukines (analyse ELISA), TNFalpha, PGE2
- Enzymes dégradant les tissus: collagénases (MMP-8), élastases...
- Produits du catabolisme tissulaire
- Enzymes issues de la lyse cellulaire: lacticodéshydrogénase, aspartate aminotransférase
- Température sous-gingivale: PerioTemp (ABIODENT, USA)

=> Ces tests devraient compléter les analyses microbiologistes, mais il n'existe pas encore d'adaptation en kit utilisable au fauteuil. **Ce sont d'excellents outils de recherche.**

CONCLUSION

Meilleure compréhension de l'écologie microbienne sous gingivale et des interactions hôte-bactéries associées à la maladie parodontale.

L'utilisation des tests de réponse de l'hôte se limite pour l'instant à la recherche.

Le seul test génétique disponible évaluant le risque parodontal voit son intérêt remis en cause par de nombreux auteurs.

Les test bactériens sont les plus utilisés:

- microscopie déconseillée
- Tests enzymatiques sans intérêt face aux cultures et techniques moléculaires
- Tests immunologiques: si l'on sait quoi chercher
- Cultures bactériennes: méthodes de référence car non ciblée, permettant une identification et un antibiogramme
- PCR RT: nouveau Gold Standard car simple, sensible et spécifique

Indications des tests bactériens:

- en cas de mauvaise réponse au traitement objectivée à la réévaluation après thérapeutique parodontale initiale: le patient a un bon contrôle de plaque, le débridement a été conduit mais le résultat clinique (inflammation et poche) n'est pas en adéquation
- Pour évaluer / vérifier l'EFFICACITÉ de la thérapeutique (ex: avant implant, avant ODF)

Quel test choisir?

- meilleure approche: utilisation complémentaire de deux techniques
- Culture pour l'instauration d'une antibiothérapie adaptée
- PCR RT lors des phases de maintenance et de réévaluation
- Intérêt des tests associant les deux techniques (test CBL - anciennement Sunstar)