

L'écologie de la bouche

PAR Frédéric Duffau et Pierre C. Baehni

La diversité et l'intelligence collective des bactéries rendent leur univers passionnant. De la première observation des animalcules de la plaque dentaire par A. van Leeuwenhoek en 1683 jusqu'à la compréhension parcellaire des mécanismes de survie des biofilms bactériens aujourd'hui, plus de trois siècles se sont écoulés sans que les chercheurs ni les curieux néophytes ne se lassent d'observer, d'étudier et de tenter de comprendre l'écologie bactérienne. Pour ces passionnés, la microbiologie buccale est un milieu idéal tant par sa facilité d'accès que par la complexité des interactions qui s'y déploient. La diversité bactérienne alimente ainsi les fantasmes sur les biofilms bactériens. La flore compatible avec la santé du parodonte côtoie la flore pathogène sans que l'on ne comprenne encore précisément à quel moment l'une bascule vers l'autre. Et pendant ce temps, les traitements d'hier demeurent en grande partie ceux d'aujourd'hui, en attendant une révélation.

De la diversité bactérienne...

« Il y a plus d'animaux qui vivent dans les dépôts qui s'accumulent sur les dents dans la bouche de chacun qu'il n'y a d'êtres humains dans un royaume entier, en particulier chez ceux qui ne se lavent jamais les dents. » Telle était la conclusion qu'Antoni van Leeuwenhoek, drapier hollandais, avait remise à la prestigieuse Royal Society dans la désormais célèbre lettre du 17 septembre 1683. L'homme était curieux de tout et faisait défiler sous son microscope rudimentaire autant de matières et substances qu'il pouvait embrasser. Près de 300 lettres ont ainsi été adressées à la Royal Society. Après avoir observé sa propre plaque dentaire, ce pionnier de l'observation des bactéries, qu'il appelait les « animalcules », partit gratter les dents de sa seconde femme et de sa fille, d'un enfant qui passait par là, de nouveau de sa propre plaque dentaire après 3 jours sans brossage et, enfin, sur un homme âgé qui n'avait, de l'avis de l'auteur, probablement jamais brossé ses dents. Les croquis qu'il réalisa montraient déjà la diversité des espèces bactériennes tant en termes de morphologie que de capacité à se mouvoir plus ou moins rapidement¹

Fig. 1 . Plus qu'un précurseur, van Leeuwenhoek était sans aucun doute un extra-terrestre aux yeux de ces contemporains. En effet, ces découvertes, même si elles furent diffusées au-delà des frontières de son pays, n'éveillèrent pas, de toutes évidences, les cellules grises de la communauté scientifique avant le milieu du

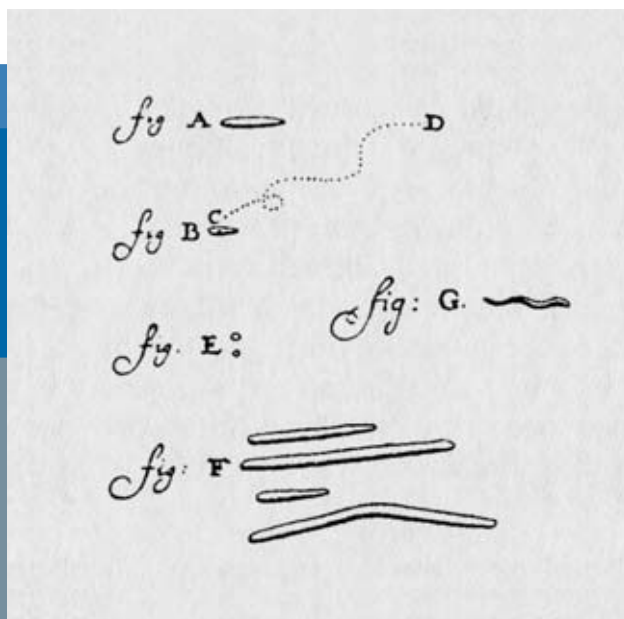


Fig. 1 Croquis réalisés par A. van Leeuwenhoek et adressés à la Royal Society en 1683. Il s'agit des toutes premières traces écrites d'une observation au microscope de bactéries issues de la plaque dentaire. Bâtonnet (A) ; bactérie mobile (B) ; cocci (E) ; filaments (F) ; spirochète (G) (*Collected Letters, vol. IV, Pl. X ; Gemeentelijke Archiefdienst*).



Fig. 2 Vue en microscopie à fond noir des bactéries présentes dans la plaque sous-gingivale d'un patient présentant une parodontite avancée. On y observe aisément de longs filaments (a) des bâtonnets (b), des cocci (c) et des spirochètes (d) (*Coll. P.C. Baehni*).

20^e siècle. Ce n'est qu'en 1965, après que quelques études épidémiologiques eurent montré une relation entre certaines maladies parodontales et la présence de plaque dentaire, que l'équipe de Løe observe expérimentalement une corrélation évidente entre les bactéries et l'inflammation gingivale chez l'homme². Dans la décennie qui suit, toujours sous la tutelle de Løe, il est montré sur des chiens beagle que certaines formes de parodontites trouvent également leur origine dans la présence de plaque dentaire³. Les moyens d'observation des bactéries, certes moins rudimentaires, n'offrent pas de possibilités beaucoup plus grandes que le microscope rudimentaire de van Leeuwenhoek. En 1965, les bactéries officiellement associées à la gingivite ou à certaines formes de parodontites sont de formes rondes (cocci), de bâtonnets, de filaments, de tire-bouchon (spirochètes) et montrent une capacité à se mouvoir par reptation ou à l'aide de flagelle **Fig. 2**. Il aura fallu attendre 282 années, soit l'équivalent de 5 générations, pour que la cause bactérienne soit enfin corrélée aux symptômes de patholo-

gies invalidantes qui conduisaient nos ancêtres à se déplacer la peur au ventre sur la place du village pour se faire littéralement arracher l'organe dentaire malade avec une tenaille.

Dès lors, la technologie se met au service de la science. Grâce aux travaux de Listgarten, la complexité de la plaque bactérienne se révèle quelque peu. Les observations au microscope électronique à transmission montrent une agrégation organisée de centaines de microorganismes qui varie autant en quantité qu'en diversité selon la maturation des dépôts⁴ et la forme clinique de la parodontite⁵. Une organisation spatiale commence à être décrite avec notamment, en périphérie des dépôts recueillis, des combinaisons spectaculaires de filaments et cocci ou de filaments et bâtonnets en forme d'épis de maïs. Les techniques de culture permettent alors d'offrir des noms à certaines de ces bactéries. De grandes familles se dessinent. Les bactéries à Gram+ d'un côté, les Gram- de l'autre. Les bactéries anaérobies contre les

aérobies, mais aussi les anaérobies facultatives (qui supportent la présence d'O₂), les capnophiles (qui préfèrent le CO₂). Le choix du milieu de culture permet également de discriminer certaines espèces **Fig. 3**. On obtint alors des descriptions de grandes familles, tels les bacilles Gram-, facultatifs, motiles ou cocci Gram+, anaérobies, etc⁶. Par la suite, les techniques sérologiques et d'immunofluorescence ont permis de préciser la taxonomie **Fig. 4a à 4e**. Les sondes ADN, ARN, puis les techniques de PCR (qui multiplient une séquence oligonucléotidique spécifique) ont mené ensuite à l'identification précise de nombreuses espèces. Avec le perfectionnement des techniques, quelques noms ont été modifiés. Les *Bacteroides gingivalis* et *intermedia* se virent rebaptisés respectivement *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella intermedia*^{7,8}. *Wolinella recta* devient *Campylobacter rectus*⁹. Ces dernières années, *Bacteroides forsythus* se mua en *Tannerella forsythensis*¹⁰ et patiente depuis quelque temps pour obtenir l'appellation plus harmonieuse de *Tannerella forsythia*¹¹. Enfin, il y a quelques mois, l'*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, star de la parodontite agressive chez le sujet jeune, se transforma en *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*¹².

Mais, plus qu'une farandole taxonomique, la connaissance du génome permet de poser un nom sur la majorité des espèces bactériennes en mesure de coloniser la cavité buccale. Ainsi, Paster identifie sur 31 sujets, avec des atteintes parodontales diverses, 347 espèces bactériennes au sein de la plaque sous-gingivale. Cette étude évalue également à 68 le nombre d'espèces de la plaque sous-gingivale non identifiées et à environ 500 le nombre d'espèces capables de coloniser la cavité buccale¹³. Le nombre est élevé, mais ce n'est rien par rapport au nombre de sous-espèces connues. On décrit 6 sérotypes distincts pour *A. actinomycetemcomitans* selon la constitution du LPS^{14,15}, ces sérotypes regroupant une trentaine de génotypes différents¹⁶. On distingue 6 sérotypes pour *P. gingivalis*¹⁷ englobant plus d'une centaine de génotypes connus¹⁸. Le *Fusobacterium nucleatum*, clé de la coagrégation bactérienne selon Kolenbrander¹⁹, réunit au moins 4 sous-espèces qui s'orientent vers des cohabitations variées²⁰. Pour ajouter du piquant à ce domaine de la recherche microbiologique, les sérotypes dans une même espèce sont corrélés à des symptomatologies parodontales différentes. Ainsi, *A. actinomyce-*

temcomitans sérotype b est plus souvent associé à la destruction parodontale²¹. Les *P. gingivalis* fimbriae AII et AIB sont généralement observés chez des patients atteints de parodontite²²⁻²⁴, tandis que *P. gingivalis* fimbriae AIV est plus fréquent chez les patients sains²⁵. Ces nouveaux outils de détection et d'identification des bactéries buccales se sont associés à d'autres technologies moléculaires. Les bactéries qui depuis une trentaine d'années sont le plus souvent associées à la

destruction parodontale ont fait l'objet de recherches plus poussées. Les chiffres parlent d'eux-mêmes : selon le moteur de recherche PubMed, 3 723 publications impliquent *P. gingivalis*, 2 444 pour *A. actinomycetemcomitans*, 624 pour *T. denticola*, 500 pour *T. forsythensis* ou encore 1 215 pour *P. intermedia* et 1 241 pour *F. nucleatum* (recherche effectuée le 01/06/2007 sans limite de temps). Leur virulence a été mise en évidence sur différents modèles ; certains mécanismes d'action ont pu être décortiqués. Ainsi, la capacité d'*A. actinomycetemcomitans* à détruire les polynucléaires neutrophiles

observée pour la première fois en 1979²⁶ fut approfondie. Les toxines impliquées purent être caractérisées^{27,28}. La virulence de *P. gingivalis* fit aussi l'objet de nombreux travaux. Parmi les facteurs de virulence sécrétés par cette bactérie, les gingipains sortent du lot tellement leur champ d'action semble large. Celles-ci sont capables d'activer ou d'inactiver certaines cytokines modulant la réaction inflammatoire, de cliver certains récepteurs de surface des phagocytes, de dégrader les composants



du complément, de modifier certains systèmes régulant l'équilibre osseux, de perturber l'hémostase ou encore l'équilibre des métalloprotéases²⁹. Autrement dit, cette bactérie possède un spectre de nuisance incroyable. Les connaissances accumulées sur ces espèces bactériennes les placent aujourd'hui aux premières loges dans le diagnostic et le traitement des maladies parodontales. À celles-ci, il convient d'ajouter de nouvelles venues, fraîchement identifiées, et jouant probablement un rôle dans la destruction parodontale. Paster pointe ainsi du doigt une vingtaine d'espèces inconnues auparavant ou rarement approchées¹³. Kumar en décrit une quinzaine supplémentaire en 2003³⁰, puis une autre quinzaine encore en 2005³¹. Cela porte à environ 50 le nombre d'espèces bactériennes identifiées et potentiellement pathogènes en parodontologie sur lesquelles la communauté scientifique parodontale ne s'est jamais penchée.

... à la diversité des biofilms

La formation de la plaque dentaire commence par l'adsorption de protéines salivaires à la surface dentaire. Cette adsorption survient dans la minute qui suit le brossage de la dent. Sur cette pellicule vont pouvoir se fixer les premières bactéries. Ces colonisateurs précoces vont alors se multiplier, recouvrir la surface disponible et sécréter une matrice composée de polysaccharides et de glycoprotéines. La formation de ce lit bactérien va dès lors offrir un moyen d'ancrage à d'autres espèces bactériennes. La maturation de la plaque dentaire est en route, et avec elle, sa diversité³².

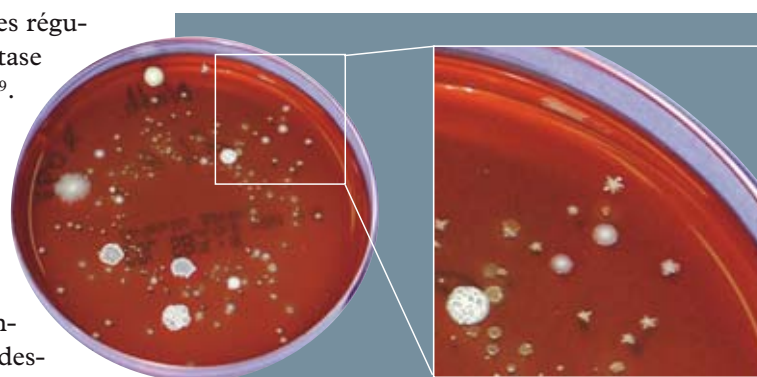


Fig. 3 Selon le milieu de culture utilisé, les bactéries forment des colonies. La couleur, le relief, la forme ou encore les zones d'hémolyse permettent de déterminer avec plus ou moins de précisions les espèces en présence (Coll. P.C. Baehni).

D'après Socransky, 150 espèces bactériennes différentes peuvent coloniser la bouche d'un être humain ; un sulcus sain peut compter près de 1 000 bactéries ; une poche profonde peut en contenir plus de 10^8 et une surface dentaire supra-gingivale peut être recouverte par 10^9 bactéries³³. Une telle foison de micro-organismes a besoin d'organisation pour survivre. Les images de plaque dentaire proposées dès les années 70 montrent des bactéries entassées les unes sur les autres^{4,5}, mais n'expliquent pas comment une telle complexité peut subsister. Les travaux *in vitro* portant sur les types de liaisons que peuvent proposer les espèces bactériennes entre elles ont permis d'imaginer une organisation bidimensionnelle théorique de la flore bactérienne intra-

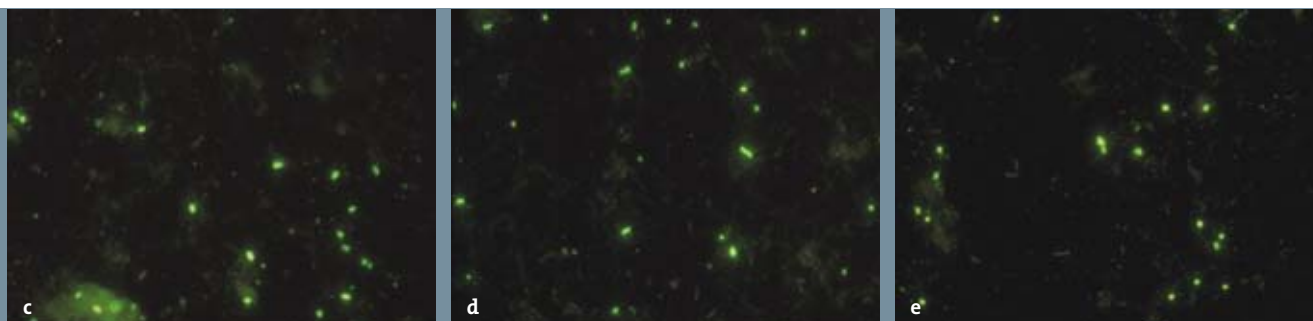


Fig. 4a et 4e Le microscope à fluorescence (a) permet d'observer des bactéries grâce à des combinaisons d'anticorps marqués et ciblés vers telle ou telle espèce bactérienne. Chaque puits sur le montage lame/lamelle (b) permet d'observer les bactéries spécifiquement marquées. Les **Fig. 4c, 4d et 4e** montrent la présence, en quantités moyennes, respectivement, de *C. rectus*, *P. micros* et *P. gingivalis* (Coll. F. Duffau).

buccale **Fig. 5**. Certaines des associations ainsi proposées ont pu être, en quelque sorte, confirmées chez l'homme en constatant que certaines espèces étaient effectivement présentes concomitamment dans les poches parodontales³⁴. La structure tridimensionnelle des biofilms, quant à elle, a été conceptualisée récemment. Le Centre d'ingénierie du biofilm de l'Université du Montana a largement diffusé des représentations graphiques montrant comment les groupes de bactéries cohabitent autour de canaux dans lesquels circulent les flux liquidiens permettant l'apport de nutriments³⁵ **Fig. 6**. L'observation de ces canaux *in vitro* aide véritablement à comprendre comment ces bactéries parviennent à survivre après maturation du biofilm.

Cependant, si les chercheurs parviennent désormais à expliquer la formation et l'organisation de la plaque supra-gingivale, il en est tout autrement de la plaque sous-gingivale. Si le biofilm supra-gingival parvient à se former grâce aux courants salivaires qui déposent les bactéries à la surface des dents, le biofilm sous-gingival doit, lui, se constituer contre le courant provoqué par le fluide gingival. On décrit tout de même une flore bactérienne adhérant à la surface radiculaire que l'on oppose à une flore « libre », en suspension dans les liquides qui se renouvellent dans la poche parodontale. La première pourrait présenter, quand bien même les

bactéries différencieraient, une organisation similaire à celle du biofilm supra-gingival, tandis que la seconde demeure mystérieuse. Ainsi, les connaissances du biofilm dans les poches parodontales se limitent-elles aujourd'hui à la détection des espèces bactériennes qui le composent, certaines étant aisément détectables au niveau coronaire de la poche et d'autres au niveau apical³⁶ **Fig. 7**. Cette répartition ne doit toutefois rien au hasard et se trouve être corrélée aux conditions physiques observées dans les poches parodontales. Comme la concentration en oxygène tend à décroître en direction corono-apical^{37,38}, les espèces observées en surface sont le plus souvent aérobies et les espèces colonisant le fond de la poche parodontale le plus souvent anaérobies. Depuis peu, le monde des biofilms buccaux s'est encore enrichi. Un milieu de colonisation a surpris par son originalité. Il avait été montré que certaines espèces bactériennes étaient capables de pénétrer, de survivre et de se multiplier au sein des cellules de l'organisme. Désormais, ce sont des communautés bactériennes, comprenant plusieurs espèces, que l'on a pu observer au sein du cytoplasme cellulaire^{39,40}. Parmi ces espèces, on compte naturellement les plus connues pour leur virulence, à savoir *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythensis* et *T. denticola*. Et ce n'est pas un exemplaire que l'on décompte, mais plus d'une vingtaine pour chaque espèce⁴¹.

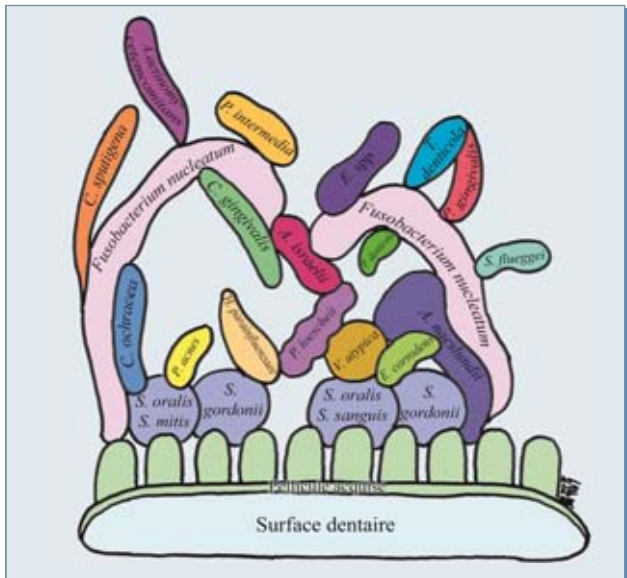


Fig. 5 Représentation des possibilités de coagrégations bactériennes dans la plaque dentaire humaine. Les colonisateurs précoces se lient à des récepteurs présents dans la pellicule acquise à la surface dentaire. Par la suite, d'autres micro-organismes peuvent s'agréger à ce lit bactérien (Dessin McWulph).

La flore pathogène

La présence de bactéries en bouche n'est pas, bien sûr, synonyme de pathologie. On distingue communément la flore compatible avec la santé du parodonte de la flore dite pathogène. La première est constituée de bactéries anaérobies, le plus souvent Gram+. Il s'agit d'*Actinomyces*, de certains *Streptocoques*, etc. Pour la flore pathogène, un grand nombre de belligérants sont aujourd'hui bien connus et ont déjà été abordés dans cet article. Une analyse proposée par l'équipe de Socransky a permis de faire le point sur les bactéries les plus connues. Les bactéries les plus souvent associées à la destruction parodontale ont été réunies sous la bannière du « complexe rouge ». Les bactéries associées à une destruction moins importante ont été incluses dans le « complexe orange ». Puis, selon leur capacité à être observées ensemble, et selon leur relation à la destruction parodontale, d'autres espèces ont été rattachées aux complexes bleu, violet, jaune et vert »⁴² **Fig. 7**. Il convient, cependant, de ne pas omettre qu'à ces pathogènes bien identifiés s'ajoute une liste croissante de bactéries qui

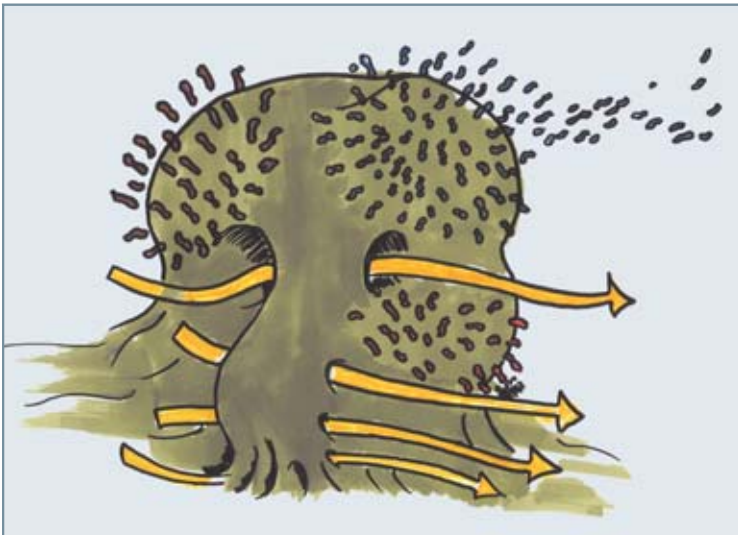


Fig. 6 Configuration tridimensionnelle d'un biofilm. Les bactéries se rassemblent en amas selon leurs affinités. Des canaux sinuent entre les regroupements bactériens et la surface colonisée, apportant les nutriments nécessaires à la survie des communautés⁴⁷ (Dessin McWulph).

semblent tout aussi prometteuses en termes de virulence, mais qui n'ont pour l'instant pas fait l'objet d'une seule étude plus poussée^{13,30,31} (voir plus haut).

De façon surprenante, si l'on sait différencier une flore compatible avec la santé du parodonte d'une flore pathogène, on ne connaît pratiquement rien de la flore présente au tout début de la destruction parodontale. Autrement dit, on ne connaît pas véritablement l'étiologie des parodontites. Il est assez délicat de déterminer qui de l'œuf ou de la poule était le premier. Les bactéries que nous observons dans les poches sont-elles présentes dès le début de la destruction parodontale ou bien se sont-elles développées secondairement, lorsque les conditions locales étaient réunies pour qu'elles puissent s'installer et exercer leur potentiel pathogène pour subsister ? Un travail de l'équipe de Tanner a tenté de répondre à cette question. Un peu plus d'une trentaine de patients, sans signe de destruction parodontale, ont été inclus dans le protocole d'étude. L'examen initial consiste notamment en des prélèvements bactériens qui sont analysés pour y détecter la présence approximativement quantifiée de 23 espèces bactériennes. Un an plus tard, les patients sont convoqués pour un nouvel examen. Quatre groupes sont alors constitués : les patients au parodonte sain, les patients qui ont une gingivite, ceux qui présentent des récessions tissulaires marginales et ceux qui montrent une destruction

parodontale interproximale que l'on assimile à une parodontite. Il ressort de cette analyse que les patients qui ont développé une parodontite ne possédaient pas les mêmes espèces bactériennes que les autres lors de l'examen initial. Par ailleurs, les bactéries communes à la majorité de ces patients (*Selenomonas noxia*, *T. forsythensis*, *C. rectus*) ne sont pas celles que l'on place systématiquement en tête des espèces les plus virulentes. De surcroît, *P. gingivalis* n'est détecté initialement chez aucun des patients qui ont développé une parodontite⁴³. Les mécanismes de la bascule d'une flore compatible avec la santé parodontale vers une flore pathogène sont encore flous. Par ailleurs, de nombreux facteurs sont impliqués, à commencer par ceux qui influencent la susceptibilité de l'hôte⁴⁴.

Conséquences sur le traitement des maladies buccales d'origine infectieuse

Les biofilms n'ont pas fini de nous surprendre. Les travaux scientifiques tendent à montrer que les protocoles réalisés *in vitro* se rapprochent doucement de la réalité, mais restent tout de même encore loin de ce que la nature est capable de réaliser. Sous forme de biofilm, les bactéries sont capables de révéler une forme d'intelligence collective. Ensemble, elles communiquent entre espèces similaires, mais également entre espèces différentes. Les messages consistent en des propositions de réorganisation, soit pour contraindre des groupes à migrer ailleurs en brisant les interactions qui les lient à la communauté, soit en créant des liens pour se protéger des agressions externes⁴⁵. Il en est ainsi de *Pseudomonas aeruginosa*, bactérie impliquée dans les infections associées aux fibroses kystiques, aux plaies de brûlure et à l'utilisation de cathéter. L'introduction d'un antibiotique dans le milieu de culture contenant la bactérie provoque la formation d'un biofilm rendant

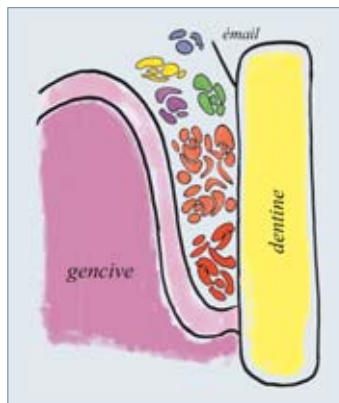


Fig. 7 Les bactéries colonisent les poches parodontales selon les facteurs locaux (tension en O₂, notamment). Les bactéries du complexe rouge (*P. gingivalis*, *T. forsythensis* et *T. denticola*) ont tendance à occuper la partie apicale de la poche. Les bactéries du complexe orange (*F. nucleatum* subspecies, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. micros*, *E. nodatum*, *C. rectus*, *C. showae*, *S. constellatus* et *C. gracilis*) sont fréquemment observées lorsque celles du complexe rouge sont présentes. Elles occupent alors une couche plus coronaire. Les bactéries des complexes vert, violet, jaune et bleu sont en général installées dans la partie coronaire de la poche parodontale^{36,42} (Dessin McWulph).

la colonie plus résistante^{46,47}. Plus proche du milieu buccal, il a été montré qu'un biofilm mature, composé exclusivement d'*A. actinomycetemcomitans*, résiste mieux à la présence de différents antibiotiques qu'un biofilm jeune⁴⁸. Cette adaptation des bactéries peut s'expliquer par une évolution naturelle liée au fait que les bactéries doivent fréquemment se défendre contre des antibiotiques produits par d'autres espèces.

Contre une agression antibiotique, que l'on pourrait qualifier de biologique, les bactéries sont donc capables de faire face en groupe. On pourrait supposer qu'une agression physique, avec des antiseptiques, serait plus efficace. Il se trouve que, dans de telles conditions, le biofilm révèle encore des ressources qu'une bactérie isolée n'a pas. Une analyse au microscope confocal de la confrontation d'un biofilm composé de 4 espèces bactériennes et de différents antiseptiques montre que la destruction cellulaire diffère selon l'antiseptique employé. Par ailleurs, quel que soit l'antiseptique, même si les couches superficielles périssent, les couches profondes du biofilm parviennent à survivre⁴⁹. De telles observations ont d'ailleurs été proposées, alors en tant qu'hypothèses, par l'équipe du Centre d'ingénierie du biofilm de l'Université du Montana (animation à l'adresse : <http://www.erc.montana.edu/Res-Lib99-SW/Movies/2005/05-M005.htm>)⁵⁰.

Conclusion

La flore buccale est complexe. Elle l'est autant par la multitude des espèces bactériennes potentiellement impliquées, que par la variété des combinaisons bactériennes envisageables. Si quelques bactéries ont pu être identifiées comme étant des pathogènes potentiels, il faut se garder de les considérer comme des responsables isolés des maladies parodontales. Eu égard à cette complexité, on ne peut réduire le diagnostic et le traitement parodontal à la seule présence de quelques espèces. Dans ces conditions, on ne peut prétendre choisir un antibiotique selon la détection de telle ou telle bactérie sous prétexte que celle-ci serait sensible à la molécule choisie. En revanche, on peut sélectionner un antibiotique parce que telle bactérie ou telle combinaison de bactéries détectées est représentative d'une flore connue pour être sensible à la molécule choisie.

Les arguments développés dans cet article montrent également à quel point tout moyen chimique ne peut être satisfaisant dans l'élimination du biofilm. La base de l'hygiène bucco-dentaire ne peut reposer aujourd'hui que sur la désorganisation mécanique de la plaque dentaire, par des moyens individuels et professionnels. Tout traitement chimique ne peut être considéré que comme un complément à cette thérapeutique mécanique. ■

BIBLIOGRAPHIE

1. Ford Bf. *The Leeuwenhoekiana of Clifford Dobell (1886-1949)*. Notes Rec R Soc Lond. 1986;41(1):95-105.
2. Løe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol*. 1965;36(3):177-187.
3. Lindhe J, Hamp SE, Løe H. Plaque induced periodontal disease in beagle dogs. A 4-year clinical, roentgenographical and histometrical study. *J Periodontol Res*. 1975;10(5):243-255.
4. Listgarten MA, Mayo HE, Tremblay R. Development of dental plaque on epoxy resin crowns in man. A light and electron microscopic study. *J Periodontol*. 1975;46(1):10-26.
5. Listgarten MA. Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study. *J Periodontol*. 1976;47(1):1-18.
6. Mouton C, Robert Jc. *Bactériologie bucco-dentaire. Collection Abrégés d'Odontologie et Stomatologie*. Paris : Masson, 1994, 184.
7. Shah HN, Collins DM. Proposal for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides endodontalis* in a new genus *Porphyromonas*. *Int J Syst Bacteriol*. 1988;38:128-131.
8. Shah HN, Collins DM. *Prevotella*, a new genus to include *Bacteroides melanogenicus* and related species formerly classified in the genus *Bacteroides*. *Int J Syst Bacteriol*. 1990;40(2):205-208.
9. Vandamme P, Falsen E, Rossau R, Hoste B, Segers P, Tytgat R, De Ley J. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. *Int J Syst Bacteriol*. 1991;41(1):88-103.
10. Sakamoto M, Suzuki M, Umeda M, Ishikawa I, Benno Y. Reclassification of *Bacteroides forsythus* (Tanner et al. 1986) as *Tannerella forsythensis* corrig., gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2002;52(Pt 3):841-849.
11. Maiden MF, Cohee P, Tanner AC. Proposal to conserve the adjectival form of the specific epithet in the reclassification of *Bacteroides forsythus* Tanner et al. 1986 to the genus *Tannerella* Sakamoto et al. 2002 as *Tannerella forsythia* corrig., gen. nov., comb. nov. Request for an Opinion. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2003;53(Pt 6):2111-2112.
12. Nørskov-Lauritsen N, Kilian M. Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus* comb. nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. nov., and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include *V* factor-dependent and *V* factor-independent isolates. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2006;56(Pt 9):2135-2146.
13. Paster Bf, Boches SK, Galvin JI, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol*. 2001;183(12):3770-3783.
14. Saarela M, Asikainen S, Alaluusua S, Pyhala L, Lai CH, Jousimies-Somer H. Frequency and stability of mono- or poly-infection by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes a, b, c, d or e. *Oral Microbiol Immunol*. 1992;7(5):277-279.

BIBLIOGRAPHIE

15. Kaplan JB, Perry MB, MacLean LL, Furgang D, Wilson ME, Fine DH. Structural and genetic analyses of O polysaccharide from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype f. *Infect Immun.* 2001;69(9):5375-5384.
16. Kaplan JB, Schreiner HC, Furgang D, Fine DH. Population structure and genetic diversity of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains isolated from localized juvenile periodontitis patients. *J Clin Microbiol.* 2002;40(4):1181-1187.
17. Amano A, Nakagawa I, Okahashi N, Hamada N. Variations of *Porphyromonas gingivalis* fimbriae in relation to microbial pathogenesis. *J Periodontol Res.* 2004;39(2):136-142.
18. Ménard C, Mouton C. Clonal diversity of the taxon *Porphyromonas gingivalis* assessed by random amplified polymorphic DNA fingerprinting. *Infect Immun.* 1995;63(7):2522-2531.
19. Kolenbrander PE, London J. Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence. *J Bacteriol.* 1993;175(11):3247-3252.
20. Roques CG, El Kaddouri S, Barthet P, Duffort JF, Arellano M. *Fusobacterium nucleatum* involvement in adult periodontitis and possible modification of strain classification. *J Periodontol.* 2000;71(7):1144-1150.
21. Asikainen S, Lai CH, Alaluusua S, Slots J. Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes in periodontal health and disease. *Oral Microbiol Immunol.* 1991;6(2):115-118.
22. Amano A, Nakagawa I, Kataoka K, Morisaki I, Hamada S. Distribution of *Porphyromonas gingivalis* strains with *fimA* genotypes in periodontitis patients. *J Clin Microbiol.* 1999;37(5):1426-1430.
23. Missailidis CG, Umeda JE, Ota-Tsuzuki C, Anzai D, Mayer MP. Distribution of *fimA* genotypes of *Porphyromonas gingivalis* in subjects with various periodontal conditions. *Oral Microbiol Immunol.* 2004;19(4):224-229.
24. Miura M, Hamachi T, Fujise O, Maeda K. The prevalence and pathogenic differences of *Porphyromonas gingivalis* *fimA* genotypes in patients with aggressive periodontitis. *J Periodontol Res.* 2005;40(2):147-152.
25. Amano A, Kuboniva M, Nakagawa I, Akiyama S, Morisaki I, Hamada S. Prevalence of specific genotypes of *Porphyromonas gingivalis* *fimA* and periodontal health status. *J Dent Res.* 2000;79(9):1664-1668.
26. Baehni P, Tsai CC, McArthur WP, Hammond BF, Taichman NS. Interaction of inflammatory cells and oral microorganisms. VIII. Detection of leukotoxic activity of a plaque-derived gram-negative microorganism. *Infect Immun.* 1979;24(1):233-243.
27. Tsai CC, McArthur WP, Baehni PC, Hammond BF, Taichman NS. Extraction and partial characterization of a leukotoxin from a plaque-derived Gram-negative microorganism. *Infect Immun.* 1979;25(1):427-439.
28. Fives-Taylor PM, Meyer DH, Mintz KB, Brissette C. Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Periodontol* 2000. 1999;20(1):136-167.
29. Imamura T. The role of gingipains in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol.* 2003;74(1):111-118.
30. Kumar PS, Griffen AL, Barton JA, Paster BJ, Moeschberger ML, Leys EJ. New bacterial species associated with chronic periodontitis. *J Dent Res.* 2003;82(5):338-344.
31. Kumar PS, Griffen AL, Moeschberger ML, Leys EJ. Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16S clonal analysis. *J Clin Microbiol.* 2005;43(8):3944-3955.
32. Marshall KC. Biofilms: an overview of bacterial adhesion, activity, and control at surfaces. *ASM News.* 1992;58(4):202-207.
33. Socransky SS, Haffajee AD. Microbiology of periodontal disease. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry, 4th edition.* Copenhagen: Munksgaard Blackwell, 2003, 106-149.
34. Socransky SS, Haffajee AD, Dzink JL, Hillman JD. Associations between microbial species in subgingival plaque samples. *Oral Microbiol Immunol.* 1988;3(1):1-7.
35. Stoodley P, de Beer D, Lewandowski Z. Liquid flow in biofilm systems. *Appl Environ Microbiol.* 1994;60(8):2711-2716.
36. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000. 2005;38(1):135-187.
37. Mettraux GR, Gusberti FA, Graf H. Oxygen tension (pO₂) in untreated human periodontal pockets. *J Periodontol.* 1984;55(9):516-521.
38. Tanaka M, Hanioka T, Takaya K, Shizukuishi S. Association of oxygen tension in human periodontal pockets with gingival inflammation. *J Periodontol.* 1998;69(10):1127-1130.
39. Rudney JD, Chen R, Sedgewick GJ. Intracellular *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in buccal epithelial cells collected from human subjects. *Infect Immun.* 2001;69(4):2700-2707.
40. Rudney JD, Chen R, Sedgewick GJ. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Tannerella forsythensis* are components of a polymicrobial intracellular flora within human buccal cells. *J Dent Res.* 2005;84(1):59-63.
41. Colombo AV, da Silva CM, Haffajee A, Colombo AP. Identification of intracellular oral species within human crevicular epithelial cells from subjects with chronic periodontitis by fluorescence in situ hybridization. *J Periodontol Res.* 2007;42(3):236-243.
42. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998;25(2):134-144.
43. Tanner A, Maiden MF, Macch P, Murray LL, Kent RL Jr. Microbiota of health, gingivitis, and initial periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1998;25(2):85-98.
44. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol* 2000. 1997;14(1):9-11.
45. Reading NC, Sperandio V. Quorum sensing: the many languages of bacteria. *FEMS Microbiol Lett.* 2006;254(1):1-11.
46. Hoffman LR, D'Argenio DA, MacCoss MJ, Zhang Z, Jones RA, Miller SI. Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. *Nature.* 2005;436(7054):1171-1175.
47. O'Toole GA, Stewart PS. Biofilms strike back. *Nat Biotechnol.* 2005;23(11):1378-1379.
48. Takahashi N, Ishihara K, Kato T, Okuda K. Susceptibility of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to six antibiotics decreases as biofilm matures. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59(1):59-65.
49. Takinami H. Effets d'agents antimicrobiens sur un modèle de biofilm in vitro. 2007 ; Thèse n° 654, Genève.
50. Chambliss JD, Hunt SM, Stewart PS. A three-dimensional computer model of four hypothetical mechanisms protecting biofilms from antimicrobials. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72(3):2005-2013

Frédéric Duffau

Division de Médecine Dentaire Préventive
 École de Médecine Dentaire
 Université de Genève
 Rue Barthélemy-Menn, 19
 CH 1205 Genève – Suisse
 et
 26 avenue Kléber
 75116 Paris
 Courriel : f.duffau@wanadoo.fr

Pierre C. Baehni

Division de Médecine Dentaire Préventive
 École de Médecine Dentaire
 Université de Genève
 Rue Barthélemy-Menn, 19
 CH 1205 Genève – Suisse
 Courriel : pierre.baehni@medecine.unige.ch