

# Quelle est la place de la microbiologie en parodontie clinique ?

Cet article décrit les différents moyens de diagnostic microbiologique mis à la disposition du clinicien en parodontie clinique quotidienne. Il en définit les avantages, les indications et les limites. Il montre que la microbiologie représente aujourd'hui un des éléments-clés à la fois du diagnostic étiologique, du bon déroulement du traitement actif, de la maintenance et de la prévention primaire des maladies parodontales.



**Dr Frédéric JOACHIM**

■ Parodontiste/  
Implantologiste, Lille  
■ fjoachim@nordnet.fr

Le clinicien peut légitimement se poser la question suivante : est-il vraiment utile - voire nécessaire - de connaître la nature et la composition de la flore buccale chez les patients en demande de traitement parodontal ?

Il semble que la réponse soit positive puisque la connaissance de la nature et de la composition de la flore conditionne le bon déroulement du diagnostic ainsi qu'un des critères de succès des traitements parodontaux.

Cet article tente de faire le point sur cette question. Il décrit également les moyens de diagnostic microbiologique disponibles aujourd'hui en parodontie clinique afin d'aider le praticien - spécialiste ou non - à prodiguer aux malades les soins les plus conformes aux dernières « données acquises de la science ».

## Rappels étiopathogéniques

Les concepts sur l'étiologie et la pathogénie des différentes maladies du parodonte sont « naturellement » en constante évolution avec des effets - majeurs ou mineurs - sur la manière de les diagnostiquer, les traiter et les prévenir en clinique quotidienne libérale.

S'il est toujours vrai que les agents initiateurs de la très grande majorité des maladies parodontales sont de na-

ture bactériologique (et probablement virale), il est apparu depuis les 10 à 15 dernières années que le devenir des tissus parodontaux profonds (et donc des organes dentaires) dépend essentiellement de la manière dont le système immunitaire répond à ces « agresseurs » (Grave, 2008) (Ford *et al.*, 2010).

On pourrait résumer en disant que le concept princeps du « modèle infectieux » proposé par l'équipe de S. Socransky et A. Haffajee (Socransky et Haffajee, 1992) s'enrichit aujourd'hui du « modèle inflammatoire » (Taylor, 2010) (Dujardin, Charon et Joachim, 2010).

## Les différentes flores buccales

*La cavité buccale n'est jamais stérile et ne doit jamais l'être (Stamatova et Meurman, 2009).*

Plus les recherches progressent, plus il apparaît que la flore buccale est extrêmement complexe. En effet, plus de 500 à 700 taxons adhérents à la surface des muqueuses et des structures dentaires, naturelles et artificielles, ont été identifiés à ce jour (Colombo *et al.*, 2009).

Du point de vue anatomique, on distingue deux types de flores présentes à la surface des dents : l'une située au-delà de la gencive marginale dite « plaque supra-gingivale » et l'autre située en deçà de la gencive marginale dite « plaque sous-gingivale » (Fig. 1). Ces deux plaques dentaires sont de nature très différente. En effet, si la plaque supra-gingivale est essentiellement composée de bactéries aérobies, à Gram positif et saccharolytiques (*i.e.* cariogènes), la plaque sous-gingivale est surtout composée de bactéries anaérobies, à Gram négatif et protéolytiques (qui dégradent les protéines, mais pas ou peu le saccharose). Il faut ajouter qu'au sein du sulcus ou de la poche, on distingue deux flores sous-gingivales : une flore « libre » non adhérente et une flore adhérente aux cellules épithéliales et à la surface dentaire (Fig. 2).

Au cours des années 80 et malgré des efforts méritoires, les microbiologistes ne sont pas parvenus à classer les maladies parodontales en fonction de la nature du biofilm bactérien (*i.e.* plaque dentaire). En effet, il semblerait que chacun de nos patients - sain ou malade



**Dr Jacques CHARON**

■ Parodontiste, Lille  
■ jcharon@nordnet.fr



**Fig. 1 :** les deux plaques dentaires supra et sous-gingivale : exemple de plaque supra-gingivale qui doit être éliminée avant d'effectuer un prélèvement de plaque sous-gingivale

**Fig. 2 :** la flore adhérente et libre : il existe une flore adhérente à la surface de la racine et une flore adhérente aux cellules de l'épithélium de la poche ; entre ces deux plaques, il existe une plaque dite « libre » (flèche) ; c'est celle qui est le plus souvent prélevée par le clinicien à l'aide d'une curette pour examen au microscope à contraste de phase ou d'un cône de papier analyse à l'aide de sondes nucléiques

- possède tout ou partie, à des quantités variables, du catalogue des bactéries identifiées à ce jour (Colombo *et al.*, 2009). Cependant, depuis la fin des années 90, l'équipe d'Harvard a proposé de grouper les bactéries qui composent le biofilm en ensembles - qualifiés de « Complexes » - de couleurs différentes selon leurs facteurs de virulence et l'ordre dans lequel elles apparaissent à la surface des dents (Socransky *et al.*, 1998).

On définit ainsi des complexes « Rouge », « Orange », « Vert », « Bleu » et « Violet » faisant ainsi la différence entre une flore compatible (Stamatova et Meurman, 2009) et une flore non compatible avec la santé parodontale (Fig. 3). Trois bactéries du complexe rouge ont mérité une attention particulière de la part des laboratoires de recherche. Il s'agit de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* et *Treponema denticola*. Ces bactéries possèdent de très nombreux facteurs de virulence de mieux en mieux décrits (Henderson, Ward et Ready, 2010) (Ishihara, 2010) (Jain et Darveau, 2010) (Shama, 2010) (Nakayama, 2010).

Certaines de ces bactéries possèdent des caractéristiques morphologiques et de motilité qui permettent facilement leur identification au microscope optique à contraste de phase (Listgarten, Lindhe et Hellden, 1992). D'autres, au contraire, ne peuvent pas être identifiées sur la base de ces critères et font donc appel à d'autres techniques (voir plus bas).

Au total, chez des patients à risque, il n'est pas souhaitable de retrouver l'une ou plusieurs de ces bactéries à la surface des organes dentaires (Armitage, 2010). Cependant, leur présence ne représente qu'une des conditions nécessaires pour déclencher des pertes d'attache (Charon, 2009).

## La réponse immunitaire

Lors d'une agression bactériologique, l'organisme met en place une réaction inflammatoire immédiate - dite innée - dont la mission est d'éliminer les agents pathogènes. Cette réaction inflammatoire physiologique représente une nécessité pour garder l'équilibre entre la flore et l'hôte.

Le polymorphonucléaire neutrophile représente l'acteur principal qui, à travers une série de fonctions chronologiquement définies (adhésion aux cellules endothéliales, diapédèse, chimiotaxie, phagocytose, dégranulation et bactéricidie), élimine les bactéries pathogènes en respectant la flore compatible avec la santé parodontale (Ryder, 2010) (Fig. 4). Chez les sujets sains, cette réaction inflammatoire est soumise à un strict contrôle grâce à des molécules dites « Résolvines » qui permettent sa cessation active et le retour à l'équilibre (Serhan, 2008) (Dujardin, Charon et Joachim, 2010). En revanche, si la réaction inflammatoire n'est pas contrôlée, elle devient alors « chronique » et se retourne contre l'hôte, ce qui peut conduire à des destructions tissulaires (*i.e.* pertes d'attache, avec ou sans formation de poches parodontales).

Une deuxième phase de la réaction inflammatoire met en jeu les monocytes (ou macrophages) et les lymphocytes



Fig. 3 : les complexes de Socransky : les bactéries des complexes bleu, vert et jaune sont compatibles avec la santé parodontale ; ce sont les plus nombreuses en pourcentage et en nombre absolu ; les bactéries des complexes orange et rouge sont celles qui ne sont pas compatibles avec la santé parodontale chez les patients à risque ; ce sont les moins nombreuses en pourcentage et en nombre absolu ; il s'agit principalement de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* et *Treponema denticola* ; d'après Socransky S.S., Haffajee A.D., Cugini M.A., Smith C. et Kent R.L. Microbial complexes in subgingival plaque ; J Clin Periodontol 25 : 134 - 144, 1998

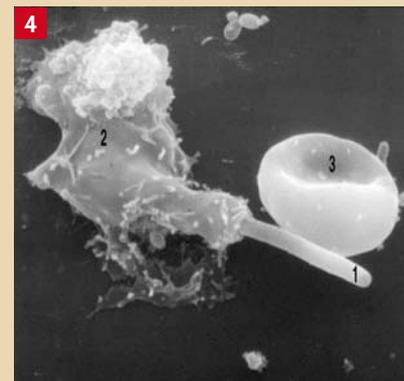


Fig. 4 : le polymorphonucléaire humain crêviculaire tel qu'il peut être observé à l'aide de la microscopie électronique à balayage ; on peut observer (1) une bactérie en cours de phagocytose (2) par un leucocyte à proximité (3) d'une hématie

(Kommman, 2008). Encore une fois, si ces deux cellules fonctionnent normalement, l'agresseur sera éliminé et la réaction cessera, toujours sous l'influence de résolvines. Si tel n'est pas le cas, la réaction inflammatoire devient chronique, des cytokines pro-inflammatoires (notamment les interleukines) sont produites en excès ce qui déséquilibre l'homéostasie et le métabolisme des tissus conjonctifs conduisant ainsi aux pertes d'attache plus ou moins sévères, plus ou moins généralisées (Grave, 2008) (Dujardin, Charon et Joachim, 2010).

## Les différents outils de diagnostic microbiologique

### Le révélateur de plaque

Pendant longtemps, le clinicien n'avait à sa disposition que le révélateur de plaque pour approcher le « problème » de la plaque dentaire. Durant cette époque, son emploi était justifié puisque le concept était : la plaque dentaire est un « ennemi invisible » qui devait être éliminé « totalement », en masse, trois fois par jour, à l'aide d'un brossage minutieux, strictement mécanique, des surfaces dentaires (plus connu sous le nom d'« hygiène dentaire »). Selon ce concept dit « non spécifique » de la plaque dentaire, il était admis que « *là où il y a de la plaque, il y a - ou aura - maladie* ». Jusqu'au début des années 80, l'utilisation du révélateur de plaque était donc le seul moyen d'apprécier le niveau d'hygiène dentaire du patient (appelé à tort la « motivation »).

Ce moyen rudimentaire d'approche de la microbiologie possède un certain nombre d'inconvénients. *En effet, la coloration de la plaque ne donne aucune information sur la nature du biofilm et ne concerne que la plaque supra-gingivale.* D'autre part, l'expérience montre que les patients abandonnent rapidement son usage parce qu'il colore les lèvres, les vêtements et les lavabos. Ajoutons que si le patient n'a été observant que dans les minutes précédant la consultation, le praticien ne pourra révéler que la plaque formée de novo. Enfin, lorsqu'il



**Fig. 5 :** le révélateur de plaque en parodontie clinique : on observe que le révélateur de plaque (érythroline) colore la plaque supra-gingivale, principalement sur les surfaces dentaires naturelles et moins sur les surfaces prothétiques ; ce sont pourtant ces dernières qui, dans ce cas, sont atteintes de pertes d'attache

existe des restaurations prothétiques, le révélateur de plaque ne fonctionne que médiocrement (Fig. 5). On voit donc que l'utilisation du révélateur de plaque ne peut pas représenter une approche moderne de la microbiologie en parodontie.

### Les cultures

La culture des échantillons de plaque à des fins diagnostiques a été la première technique employée pour savoir si la plaque contenait ou non des bactéries pathogènes (Charon, 2009). Cependant, cette méthode requiert des techniques rigoureuses de prélèvement, de transport et de culture en conditions anaérobies.



**Fig. 6 :** les différentes étapes du prélèvement en vue d'un examen sous le microscope à contraste de phase : après avoir réduit la largeur de la partie travaillante d'une curette 4R/4L et émoussé ses bords, le prélèvement de plaque sous-gingivale se fait délicatement au sein de la poche parodontale ; puis à l'aide d'une sonde parodontale, on dépose l'échantillon sur une lame de verre propre qui est ensuite recouvert d'une goutte d'eau (courante) ; une lamelle est ensuite déposée sur l'échantillon sur laquelle le doigt imprime une forte pression afin d'étaler l'échantillon ; cette manipulation prend quelques minutes, examen compris



**Fig. 7 :** le microscope, sa caméra et son écran : le microscope est relié à une caméra numérique et un moniteur afin de pouvoir montrer au patient la nature infectieuse de sa maladie et de justifier les soins locaux de désinfection à réaliser par le patient ; s'il est couplé à un ordinateur il est alors possible d'archiver les données



**Fig. 8 :** les différentes bactéries telles qu'elles sont observées au microscope à contraste de phase : sur cette copie de ce qui peut être observé sous le microscope à contraste de phase, on peut voir des spirochètes et des bâtonnets (flèches) (motiles en l'occurrence)

En effet, la présence d'oxygène est alors responsable de la mort des bactéries non compatibles avec la santé parodontale et interdit donc leur mise en culture. D'autre part, un nombre non négligeable d'espèces bactériennes ne sont toujours pas cultivables à ce jour. Cependant, un avantage de cette technique est de permettre la réalisation d'un antibiogramme en sachant qu'il n'est pas souvent nécessaire.

*Cette technique a donc été, peu à peu, abandonnée en parodontie clinique compte tenu de ses aspects fastidieux et de son coût élevé.*

### Le microscope à contraste de phase

La microscopie optique a été l'un des premiers moyens de connaître la composition d'une flore microbienne. Historiquement au XVII<sup>e</sup> siècle, un génial marchand de draps hollandais, Antoni van Leeuwenhoek, inventait le microscope et observait qu'il existait « autant d'animalcules dans la bouche que de sujets dans le royaume ». Les dessins des bactéries (notamment des spirochètes) qu'il avait réalisés à cette époque sont toujours valides aujourd'hui !

Au milieu du XX<sup>e</sup> siècle, un physicien hollandais, Ernike Frits, invente le microscope à contraste de phase qui permet d'observer des organismes vivants sans préparation (il obtiendra pour ses travaux un Prix Nobel en 1953).

Vers la fin des années 70, le docteur Paul Keyes de l'Institut National de Recherche Dentaire (N.I.D.R, Bethesda, Maryland, USA) fut le premier à proposer l'utilisation du microscope à contraste de phase pour déterminer la nature de la plaque dentaire (Keyes, Wright et Howard, 1978). Dans le même temps, certains chercheurs en parodontie clinique ont utilisé une modification de cette technique (i.e. microscope à fond noir) pour valider les résultats des traitements parodontaux (Listgarten, Lindhe et Hellden, 1978). À cette époque, une très vive polémique existait sur la nécessité d'utiliser la microscopie à contraste de phase en parodontie clinique.

La technique de prélèvement de plaque sous-gingivale est relativement simple. Il suffit de prélever un échantillon de plaque sous-gingivale à l'aide d'une curette dont on aura modifié la partie travaillante (Fig. 6). L'échantillon est déposé et dispersé entre lame et lamelle à l'aide d'une goutte d'eau. L'examen se fait immédiatement en quelques minutes. Il s'agit donc d'une manipulation simple, rapide, peu coûteuse et immédiate. Il est cependant très important que l'échantillon soit étalé en une couche la plus fine possible, faute de quoi il ne sera pas lisible.

D'autre part, la lecture doit se faire en « scannant » l'échantillon. Le grossissement sera entre 600 et 800 fois (oculaires de x15 ou x20 et un objectif de x40) (Fig. 7).

Ajoutons qu'il est possible de montrer au patient sur un écran la nature de la plaque prélevée ce qui permet de l'informer sur la nature infectieuse de sa maladie parodontale (ou de montrer que la flore est redevenue compatible avec la santé parodontale) (Fig. 8).



**Fig. 9 :** les sondes nucléiques : le kit de prélèvement Paro Diagnostic™ de GABA comprend des cônes de papier stériles à laisser en place quelques dizaines de secondes dans la poche parodontale ; le ou les cône(s) de papier sont ensuite déposés dans un tube pour être adressés au laboratoire aux fins d'analyse

**Fig. 10 :** le test de risque carieux et son utilisation en parodontie clinique : ce test Vivadent™, originellement prévu pour déterminer le risque carieux, permet de savoir quelle est la quantité de streptocoques et de lactobacilles présents dans l'échantillon prélevé ; si ces bactéries sont nombreuses, le risque carieux est majeur, mais le risque parodontal faible car ces deux bactéries sont antagonistes des bactéries paropathogènes

Cependant, la microscopie à contraste de phase possède des limites. Si elle permet d'observer la motilité et la morphologie des bâtonnets motiles, des spirochètes, des vibrions, des parasites, des leucocytes et des cellules épithéliales (Fig. 9), elle ne peut pas déterminer si certaines bactéries du complexe rouge (*P. gingivalis* et *T. forsythia*) sont présentes ou absentes. Cependant, il a été montré que les spirochètes et *P. gingivalis* cohabitent (Byrne *et al.*, 2009). La présence de spirochètes, très facilement observables au microscope, est donc très fortement synonyme de la présence de *P. gingivalis*.

*En conclusion, il semble que l'analyse au microscope à contraste de phase soit le minimum requis en deçà duquel il n'est pas possible d'obtenir des réponses sur la nature de la flore sous-gingivale.*

### Les sondes nucléiques

L'utilisation des sondes nucléiques représente un progrès incontestable dans le diagnostic microbiologique en parodontie clinique.

Tous les organismes vivants nucléés contiennent dans leur génome certaines séquences d'acides nucléiques spécifiques qui permettent de les distinguer les uns des autres. La caractérisation génétique est basée sur la recherche de séquences spécifiques de base de l'ARN ribosomal 16S ou de l'ADN. La succession obtenue après séquençage est analysée par bio-informatique à partir de banques de données qui recensent la quasi-totalité des séquences des acides nucléiques des bactéries connues.

Une sonde nucléique est un fragment d'acide nucléique monocaténaire (nucléotide ou oligonucléotide) qui peut s'apparier à des portions d'ADN complémentaires. Les deux brins doivent pouvoir entrer en contact l'un avec l'autre et avoir suffisamment d'homologie pour qu'une molécule bicaténaire stable soit formée. Cette liaison entre molécules com-

plémentaires porte le nom de réaction d'hybridation qui résulte donc de l'appariement de la sonde à une séquence nucléotidique complémentaire présente dans l'échantillon. Pour constituer une sonde, la séquence nucléotidique doit être couplée à une molécule signal (*i.e.* marqueur radioactif ou chromogène comme la Biotine/Avidine) qui permet de mettre en évidence la réaction d'hybridation.

Un des avantages majeurs de l'utilisation des sondes nucléiques est qu'elles permettent la détection de bactéries difficiles à cultiver ou à identifier. D'autre part, les bactéries de l'échantillon n'ont donc pas besoin d'être vivantes. Cette technique permet également de détecter des bactéries cibles en petit nombre (1 000, voire moins). La quantité d'acide nucléique peut être minime grâce aux techniques de répllication (*i.e.* PCR en temps réel : Amplification en Chaîne par Polymérisation). Cependant, les sondes nucléiques ne sont utilisables que pour la détection de bactéries connues et pour lesquelles le laboratoire possède les sondes correspondantes aux bactéries recherchées.

Les principaux tests d'identification des bactéries parodontopathogènes aujourd'hui disponibles en France sont les tests MicroDent® (Biocentric/Hain™), Meridol Paro-Diagnostic® (GABA™) et Perio-analyse® (Pierre Fabre Oral Care/Clinident™).

La technique de prélèvement est très simple car elle consiste à mettre en place un ou plusieurs cône(s) de papier stérile(s) dans la poche pendant quelques dizaines de secondes (Fig. 10). Le cône est ensuite déposé dans un tube et envoyé par voie postale au laboratoire choisi. Les résultats parviennent au praticien dans un délai de 8 à 10 jours.

*Selon les recommandations de la Haute Autorité de Santé, le diagnostic moléculaire en parodontie clinique ne doit pas être systématique. Il doit se limiter aux cas de parodontites agressives ou ne répondant pas au traitement.*

## Le test BANA

Hélas absent du marché français, le test BANA (acronyme de Benzoyl - DL - arginine - 2 - Naphthylamide) est un test de diagnostic microbiologique basé sur l'observation que *P. gingivalis*, *T. forsythia* et *T. denticola* produisent des protéases (« Trypsine-Like ») capables de lyser le substrat BANA (Chan *et al.*, 2010).

Un échantillon de plaque dentaire est appliqué sur une bandelette, puis placé dans un incubateur pendant cinq minutes. En fonction de la quantité de protéases présentes, la bandelette imprégnée de réactif vire au bleu. Si au moins l'une des bactéries est présente, le bleu sera plus ou moins intense. Cependant, si le test est positif, il n'est pas possible de savoir quelle est (ou quelles sont) la (ou les) bactérie(s) présente(s) dans l'échantillon.

*Ce test rapide, simple et utilisable au fauteuil pourrait être couplé à l'utilisation du microscope à contraste de phase permettant ainsi de diminuer le risque de faux négatif.*

## Les tests salivaires

Dans la procédure de détermination du risque carieux, le praticien utilise un prélèvement de plaque qu'il incube pendant 48 heures (Blique, 1997). Il s'agit dans ce cas de savoir si l'échantillon contient un nombre important de *Streptococcus mutans* et de lactobacilles. Si le test révèle des quantités importantes de ces deux micro-organismes, le risque carieux est important, mais peut indiquer en même temps un risque parodontal faible (et inversement) (Fig. 10). En effet, il existe un antagonisme entre les bactéries parodontopathogènes (complexe rouge) et les bactéries responsables des lésions carieuses.

## Conclusion

On voit que le praticien soucieux d'orienter le traitement parodontal et de le rendre plus efficace dispose de plusieurs moyens actuellement sur le marché. Il est très important de dire d'emblée que, si les examens microbiologiques, quels qu'ils soient, sont nécessaires à l'établissement d'un diagnostic étiologique, ils ne peuvent, en aucun cas, représenter le seul critère pour son établissement. En effet, la microbiologie participe à la pose du diagnostic étiologique en association avec les éléments de l'entretien, de l'examen clinique et des autres examens complémentaires (*i.e.* radiologie ou biologie).

*Au total et à ce jour, il semble que l'utilisation de la microscopie à contraste de phase soit le meilleur compromis pour l'analyse de la plaque sous-gingivale en parodontie clinique en deçà de laquelle il n'existe aucune technique fiable.*

L'autre attitude, non éthique, serait de se contenter de dire : mettons tout le monde sous un protocole anti-infectieux, celles et ceux à qui cela fera du bien ne fera pas de mal aux autres ! ♦

## Bibliographie

1. Armitage G.C. - Comparison of the microbiological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontology* 2000 53 : 70 - 88, 2010.
2. Blique M. - Mise en oeuvre des tests salivaires au cabinet dentaire. Évaluation de la concentration de Lactobacilles dans la salive. *Inform Dent* 39 : 3307 - 3310, 1997.
3. Byrne S.J., Dashper S.G., Darby I.B., Adams G.G., Hoffmann B. et Reynolds E.C. - Progression of chronic periodontitis can be predicted by the levels of *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* in subgingival plaque. *Oral Microbiol Immunol* 24 : 469 - 477, 2009.
4. Chan H.C., Wu C.T., Welch K.B. et Loesche W.J. - Periodontal disease activity measured by the Benzoyl-DL-Arginine-Naphthylamide test is associated with preterm births. *J periodontol* 81 (7) : 982 - 991, 2010.
5. Charon J. - Parodontie Médicale, Innovations cliniques. Seconde édition. CDP éditions, Paris, 2009.
6. Colombo A.P.V., Boches S.K., Cotton S.L., Goodson J.M., Kent R., Haffajee A.D., Socransky S.S., Hasturk H., Van Dyke T.E., Dewhirst F. et Paster B.J. - Comparisons of subgingival microbial profiles of refractory periodontitis, severe periodontitis, and periodontal health using the human oral microbe identification microarray. *J Periodontol* 80 : 1421 - 1432, 2009.
7. Dujardin S., Charon J. et Joachim F. - Données récentes sur la réaction inflammatoire. *Le Fil Dentaire*. Sous presse. 2010.
8. Ford P.J., Gamonal J. et Seymour G.L. - Immunological differences and similarities between chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontology* 2000 53 : 111 - 123, 2010.
9. Genco R.J. - Clinical innovations in managing inflammation and periodontal diseases : The Workshop on inflammation and periodontal diseases. *J Periodontol* 79 (8) : 1609 - 1611, 2008.
10. Graves D. - Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol* 79 (8) : 1585 - 1591, 2008.
11. Henderson B., Ward J.M. et Ready D. - Aggregatibacter (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*) : a triple A\* periodontopathogen ? *Periodontology* 2000 54 : 78 - 105, 2010.
12. Ishihara K. - Virulence factors of *Treponema denticola*. *Periodontology* 2000 54 : 117 - 135, 2010.
13. Jain S. et Darveau R.P. - Contribution of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide to periodontitis. *Periodontology* 2000 54 : 53 - 74, 2010.
14. Keyes P.H., Wright W.E. et Howard S.A. - The use of phase-contrast microscopy and chemotherapy in the diagnosis and treatment of periodontal lesions. An initial report (I). *Quintessence Int* 9 : 516, 1978.
15. Kornman K.S. - Mapping the pathogenesis of periodontitis : A new look. *J Periodontol* 79 (2) : 1560 - 1568, 2008.
16. Listgarten M.A., Lindhe J. et Hellden L. - Effect of tetracycline and/or scaling on human periodontal disease, clinical, microbiological and histological observations. *J Clin Periodontol* 5 : 246 - 337, 1992.
17. Nakayama K. - *Porphyromonas gingivalis* cell-induced hemagglutination et platelet aggregation. *Periodontology* 2000 54 : 45 - 52, 2010.
18. Ryder M.I. - Comparison of neutrophil functions in aggressive and chronic periodontitis *Periodontology* 2000 53 : 124 - 137, 2010.
19. Serhan C.N. - Controlling the resolution of acute Inflammation : A new genus of dual antiinflammatory and proresolving mediators. *J Periodontol* 79 (8) : 1520 - 1526, 2008.
20. Sharma A. - Virulence mechanisms of *Tannerella forsythia*. *Periodontology* 2000 54 : 106 - 116, 2010.
21. Socransky S.S. et Haffajee A.D. - Etiology of destructive periodontal disease : current concepts. *J Periodontol* 63 : 322 - 337, 1992.
22. Socransky S.S., Haffajee A.D., Cugini M.A., Smith C. et Kent R.L. - Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 25 : 134 - 144, 1998.
23. Stamatova I. et Meurman J.H. - Probiotics and periodontal disease. *Periodontology* 2000 51 : 141 - 151, 2009.
24. Taylor J.J. - Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontology* 2000 54 : 160 - 194, 2010.