



**HAL**  
open science

# Analyse de la charge virale Epstein Barr chez les patients atteints de parodontite chronique : traitement parodontal et réponse virale

Sarah Abid

► **To cite this version:**

Sarah Abid. Analyse de la charge virale Epstein Barr chez les patients atteints de parodontite chronique : traitement parodontal et réponse virale. Médecine humaine et pathologie. 2017. dumas-01577414

**HAL Id: dumas-01577414**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01577414>**

Submitted on 25 Aug 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ NICE-SOPHIA ANTIPOLIS  
FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE  
24 Avenue des Diables Bleus, 06357 Nice Cedex 04

# ANALYSE DE LA CHARGE VIRALE EPSTEIN BARR CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE PARODONTITE CHRONIQUE : TRAITEMENT PARODONTAL ET REPOSE VIRALE

Année 2017

Thèse n°42.57.17.17

## THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant  
la Faculté de Chirurgie Dentaire de Nice  
Le 28 Avril 2017. Par

**Madame Sarah ABID**

Né(e) le 12 octobre 1991 à Nice  
Pour obtenir le grade de :

**DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE (Diplôme d'État)**

---

Examineurs :

Madame le Professeur Laurence LUPI  
Madame le Docteur Séverine VINCENT- BUGNAS  
Madame le Docteur Clara JOSEPH  
Monsieur le Docteur Gwenaël BORIE  
Monsieur le Docteur Charles SAVOLDELLI

Président du jury  
Directrice de thèse  
Assesseur  
Assesseur  
Membre invité

---

## CORPS ENSEIGNANT

### 56<sup>ème</sup> section : DEVELOPPEMENT, CROISSANCE ET PREVENTION

#### **Sous-section 01 : ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE**

Professeur des Universités : Mme MULLER-BOLLA Michèle  
Maître de Conférences des Universités : Mme JOSEPH Clara  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme PIERRE Audrey

#### **Sous-section 02 : ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE**

Professeur des Universités : Mme MANIERE-EZVAN Armelle  
Assistante Associée-Praticien Associé : Mme OUEISS Arlette  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. BUSSON Florian

#### **Sous-section 03 : PREVENTION, EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE, ODONTOLOGIE LEGALE**

Professeur des Universités : Mme LUPI-PEGURIER Laurence  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme SOSTHE Anne Laure  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme BORSA Leslie

### 57<sup>ème</sup> section : SCIENCES BIOLOGIQUES, MEDECINE ET CHIRURGIE BUCCALE

#### **Sous-section 01 : PARODONTOLOGIE**

Maître de Conférences des Universités : M. CHARBIT Yves  
Maître de Conférences des Universités : Mme VINCENT-BUGNAS Séverine  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. BORIE Gwenaël  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. RATHÉLOT Benjamin

#### **Sous-section 02 : CHIRURGIE BUCCALE, PATHOLOGIE ET THERAPEUTIQUE, ANESTHESIE ET REANIMATION**

Professeur des Universités Associées : Mme MERIGO Elisabetta  
Maître de Conférences des Universités : M. COCHAIS Patrice  
Maître de Conférences des Universités : M. SAVOLDELLI Charles  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. PAUL Adrien

#### **Sous-section 03 : SCIENCES BIOLOGIQUES**

Professeur des Universités : Mme PRECHEUR-SABLAYROLLES Isabelle  
Maître de Conférences des Universités : Mme RAYBAUD Hélène  
Maître de Conférences des Universités : Mme VOHA Christine

### 58<sup>ème</sup> section : SCIENCES PHYSIQUES ET PHYSIOLOGIQUES ENDODONTIQUES ET PROTHETIQUES

#### **Sous-section 01 : ODONTOLOGIE CONSERVATRICE, ENDODONTIE**

Professeur des Universités : Mme BERTRAND Marie-France  
Professeur des Universités : M. MEDIONI Etienne  
Professeur Emérite : M. ROCCA Jean-Paul  
Maître de Conférences des Universités : Mme BRULAT-BOUCHARD Nathalie  
Maître de Conférences Associé des Universités : M. CEINOS Romain  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. MORKOWSKI-GEMMI Thomas  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme DUVERNEUIL Laura  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. GANDJIZADEH GHOUGHANI Mir-Payam

#### **Sous-section 02 : PROTHESES**

Professeur des Universités : Mme LASSAUZAY Claire  
Maître de Conférences des Universités : M. ALLARD Yves  
Maître de Conférences des Universités : M. LAPLANCHE Olivier  
Maître de Conférences des Universités : Mme POUYSSEGUR-ROUGIER Valérie  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme CERETTI Léonor  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. OUDIN GENDREL Antoine  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. SABOT Jean-Guy  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. SAMMUT Arnaud

#### **Sous-section 03 : SCIENCES ANATOMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES**

Professeur des Universités : M. BOLLA Marc  
Professeur des Universités : M. MAHLER Patrick  
Maître de Conférences des Universités : Mme EHRMANN Elodie  
Maître de Conférences des Universités : M. LEFORESTIER Eric  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme AZAN Cindy

## **Remerciements :**

### ***A Madame le Professeur Laurence Lupi***

Docteur en Chirurgie Dentaire  
Professeur des Universités-Praticien Hospitalier  
Docteur adjoint à la Recherche de l'UFR d'Odontologie  
Responsable de la sous-section Prévention, Epidémiologie, Economie de la santé, Odontologie légale

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury de thèse. Votre bonne humeur, votre douceur, et vos conseils m'ont permis de progresser et de prendre confiance en moi tout au long de mes études. Veuillez recevoir l'expression de ma reconnaissance mon respect et tous mes remerciements.

### ***A Madame le Docteur Séverine Vincent Bugnas***

Docteur en Chirurgie Dentaire  
Maître de Conférences des Universités-Praticien hospitalier  
Sous-section Parodontologie

Je vous remercie d'avoir accepté de m'encadrer pour la réalisation de ce travail. C'est un honneur d'avoir fait suite à votre travail de thèse. Merci pour votre précieux encadrement lors de ma formation hospitalière, travailler à vos côtés m'a beaucoup appris. Vous m'avez à plusieurs reprises accordé votre confiance et je vous en suis extrêmement reconnaissante. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon profond respect.

### ***A Madame le Docteur Clara Joseph***

Docteur en Chirurgie Dentaire  
Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier  
Responsable de la sous-section Odontologie Pédiatrique

Vous compter dans ce jury est un immense plaisir et un grand honneur. Nous avons passé ensemble des moments difficiles, émouvants mais également de très bons moments lors de ma formation, je vous remercie pour chacun d'entre eux. Vous m'avez énormément appris et surtout donné confiance en moi. Veuillez trouver dans ce travail ma gratitude, mon profond respect et ma reconnaissance pour tout ce que vous m'avez apporté.

### ***A Monsieur le Docteur Gwenael Borie***

Docteur en Chirurgie Dentaire  
Assistant Hospitalo-Universitaire  
Sous-section Parodontologie

C'est à la fois un plaisir et un grand honneur de vous avoir dans ce jury. Merci d'avoir été à la fois enseignant et ami durant mes études. Merci pour les bons conseils et les aides précieuses que vous m'avez apporté lors de ma formation hospitalière. Veuillez trouver dans ce travail le témoignage de toute ma reconnaissance et de mon amitié.

### ***A Monsieur le Docteur Charles Savoldelli***

Docteur en Chirurgie Maxillo-Faciale  
Maître de Conférence des Universités de Chirurgie orale  
Praticien Hospitalier de Chirurgie Maxillo-Faciale

C'est un immense plaisir de vous compter dans ce jury. Vous m'avez tout au long de ma formation permis d'enrichir mes connaissances à vos côtés. Merci pour vos conseils, votre patiente et le temps que vous m'avez accordé. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma gratitude, de mon profond respect et de mon amitié.

# Table des matières

<b>I. Introduction</b>	<b>6</b>
<b>1. Maladie Parodontale</b>	<b>8</b>
1.1. Définition	8
1.2. Epidémiologie	9
1.3. Etiopathogénie	9
1.3.1. Facteur étiologique majeur bactérien	9
1.3.2. Réponse de l'hôte	10
1.4. Diagnostic	10
1.5. Traitement	11
<b>2. Le Virus Epstein Barr</b>	<b>12</b>
2.1. Epidémiologie	12
2.2. Caractéristiques du virus	13
2.2.1. Structure de EBV	13
2.2.2. Le génome EBV	14
2.2.3. Les protéines virales	15
2.3. Cycle Viral EBV	18
2.3.1. Entrée du virus dans la cellule hôte	18
2.3.2. Etablissement d'une infection latente	19
2.3.3. Persistance virale	20
2.3.4. Réplication virale	21
2.4. Maladies associées au virus Epstein Barr	22
2.4.1. La Mononucléose infectieuse	22
2.4.2. La Leucoplasie orale chevelue	23
2.4.3. Le Lymphome de Burkitt	24
2.4.4. Le carcinome du Nasopharynx : NPC	24
2.4.5. Le Lymphome de Hodgkin	24
2.5. Implication des cellules épithéliales dans la transmission EBV	25
2.6. Les traitements actuels anti-EBV	25
<b>3. Implication du virus Epstein Barr dans la maladie parodontale</b>	<b>26</b>
3.1. EBV et la maladie parodontale	26
3.2. Association viro-bactérienne	28
<b>II. Bases Fondamentales de l'étude</b>	<b>29</b>
<b>1. Introduction</b>	<b>30</b>
<b>2. Objectif</b>	<b>30</b>
<b>3. Matériel et méthode</b>	<b>30</b>
3.1. Méthode de recrutement et de prélèvement	30
3.1.1. Recrutement des patients :	30
3.1.2. Méthodologie des prélèvements	31

3.2.	Méthode d'extraction des prélèvements.....	31
3.2.1.	Protocole d'extraction d'ADN à partir des échantillons de salive .....	31
3.2.2.	Protocole d'extraction d'ADN à partir des échantillons d'épithélium de poche .....	32
<b>4.</b>	<b>Méthode d'analyse des prélèvements.....</b>	<b>35</b>
4.1.	Nanodrop = quantification et pureté de l'ADN extrait.....	35
4.2.	q-PCR = détection des virus dans l'ADN extrait.....	36
<b>III.</b>	<b>Résultats .....</b>	<b>38</b>
<b>1.</b>	<b>La salive : reflet de la situation buccale globale .....</b>	<b>39</b>
1.1.	Qualité des extractions de salive.....	39
1.2.	Bilan salivaire après q-PCR .....	39
1.2.1.	Evolution clinique .....	39
1.2.2.	Analyse du bilan salivaire.....	40
<b>2.</b>	<b>Les épithélia de poche, reflet d'une situation <i>in situ</i>.....</b>	<b>42</b>
2.1.	Qualité des extractions d'épithélium de poche .....	42
2.2.	Bilan après q-PCR .....	42
<b>3.</b>	<b>Analyse générale des résultats .....</b>	<b>44</b>
<b>IV.</b>	<b>Discussion .....</b>	<b>45</b>
<b>1.</b>	<b>Relation entre résultats cliniques et bilan salivaire.....</b>	<b>46</b>
<b>2.</b>	<b>La parodontite, une maladie de site .....</b>	<b>46</b>
<b>3.</b>	<b>Les seuils de risque et de détection .....</b>	<b>47</b>
<b>4.</b>	<b>Autres facteurs de discussion .....</b>	<b>51</b>
4.1.	L'absence de regard sur l'identification de porteurs sains.....	51
4.2.	L'absence de suivi entre les deux visites .....	51
<b>V.</b>	<b>Conclusion.....</b>	<b>52</b>
<b>VI.</b>	<b>Bibliographie.....</b>	<b>54</b>
<b>Annexes :</b>	<b>.....</b>	<b>61</b>
<b>Liste des abréviations</b>	<b>.....</b>	<b>65</b>

# **I. Introduction**

En 1995, en France et selon l'enquête ICSII réalisée par l'ADF sous l'égide de l'OMS, plus de 80 % des adultes entre 35 et 44 ans souffraient de maladies parodontales. Des études récentes mettent en évidence les rapports entre maladie parodontale et état général. Ainsi, les femmes enceintes qui présentent une parodontite sévère ont un risque accru d'accoucher prématurément d'un enfant à faible poids (Huck et al 2011).

De même, les patients atteints de parodontite ont un risque d'atteinte cardiovasculaire augmenté (Amano et Inaba 2012).

En 2016, un lien entre la maladie parodontale et le déclin cognitif dans la maladie d'Alzheimer est mis en lumière (Ide et al. 2016).

De nombreux spécialistes préconisent le dépistage de ces pathologies lors des consultations chez les médecins généralistes afin d'évaluer la gravité et pouvoir en référer à un dentiste pour une prise en charge rapide (Laudenbach et Simon 2014).

L'enjeu parodontal n'est pas limité à la seule sphère orale, c'est une discipline en plein essor au vu des pathologies systémiques graves qui peuvent y être associées.

Les parodontites représentent donc un problème de santé publique majeur du fait de leurs effets sur la santé générale, et constituent la première cause mondiale de perte dentaire (Pihlstrom et al. 2005).

Si le rôle majeur des bactéries dans la maladie parodontale est indiscutable, il n'est pas absolu, et depuis quelques années se développe une approche étiopathogénique davantage virologique, avec un nouveau concept de synergie viro-bactérienne. Les virus humains pourraient donc jouer un rôle fondamental dans la pathogénicité de la maladie parodontale du fait de leur capacité intrinsèque à interférer avec le système immunitaire de l'hôte. Un nouveau modèle physiopathologique de synergie viro-bactérienne de la maladie parodontale a récemment été proposé (Vincent-Bugnas, 2013).

Les travaux récents de l'équipe du Dr Doglio (Laboratoire Micoralis EA 7354, faculté d'odontologie de Nice), établissent une corrélation directe entre inflammation parodontale et présence de virus épithéliaux, tout particulièrement du groupe des Herpesvirus : Cytomégalovirus (CMV), Epstein-Barr Virus (EBV) et Herpès simplex (HSV). Les sites infectés par EBV, pourraient donc être le siège de perturbations de l'équilibre immunitaire local au sein de la poche parodontale. Mais qu'en est-il de la salive en tant que réservoir viral ?

Ce travail de thèse a donc pour but d'analyser dans la salive et l'épithélia de poche, la charge virale EBV chez des patients atteints de parodontite chronique, avant et après traitement conventionnel de la pathologie par un détartrage associé à un surfaçage radiculaire. Il repose sur un projet de recherche clinique prospectif mené au sein du département de parodontologie de l'hôpital Saint Roch, où le CHU de Nice est promoteur.

# 1. Maladie Parodontale

## 1.1. Définition

Ce sont des maladies infectieuses multifactorielles, initiées par l'accumulation du biofilm bactérien sur les surfaces dentaires et provoquant une réaction inflammatoire sur les tissus de soutien dentaire, induisant au fur et à mesure des mois et des années leur destruction. Les parodontopathogènes accumulés dans la plaque dentaire, une inflammation chronique de l'hôte, et une réponse immune contre les structures parodontales déterminent la survenue de la maladie. (Repeke et al. 2012).

La pathologie parodontale regroupe plusieurs maladies, dont la classification actuelle, en vigueur depuis 1999 est celle d'Armitage (Annexe 1)

Le signe principal de la parodontite est la formation de poches parodontale autour de la dent atteinte du fait de la perte osseuse et tissulaire (Figure 1).

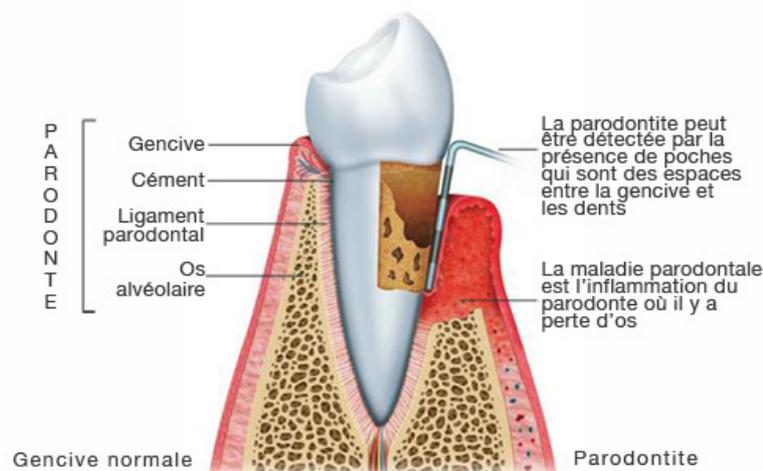


Figure 1 : La maladie parodontale

<http://www.studiodentaire.com/conditions/fr/parodontite.php>

### → Parodontite Chronique :

C'est la forme la plus répandue de la maladie parodontale, elle touche la population adulte essentiellement, âgée majoritairement (J. M. Albandar 2005).

Elle survient chez les patients de plus de 35 ans et est caractérisée par des phases d'activité destructrices et des phases de rémission et de latence. (Peyret-Lacombe 2007).

Elle progresse donc lentement et par épisodes.

La perte osseuse qui y est associée est radiographiquement identifiée comme étant principalement horizontale avec quelques zones de lésions angulaires.

Cette forme clinique peut être associée à des facteurs locaux (tartre, malpositions, inadaptations des prothèses), à des facteurs systémiques (diabète, VIH) et des facteurs environnementaux (stress, tabac).

### → Parodontite Agressive :

La parodontite agressive est une maladie destructrice moins répandue, caractérisée par : l'engagement de plusieurs dents dans un système de perte tissulaire parodontale ; une forte progression de la maladie ; un jeune âge, et l'absence de maladie systémique (J. Albandar 2016).

L'évaluation radiographique du niveau osseux montre que la progression est plus rapide dans les cas de parodontite agressive par rapport à la parodontite chronique (Onabolu et al. 2015), de plus on observe des alvéolyses angulaires beaucoup plus marquées dans cette forme agressive.

## 1.2. Epidémiologie

Au sein de la population mondiale, 11% des patients seraient atteints d'une parodontite sévère (Richards 2014). En France, plus de 50% des adultes souffrent d'une perte d'attache importante, celle-ci étant répartie de la façon suivante : 78% légère, 18% modérée, 4% sévère. (Bourgeois et al 2007). La répartition géographique de ces pathologies n'est pas égale, les patients d'origine africaine sont plus sujets aux parodontites que les sujets d'origine caucasienne. De plus, les atteintes parodontales diffèrent selon les âges, les parodontites agressives seront plus fréquentes dans la population juvénile tandis que les formes modérées et avancées atteignent dans certaines populations près de 70% des personnes âgées.

Il existe de nombreux facteurs de risque permettant à chaque individu de réagir différemment face à cette attaque bactérienne. A côté des facteurs de l'environnement comme le stress et le tabac, et des facteurs génétiques, les maladies générales occupent une place très importante.

Les parodontites représentent la première cause mondiale de perte dentaire (Pihlstrom et al 2005) et constituent un problème de santé publique majeur du fait de leurs effets sur la santé générale.

La parodontite est en effet considérée comme la 6<sup>ème</sup> complication du diabète et la réponse inflammatoire induite par la parodontite créerait un état insulino-résistant faisant de la parodontite un facteur de risque du mauvais contrôle de la glycémie.

Le risque cardiovasculaire a fait l'objet d'une analyse spécifique en collaboration avec l'Hôpital européen George Pompidou. Le risque de décès dû à une maladie cardio-vasculaire augmente au fur et à mesure de l'augmentation de la gravité de la parodontite (« UFSBD Prévalence des maladies parodontales et des facteurs de risque associés », 2005). Nous savons également que les pathologies parodontales ont une implication certaine dans les grossesses prématurées, ou encore certaines infections respiratoires.

## 1.3. Etiopathogénie

### 1.3.1. Facteur étiologique majeur bactérien

On estime que 75% des infections survenant chez l'homme proviennent du biofilm.

Il s'agit d'une unité de microcolonies bactériennes incorporées dans une matrice exopolymérique et un adhérent à une surface inerte ou vivante (Simain, et al 2010).

Plus de 500 espèces bactériennes peuvent être identifiées dans les poches parodontales, mais relativement peu d'espèces sont légitimement considérées comme parodontopathogènes. (Paster et al. 2001).

Les sites parodontalement sains présentent une flore prédominante en bactéries Gram positif, tandis qu'au niveau des sites atteints la flore est majoritairement constituée de bactéries anaérobies Gram négatif. La maladie parodontale proviendrait d'un changement microbien : la dysbiose. En effet ce changement correspond à une diminution du nombre de symbiotes protecteurs (bactéries aérobies à gram positif) et/ ou une augmentation du nombre de pathogènes (bactéries anaérobies gram négatif).

Ces bactéries responsables de la maladie parodontale sont capables de libérer des facteurs de virulence et de stimuler des réactions immunologiques et inflammatoires de l'hôte, aboutissant à la destruction du parodonte.

Les bactéries pathogènes les plus étudiées sont *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*), *Tannerella forsythensis* (*Tf*), *Campylobacter rectus* (*Cr*), *Eikenella corrodens* (*Ec*), ce sont celles qui produisent le plus de facteurs de virulence parmi les bactéries retrouvées dans la cavité orale (Ma et al. 2015).

### 1.3.2. Réponse de l'hôte

Le facteur bactérien n'est pas le seul impliqué dans ces maladies, l'hôte et sa réponse le sont aussi. En réponse au biofilm, pour faire face aux agressions, l'hôte se munie d'une série de mécanismes de défense innée, non spécifiques, dans le but de maintenir une homéostasie parodontale. Lorsque l'hôte ne peut contenir une invasion bactérienne par une réponse immédiate, il met en place d'autres mécanismes de défense, c'est l'immunité acquise. Ainsi, l'hôte augmente la réponse inflammatoire et recrute des cellules de l'immunité innée et acquise sur les lieux de l'infection (Teng 2003).

Concernant l'immunité innée, les cellules recrutées sont les polymorphonucléaires neutrophiles (PMNs), les macrophages et les cellules dendritiques. Les PMNs synthétisent et libèrent des substances comme des enzymes lysosomales incluant des protéases impliquées dans la destruction des tissus parodontaux. L'activation des macrophages et des cellules dendritiques par des métabolites bactériens comme les lipopolysaccharides (LPS), induit la libération de chimiokines et de cytokines pro-inflammatoires, capables d'attirer localement d'autres cellules de l'immunité (Madianos, Bobetsis, et Kinane 2005). De plus, ils sécrètent des métalloprotéinases matricielles (MMP) détruisant les composés de la matrice extracellulaire.

La réponse immunitaire acquise, dont les lymphocytes B et T sont les cellules clés, en particulier les lymphocytes T CD4 +, joue un rôle central dans le contrôle de l'infection en cours, des réponses immunitaires et de la destruction tissulaire ultérieure de l'hôte

Dans les lésions précoces, on retrouve des cellules infiltrées comme les macrophages et les LT alors que dans les lésions plus avancées, sont surtout retrouvés des LB et des plasmocytes. Ces cellules libèrent des médiateurs de l'inflammation et des espèces réactives de l'oxygène qui sont également impliqués dans la destruction tissulaire. Les poches parodontales étant caractérisées par une hypoxie, l'absence de mécanisme de mort oxydative est un facteur important de la progression de la maladie parodontale.

Ces maladies inflammatoires d'origine infectieuse sont dues à la rupture de l'homéostasie entre le biofilm et l'hôte. L'ensemble des moyens de défense de l'hôte permet de maîtriser l'agressivité des microorganismes vis-à-vis du parodonte. Une faiblesse transitoire ou permanente sera à l'origine de manifestations cliniques dont l'importance sera fonction de la gravité du déséquilibre.

Ainsi nous avons vu que la colonisation par des microbes spécifiques pathogènes et la synergie microbienne, la réponse de l'hôte, et les différents facteurs de risques sont des déterminants majeurs du développement de la maladie destructive parodontale (Slots 2002).

### 1.4. Diagnostic

Tous les patients devraient être soumis à une évaluation parodontale dans le cadre de l'examen oral basique. Le dépistage parodontal utilisant des méthodes comme l'examen parodontal basique, devrait être exécuté pour tous les nouveaux patients et aussi sur une base régulière dans le cadre des services médicaux oraux en cours. (Preshaw 2015).

La parodontite est une infection indolore le plus souvent, les signes ressentis peuvent être : des saignements au brossage, les hypersensibilités au froid, des récessions gingivales, l'apparition d'espaces entre les dents avec d'éventuels tassements alimentaires, des mobilités et/ou migrations dentaires, une mauvaise haleine persistante (halitose liée à une « surpopulation » bactérienne sous gingivale).

Afin de mesurer l'activité de la maladie parodontale, les marqueurs les plus fiables sont la profondeur de poche (PPS) et le saignement gingival (BOP).

La sévérité quant à elle sera mise en lumière par la mesure du niveau d'attache clinique (CAL) et la perte d'os alvéolaire. La radiographie permet d'évaluer les pertes de substance osseuses et leurs formes.

L'indice de plaque (IP) évalué à l'aide d'un produit appelé révélateur de plaque mettra en évidence l'hygiène bucco dentaire du patient.

Tous ces critères permettant le diagnostic parodontal seront relevés sur un charting parodontal (Figure 2) qui permet un recueil de toutes les données et une comparaison fiable lors de la réévaluation après traitement parodontal.

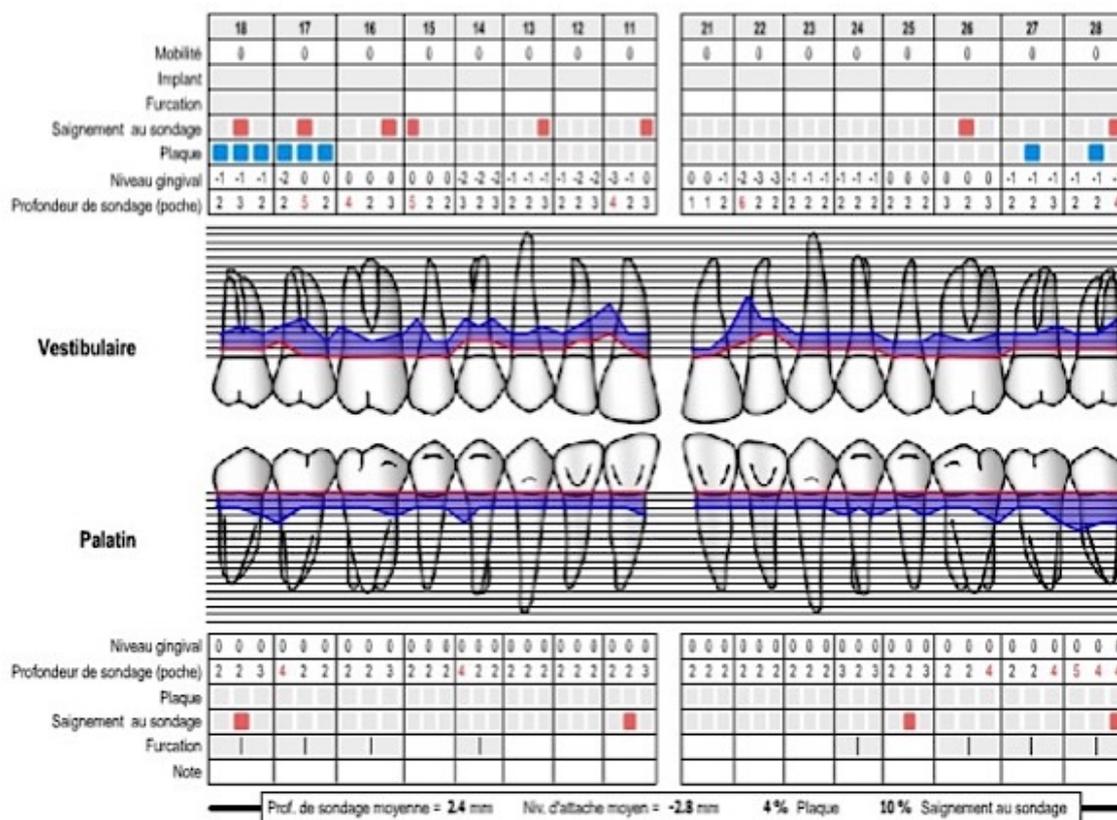


Figure 2 : Charting parodontal

<https://www.idweblogs.com/parodontologie/2015/12/06/criteres-diagnostiques-parodontologie-1/>

## 1.5. Traitement

Une étude récente (Ribeiro et al. 2011) a montré que les thérapeutiques actuelles non chirurgicales ou chirurgicales obtiennent des indices de satisfaction élevés.

La base du traitement consiste à éliminer les facteurs étiologies et donc en premier lieu réaliser un nettoyage approfondi en associant détartrage supra-gingival et surfaçage radiculaire, dans le but d'éliminer le tartre et le biofilm. Une adjonction d'antibiotiques est préconisée dans le cas des parodontites agressives. Une étape importante consiste également à motiver le patient à l'hygiène bucco-dentaire afin de rendre le traitement pérenne.

Après réévaluation 6 à 8 semaines après le traitement, si le contrôle de plaque est optimal et que les signes cliniques ont disparu, le patient passera en phase de maintenance. Cependant si les signes persistent, un traitement chirurgical sera nécessaire.

Chez un patient qui présente des lésions osseuses sévères associées à des poches parodontales profondes, le traitement chirurgical va permettre l'accès direct et visuel aux lésions, la réduction des poches et dans certains cas le remodelage ou le comblement osseux (Jourde 2014).

Parallèlement, la lutte contre les facteurs environnementaux tels que le tabagisme, le stress ou la recherche d'un diabète non traité est au premier plan de la lutte contre les parodontopathies. Les traitements visent à l'assainissement local mais aussi à une restitution des fonctions bucco-dentaires optimales sans oublier la correction des préjudices esthétiques. Une thérapie parodontale simple et non invasive peut améliorer les résultats de santé pendant la grossesse et d'autres affections systémiques (Jeffcoat et al. 2014).

**Cependant, des cas de récurrence et de parodontites réfractaires sont parfois observés, et l'hypothèse bactérienne ne semble pas suffisante à expliquer le développement et la persistance d'une maladie parodontale :** certains auteurs se sont tournés vers une **hypothèse de synergie viro-bactérienne.**

## **2. Le Virus Epstein Barr**

Le virus Epstein-Barr (EBV) résulte d'une découverte fortuite ; dans les années 50, Denis Burkitt, chirurgien anglais, décrit en Afrique une tumeur de l'enfant africain : le lymphome de Burkitt. La mise en culture de cellules de cette tumeur par Epstein, Achong et Barr permet la description d'un nouveau virus ayant les caractéristiques d'un herpes virus et qui va être nommé : le virus Epstein Barr (Fleury 2009).

### 2.1. Epidémiologie

EBV est un virus ubiquitaire dont la séroprévalence dépasse 95% chez l'adulte, quelle que soit la zone géographique concernée, ce qui fait de lui l'un des virus les plus prévalents de la planète. Le réservoir de EBV est strictement humain, et sa transmission se fait donc par contact étroit, essentiellement par la salive et les relations sexuelles.

L'âge de l'infection primaire est variable, et l'exposition à EBV est probablement due à des facteurs socio-économiques. Dans les pays en voie de développement, presque tous les enfants ont rencontré le virus très précocement contrairement aux enfants des classes privilégiées avec un bon niveau d'hygiène, moins de la moitié des enfants ont des anticorps de ce virus entre 5 et 10 ans. Les jeunes enfants acquièrent une infection primaire par EBV en raison d'un contact étroit qui implique l'échange de sécrétions orales via des objets partagés tels que des jouets, des bouteilles et des ustensiles. Cependant, la primo-infection au cours de la petite enfance est le plus souvent asymptomatique (Chabay et al 2015). Plus le contagement est tardif, plus l'individu risque de développer des signes cliniques au cours de la primo-infection sous la forme d'un syndrome communément appelée la mononucléose infectieuse (MNI), ou « maladie du baiser ». En effet, en 1966, des études épidémiologiques confirment qu'EBV est l'agent étiologique des MNI (Fleury 2009). La sévérité de l'infection primitive par EBV chez les adultes augmente avec l'âge et les patients de plus de 40 ans sont particulièrement vulnérables.

La séroprévalence EBV varie considérablement selon l'emplacement géographique. L'infection d'un individu en Amérique du Nord et en Europe relève en général du seul sous-type 1. Dans les pays occidentaux, le sous-type 2 de EBV concerne seulement 5 à 8% des personnes, tandis qu'en Afrique, et surtout dans les zones de lymphome de Burkitt endémique, plus de 20% de la population saine est porteuse de EBV-2.

Il est également connu que les situations d'immunodépression et notamment l'infection par le VIH se caractérisent par une augmentation de la prévalence EBV-2 et par la fréquence des co-infections EBV-1/ EBV-2.

## 2.2. Caractéristiques du virus

### 2.2.1. Structure de EBV

EBV fait partie d'une famille de virus très importante en clinique humaine, la famille des *Herpes viridae*. Il en existe 8 types (HSV1, HSV2, VZV, EBV ou HHV4, CMV, HHV6-7 et HHV8 ou Virus du Sarcome de Kaposi). La morphologie de EBV est identique à celle des autres herpes virus. Chaque type est composé d'un ADN bicaténaire, de symétrie cubique, et possède une enveloppe virale.

La caractéristique commune aux virus herpétiques est la capacité de provoquer des infections persistantes au sein de l'hôte, avec une alternance de phases quasi-silencieuses dites de latence et de phases de répllication intense, dites phases productives, aboutissant à la production de nouveaux virions infectieux.

EBV est donc un herpes virus de type 4 (HerpesHuman Virus 4 : HHV4), et présente une forme sphérique et une taille de 150 nm environ.

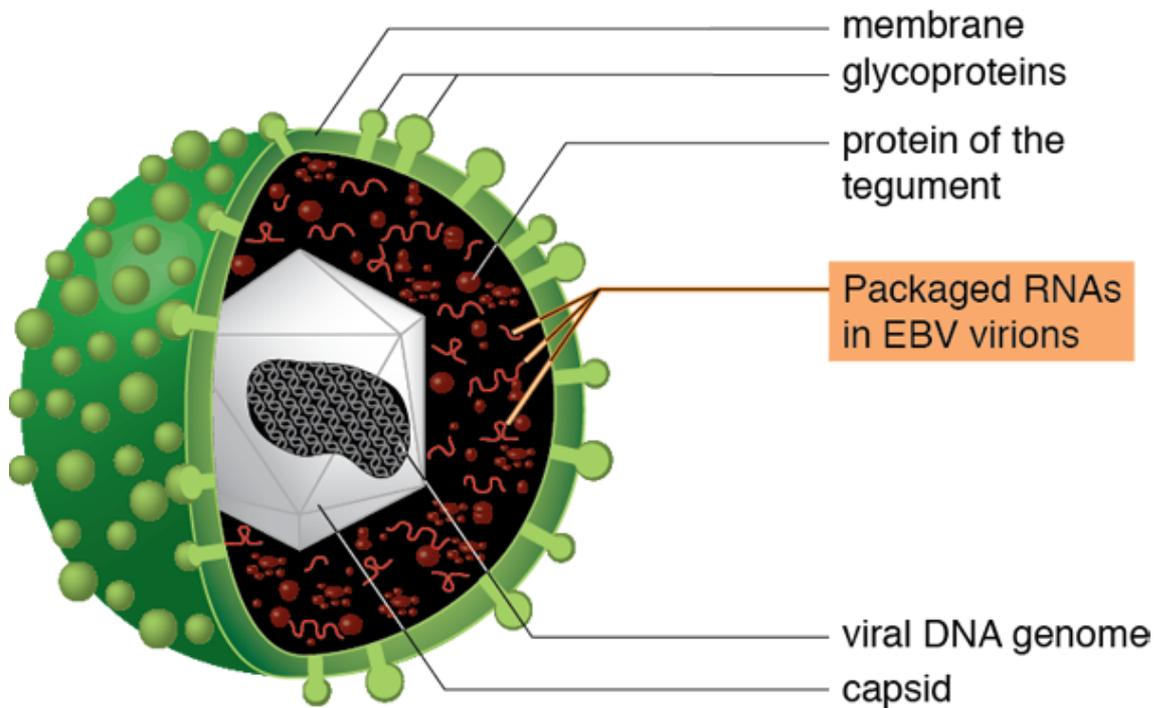


Figure 3 : Structure de EBV

<https://www.helmholtz-muenchen.de/agv/forschung/arbeitsgruppen/research-group-prevention-and-immunomodulation/projects/index.html>

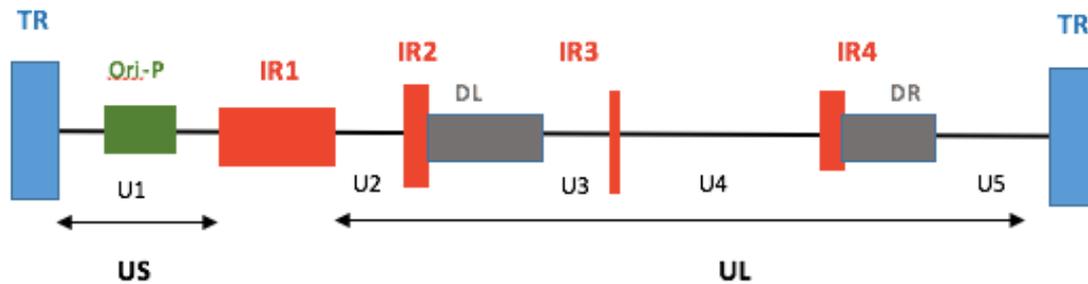


Figure 4 : Représentation schématique simplifiée du génome EBV ; illustration réalisée à partir de [http://www.nature.com/nrc/journal/v4/n10/fig\\_tab/nrc1452\\_F1.html](http://www.nature.com/nrc/journal/v4/n10/fig_tab/nrc1452_F1.html)

Il est composé d'une nucléocapside formée par un génome viral linéaire et une capsidie icosaédrique entourée d'une enveloppe dérivée des membranes cellulaires dans laquelle sont insérées des glycoprotéines virales, principalement la protéine gp350/220. Entre la nucléocapside et l'enveloppe se trouve un tégument. La structure externe, une enveloppe phospholipidique, rend ce virus fragile dans le milieu extérieur (Figure 3).

### 2.2.2. Le génome EBV

Complètement séquencé en 1984, le génome du virus EBV est constitué par une molécule d'ADN double brin de plus de 172 000 paires de bases. Il a une capacité de codage de 100 à 150 protéines. A l'intérieur du virion, la molécule d'ADN se présente toujours sous forme linéaire (Figure 4).

Le génome comporte plusieurs domaines uniques : un domaine long (UL : Long Unique region) et un domaine court (US : Short Unique region), séparés par des répétitions internes (IR : Internal Repeat). UL est divisé en quatre domaines uniques U2, U3, U4, U5, séparés par trois autres séquences répétées internes IR2, IR3, IR4 (Young, Arrand, et Murray 2007).

Chaque extrémité comporte des répétitions terminales (TR : Terminal Repeat) permettant la circularisation par la réplication de l'ADN, c'est sous cette forme épisomale que le virus persiste dans la cellule de manière latente et que la réplication du génome peut s'opérer (Figure 5).

Pendant la phase de latence, le génome EBV est répliqué de façon synchrone avec la cellule infectée. La région Ori-P utilisée lors de la phase de latente, et les régions homologues DL et DR composées de séquences répétitives utilisées lors de la phase lytique sont les origines permettant le mécanisme de réplication du génome.

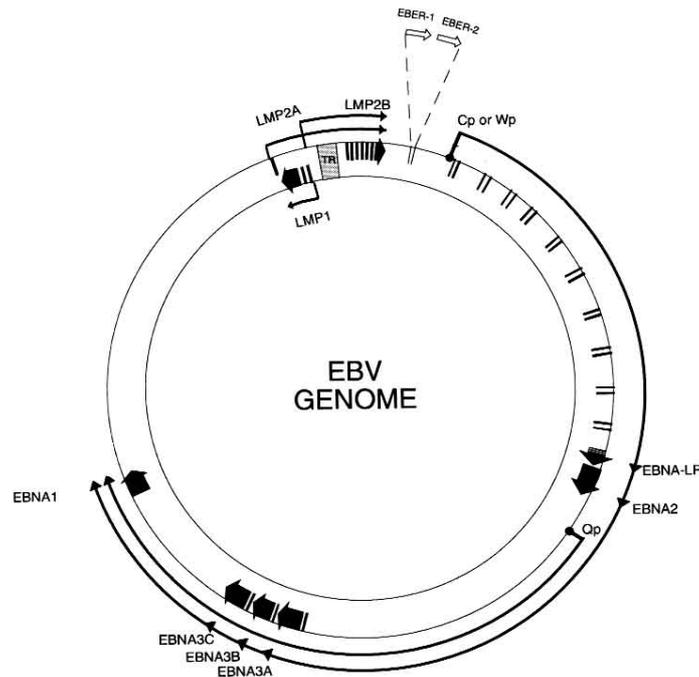


Figure 5 : Génome EBV sous forme Episomale  
[http://www.nature.com/onc/journal/v22/n33/fig\\_tab/1206556f1.html](http://www.nature.com/onc/journal/v22/n33/fig_tab/1206556f1.html)

### 2.2.3. Les protéines virales

Le virus EBV peut exécuter deux programmes distincts d'expression génique. Le premier, lytique ou productif, correspond à l'expression en cascade des différentes protéines virales permettant la fabrication de nouveaux virions. Le second, appelé latence, n'aboutit pas à la production de virus mais permet la persistance virale dans les lymphocytes B avec une expression d'antigène viraux réduite.

Les premières à être exprimées sont les protéines de latence, ce sont elles qui assurent principalement la persistance du virus au sein de la cellule et dans l'organisme en l'absence de synthèse de nouvelles particules virales. Les protéines lytiques sont quant à elles principalement structurales, ce sont des enzymes de transcription et de réplication virale.

→ Protéines de latence :

L'expression des protéines de latence n'aboutit pas forcément à l'immortalisation des Lymphocytes B, en effet, cette transformation nécessite la survenue d'évènements additionnels (génétiques, immunitaires). L'expression du programme de latence permet principalement d'aboutir à la « prise de contrôle » de la physiologie cellulaire par le virus. Lors de l'infection latente, différents profils de transcription de gènes viraux sont exprimés dans les LB.

Les lymphocytes B infectés par EBV peuvent donner lieu à une excroissance spontanée de lignées cellulaires immortalisées transformées par EBV, connues sous le nom de lignées cellulaires lymphoblastoïdes (LCL)

L'infection latente dans les cellules B immortalisées par EBV est associée avec l'expression de :

- 6 antigènes nucléaires ([Epstein Barr Nuclear Antigen] EBNA1, EBNA2, EBNA3A, EBNA3B, EBNA3C et EBNA-LP [leader protein])
- 3 protéines de membrane ([latent membrane protein] LMP1, LMP2A et LMP2B)
- 2 petits ARN non codés par EBV (EBER1 et EBER2)

- Des transcrits de la région BamHI A (BARTs)

Le rôle de ces différentes protéines, transcrits et mi-RNA est résumé dans le Tableau 1 (Larrat 2010).

<b>Protéines de latence</b>	<b>Fonctions principales</b>
<b>EBNA1</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Relie le génome d'EBV aux chromosomes permettant ainsi le maintien de l'épisome viral par sa liaison à oriP (Lee, Diamond, et Yates 1999);(Lindner et al. 2008).</li> <li>- Pourrait inhiber l'apoptose dans les lymphomes de Burkitt (Yin et Flemington 2006).</li> <li>- Influence la transcription d'un certain nombre de gènes cellulaires, favorisant ainsi la tumorigénèse.</li> </ul>
<b>EBNA2</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Transactivateur de plusieurs gènes viraux (LMP1/LMP2A) et cellulaires (CD21/cFGR/c-myc/CD23) essentiels pour la transformation cellulaire (Boccellato et al. 2007).</li> <li>- Interagit avec le facteur de transcription RBP-JK pour promouvoir la conversion des lymphocytes B en LCL (Pegman 2006).</li> </ul>
<b>EBNA3A, 3B, 3C</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- EBNA3A et 3C ont un rôle important dans la croissance des LCL et leur survie. Elles interagissent avec RBP-JK (Maruo et al. 2009).</li> <li>- EBNA3B ne semble pas essentielle pour l'infection latente mais aurait peut-être un rôle dans la réponse immunitaire (Gottschalk et al. 2001).</li> </ul>
<b>EBNA-LP</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rôle clé dans la régulation positive de l'expression des gènes cellulaires importante pour la croissance des LCL (Allan et al. 1992).</li> <li>- Augmente la capacité de EBNA2 à transactiver LMP1 (Peng et al. 2005).</li> </ul>
<b>LMP1</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Transformation cellulaire</li> <li>- Mime le signal transmis par le CD40 (récepteur d'activation et de différenciation des cellules B) et active ainsi les voies NFkB qui favorisent la survie de la cellule</li> <li>- Rôle cytotoxique en induisant une activation de CD95/Fas indépendante du ligand aboutissant à une apoptose (ambiguïté de LMP1 : survie cellulaire + mort programmée)(Le Cloennec et al. 2008).</li> <li>- Favorise la formation de lymphomes B chez la souris transgénique.</li> </ul>
<b>LMP2</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Régulation de la réactivation via un effet négatif sur les protéines Tyrosine kinases : diminue l'entrée en cycle lytique lors d'une stimulation antigénique en bloquant la transduction du signal (Rechsteiner et al. 2008).</li> <li>- Favorise la survie des cellules B qui n'expriment pas via l'activation des mêmes tyrosines kinases et ce même en l'absence de signal à travers le récepteur cellulaire (Merchant et al. 2001).</li> </ul>
<b>EBER 1,2</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Petits ARN non polyadénylés représentant les ARN les plus abondants dans les cellules avec une infection latente.</li> <li>- Ils sont très conservés parmi les différentes souches virales.</li> <li>- Dans le lymphome de Burkitt ils confèrent une résistance à l'apoptose</li> <li>- Ils stimulent la croissance cellulaire en induisant la production d'un certain nombre de cytokines (Samanta et al 2008).</li> </ul>

*Tableau 1 : Fonctions principales des protéines de latence EBV*

Quant à eux, les mi-BART sont impliqués dans le contrôle de la régulation du cycle viral

Le programme de latence se caractérise par quatre différents types, définis en fonction du profil d'expression des gènes de latence EBV (Tableau 2). L'expression du répertoire complet est définie comme étant la latence de type 3.

Programme de latence	Gènes exprimés
0	EBERs, EBNA1 (intermittent)
1	EBERs, EBNA1, BARTs
2	EBERs, EBNA1, LMP2A, LMP1, BARTs
3	EBERs, EBNA1, LMP2A, LMP1, EBNA2, EBNA3C, EBNA-LP, BARTs

Tableau 2 : Différents programmes de latence

→ Protéines du cycle lytique :

La cascade d'événements dans la phase lytique du cycle de vie d'EBV est divisée en trois phases d'expression de gène régulée : immédiate, précoce et tardive.

L'expression des gènes du cycle lytique est séquentielle : les produits des gènes très précoces activent l'expression des gènes précoces qui induisent la réplication du génome viral nécessaire à la transcription des gènes tardifs. Les produits des gènes tardifs sont essentiels à l'assemblage et à la maturation des particules virales infectieuses.

- Protéines immédiates (ou très précoces) : « Immediate Early : IE »

Les produits de gène immédiat-précoce sont des protéines transactivatrices qui déclenchent l'expression des gènes précoces, dont les produits comprennent des enzymes qui sont nécessaires à la réplication de l'ADN viral.

Les protéines **Zebra** (BamH1 Z EBV Replication Activator, également appelé **Zta**, Z ou EB1) et **Rta** (également appelée R) codées respectivement par les gènes **BZLF1** et **BRLF1** induisent l'expression de plusieurs gènes viraux précoces.

**Zebra** peut se lier à l'origine de réplication OriLyt, et suffit à elle seule pour lever la latence du virus dans les lymphocytes B et le faire entrer dans le cycle lytique. Cette protéine altère également le cycle cellulaire. Cette inhibition de la réplication de l'ADN cellulaire permet certainement de diminuer la compétition pour les substrats nécessaires à la réplication génomique entre le virus et son hôte.

Ainsi **Zebra** apparaît comme le facteur transcriptionnel clé qui contrôle le passage de la phase de latence à la phase lytique.

De plus **Zebra** active l'expression de **Rta** qui ainsi apparaît très tôt durant le cycle lytique. **Rta** se lie également à l'oriLyt bien que semblant ne pas être indispensable à la réplication génomique. Elle joue aussi un rôle dans la commutation entre les cycles latent et lytique. Dans les cellules épithéliales, **Rta** peut rompre à elle seule la latence virale.

De façon intéressante, **Rta** ainsi que la protéine précoce Na (codée par le gène BRRF1 situé sur le brin opposé au premier intron de **Rta**) peuvent être activées par **Zebra** via la méthylation de leur promoteur puis induire à leur tour la transcription de **Zebra** dans un phénomène de boucle positive (Dickerson et al. 2009).

- Protéines précoces : « Early Antigens : EA »

Les protéines de cette phase sont induites par les transactivateurs Zebra et Rta. Au moins deux protéines précoces sont également des facteurs de transcription, il s'agit du produit des gènes BMRF1 et de BRRF1. Depuis longtemps, sur des images d'immunofluorescence, les antigènes précoces ont été divisés en deux catégories, **EA-R**

(restricted) présents dans le cytoplasme, et **EA-D** (diffuse) situés dans le noyau et dans le cytoplasme.

Les produits des gènes précoces comprennent des protéines régulant le transport des ARNs et assurant leur stabilité car la plupart des gènes lytiques d'EBV sont dépourvus d'introns et les ARNm non épissés sont souvent instables dans les cellules.

A ce titre on distingue : la protéine **EB2**, codée par BMRF1, très abondante dans le noyau qui se lie aux ARN non épissés, améliore leur stabilité (Batisse et al. 2005), entraîne leur transport du noyau vers le cytoplasme (Juillard et al. 2009) et favorise leur traduction (Ricci et al. 2009). D'autre part, la protéine codée par le cadre de lecture BHRF1 localisée dans le noyau et dans le cytoplasme, possède des homologies avec **bcl2** y compris son pouvoir protecteur sur l'apoptose. Elle permet ainsi une meilleure réplication virale en prévenant la mort de la cellule hôte.

Dans les protéines précoces on trouve également de nombreuses protéines impliquées dans la réplication de l'ADN viral.

#### - Protéines tardives

Pendant la phase tardive du cycle, les protéines structurales virales sont exprimées et assemblées en particules virales dans lesquelles l'ADN est conditionné avant la libération de virions infectieux.

Les protéines tardives sont des protéines de structure comprenant des antigènes de capsid (VCA) et des antigènes de membrane (MA), composant l'enveloppe virale.

D'autres protéines jouent un rôle important dans la protection du virus face à la réponse immunitaire, notamment la protéine **vIL-10** codée par le gène BCLF1 (Salek-Ardakani, Arrand, et Mackett 2002). Lors de la phase de réplication virale le virus met en jeu différents mécanismes pour prévenir de l'apoptose cellulaire.

### 2.3. Cycle Viral EBV

Le virus EBV infecte différents types cellulaires. Chez l'individu sain, les principales cellules cibles sont les lymphocytes B et les cellules épithéliales. Il ne peut se multiplier *in vitro* que dans les lymphocytes B, dont il induit la transformation lymphoblastique et l'immortalisation. L'immunosuppression est la caractéristique essentielle des infections à virus herpétiques (Slots 2002).

#### 2.3.1. Entrée du virus dans la cellule hôte

EBV se transmet par la salive et se multiplie majoritairement dans les tissus lymphoépithéliaux de l'anneau de Waldeyer, notamment dans les amygdales. Le virus pénètre dans l'épithélium oropharyngé où il commence à se multiplier, puis gagne les lymphocytes B lympho-épithéliaux, qui sont activés. La prolifération lymphocytaire est habituellement contrôlée par le système immunitaire.

La prédilection de EBV pour les LB est due à la présence importante du récepteur de ce virus à la surface des lymphocytes B, la protéine CD21.

Comme les autres virus herpétiques, il possède trois glycoprotéines, la glycoprotéine B (gB), la gH et la gL, qui forment la mécanique de fusion membranaire de cœur, médiatisant la pénétration virale dans la cellule. Les protéines gH et gL s'associent pour former un complexe hétérodimérique, nécessaire pour une fusion efficace de la membrane et impliqué également dans la liaison directe aux récepteurs des cellules épithéliales nécessaires à l'entrée virale.

(Matsuura et al. 2010).

L'entrée de l'EBV dans les cellules épithéliales, qui n'expriment pas le CMH, ni le CD21, pourrait également être le fruit d'une interaction avec des cellules B portant le virus à leur surface (Shannon-Lowe et Rowe 2011). Il semblerait que les cellules épithéliales soient davantage impliquées dans la dissémination virale que dans la primo-infection. En effet, le virus pénètre dans ces cellules par les faces baso-latérales. Il pourrait être amené des capillaires sanguins vers l'épithélium muqueux par les LB sous épithéliaux, particulièrement par les monocytes devenus macrophages et cellules de Langerhans en arrivant au niveau des couches supérieures de l'épithélium, comme cela a été démontré chez des patients VIH positifs atteints de leucoplasie orale chevelue (Tugizov et al. 2007). Ainsi, EBV pourrait efficacement accéder à l'épithélium par son transport à la surface des LB qui agiraient comme des véhicules « EBV-coated B Lymphocytes ».

EBV se réactive au niveau des lymphocytes B et le virus fabriqué alors va à son tour infecter des monocytes. Ceux-ci vont ensuite se différencier en macrophages et cellules de Langerhans qui vont migrer dans l'épithélium muqueux et transmettre ainsi le virus aux cellules épithéliales différenciées des couches supérieures. Ces cellules vont alors multiplier le virus en grande quantité et produire ainsi de nombreux virions infectieux (Figure 6).

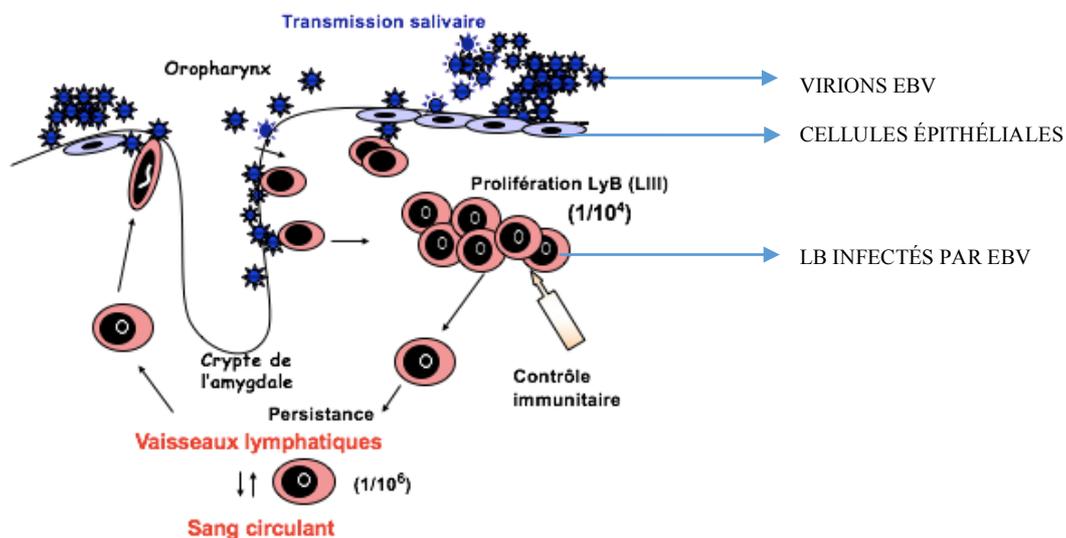


Figure 6 : Primo infection EBV, illustration issue d'un document du Dr Samira Fafi-Kremer

### 2.3.2. Etablissement d'une infection latente

La latence virale est permise par les lymphocytes B, qui sont donc les cellules clés de ce mécanisme. En effet, les patients manquant de LB, car atteints d'une hypogammaglobulinémie liée à l'X, ne présentent pas d'infection EBV persistante (Faulkner et al. 1999). C'est en fait l'expression des protéines virales de latence III qui permet le phénomène d'activation et de prolifération des LB naïfs infectés par EBV mimant ainsi une stimulation naturelle.

La cellule stimulée va migrer ensuite vers le ganglion lymphatique où le programme d'expression virale change. Trois protéines virales EBNA1, LMP1 et LMP2 sont exprimées.

- EBNA1 maintient le génome viral sous forme d'épisome et permet sa réplication par l'ADN polymérase cellulaire. Le génome viral est ainsi également réparti entre les cellules filles lorsqu'une cellule infectée par EBV se divise.
- LMP2 entraîne la formation d'un centre germinale par la cellule.

- LMP1 réprime in vitro l'expression du facteur de transcription régulateur du centre germinal : bcl-6 (Panagopoulos et al. 2004), favorisant ainsi la transformation en cellule B mémoire et le départ de ces cellules du centre germinal.

Afin d'expliquer l'absence de marqueurs phénotypiques du centre germinal sur les cellules infectées par EBV, une hypothèse selon laquelle les cellules subiraient une expansion clonale dirigée par le programme de croissance virale a été émise (Kurth et al. 2003).

Par ailleurs, il a été montré que le programme de latence II (dit «de défaut») est compatible avec le maintien de la fonctionnalité du centre germinal (CG) et offre ainsi un argument de poids pour penser que le centre germinal est un nœud crucial pour le développement de pathologies lymphoïdes associées à EBV comme les lymphomes de Hodgkin et de Burkitt (Roughan et Thorley-Lawson 2009) (Figure 7)

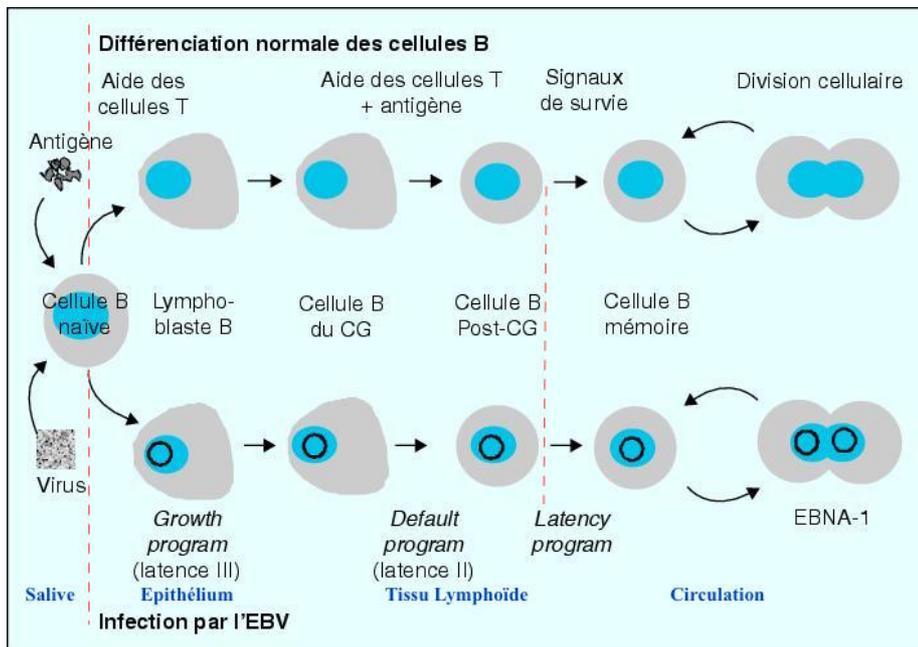


Figure 7 : Schématisation de l'utilisation de la biologie des LB par EBV et phases de latence

[http://www.jle.com/fr/revues/abc/e-](http://www.jle.com/fr/revues/abc/e-docs/maladie_de_hodgkin_et_virus_depstein_barr_physiopathologie_et_perspectives_therapeutiques_263924/article.phtml?tab=images)

[docs/maladie\\_de\\_hodgkin\\_et\\_virus\\_depstein\\_barr\\_physiopathologie\\_et\\_perspectives\\_therapeutiques\\_263924/article.phtml?tab=images](http://www.jle.com/fr/revues/abc/e-docs/maladie_de_hodgkin_et_virus_depstein_barr_physiopathologie_et_perspectives_therapeutiques_263924/article.phtml?tab=images)

### 2.3.3. Persistance virale

Les cellules B mémoires se situant en périphérie ne produisent pas de protéines virales, il s'agit de la latence de type 1 ou 0. Cependant, lorsque la cellule mémoire se divise, EBNA 1 est produite ce qui permet ainsi une multiplication du génome viral et sa présence dans les cellules filles. EBNA 1 étant très peu immunogène, elle ne déclenche pas de réaction contre ces cellules mémoires en division.

Le Virus persiste donc dans le compartiment B mémoire à l'abri du système immunitaire (Figure 7).

Le portage chronique du virus est donc assuré par une faible fraction des lymphocytes B circulants qui sont infectés par EBV de manière latente. La stimulation antigénique de ces lymphocytes dans les amygdales provoque l'induction d'un cycle lytique qui permet la production de particules infectieuses (Figure 8). La production salivaire de ces particules est massive et ne peut être expliquée uniquement par la production lymphocytaire ; le modèle le

plus probable est que les cellules épithéliales de l'amygdale sont infectées à leur tour et jouent un rôle amplificateur majeur au cours des étapes productives.

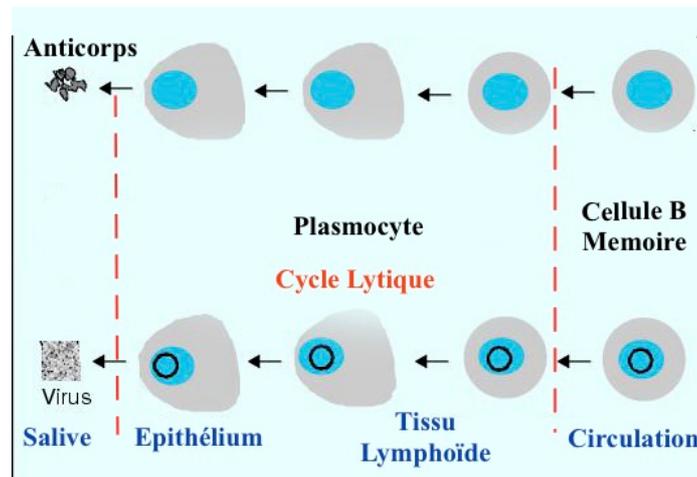


Figure 8 : Schématisation de l'utilisation de la biologie des LB mémoires par EBV et cycle lytique, à partir de [http://www.jle.com/fr/revues/abc/e-docs/maladie\\_de\\_hodgkin\\_et\\_virus\\_depstein\\_barr\\_physiopathologie\\_et\\_perspectives\\_therapeutiques\\_263924/article.phtml?tab=images](http://www.jle.com/fr/revues/abc/e-docs/maladie_de_hodgkin_et_virus_depstein_barr_physiopathologie_et_perspectives_therapeutiques_263924/article.phtml?tab=images)

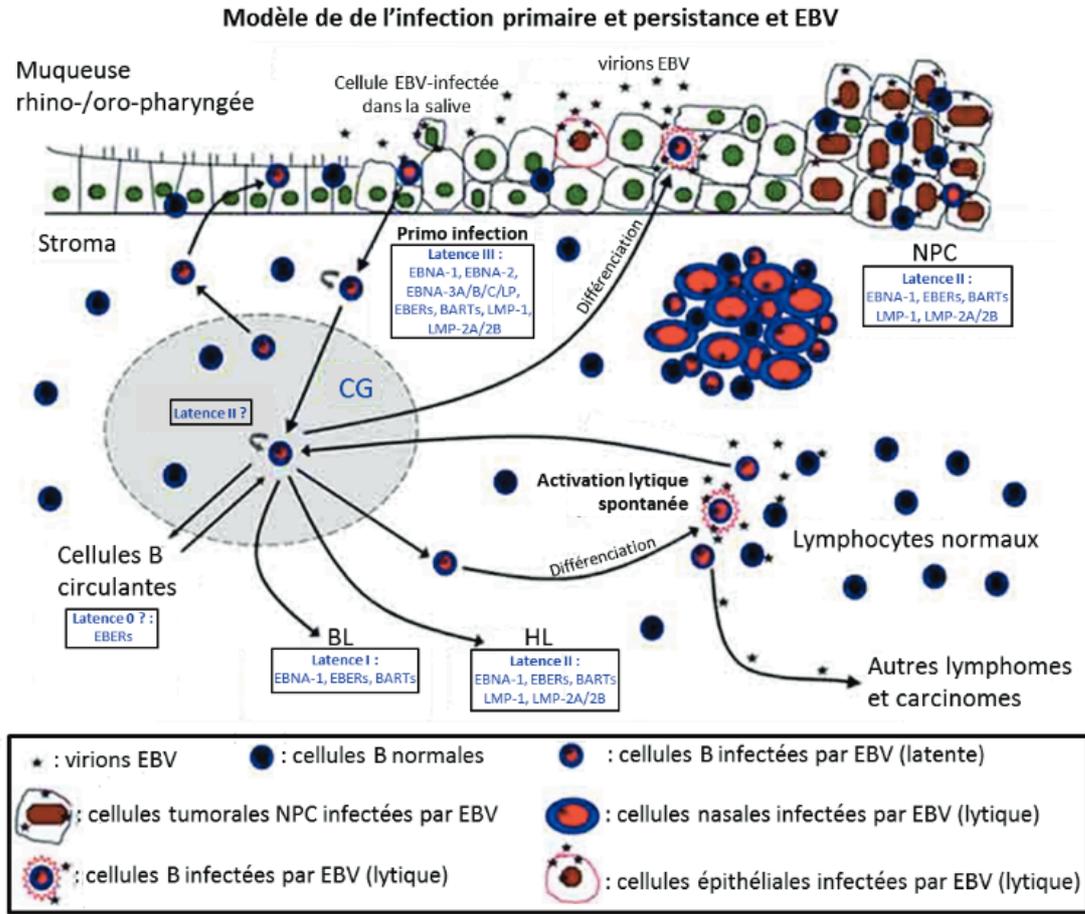
#### 2.3.4. Réplication virale

Dans le but d'atteindre de nouveaux hôtes et d'avoir un stock plus large de cellules B mémoires B porteuses EBV, le virus doit pouvoir être excrété (Figure 8). Ce sont là encore des mécanismes naturels, notamment à l'origine de la différenciation des cellules B mémoires en plasmocytes sécréteurs qui vont permettre la réactivation du virus (Al Tabaa et al. 2009). Le cycle lytique aboutit la plupart du temps à la mort de la cellule hôte.

Lors de son cycle répliatif, le virus, dont le génome est alors linéaire et extrachromosomique, utilise la machinerie enzymatique virale et celle de la cellule infectée pour exprimer les protéines du cycle lytique, se répliquer et produire de nouveaux virions. L'expression des gènes du cycle lytique se fait de manière séquentielle. Les produits des gènes très précoces activent l'expression des gènes précoces, qui induisent la réplication du génome viral nécessaire à la transcription des gènes tardifs. Les produits de ces gènes tardifs sont essentiels à l'assemblage et à la maturation des particules virales infectieuses.

La réactivation virale est le fruit d'une rupture de l'équilibre entre la prolifération des LB infectés par EBV et la réponse immunitaire (Figure 9).

Pour conclure, les herpès virus et ici EBV surviennent dans un état prolongé de latence et dans un état actif. La réactivation à partir de la latence entraîne une nouvelle expression du gène viral. Les herpès virus dépendent des mécanismes d'activation immunitaire pour la réactivation de la latence virale et ainsi la production d'une nouvelle descendance virale. La réactivation peut se produire spontanément ou à la suite d'une infection concomitante, de fièvre, de médicaments, de traumatisme tissulaire, de stress émotionnel, d'exposition à la lumière ultraviolette ou d'autres facteurs affectant la défense immunitaire de l'hôte (Slots 2002).



*Figure 9 : Schéma récapitulatif du cycle viral de EBV*  
<https://herpesfactorfiction.wordpress.com/multiplication-cycle/>

## 2.4. Maladies associées au virus Epstein Barr

Ce virus est retrouvé dans de nombreux cancers humains, des lymphomes, et des carcinomes dont le Carcinome du Naso-pharynx (NPC) ou des carcinomes gastriques. EBV est l'agent causal de la mononucléose infectieuse et est impliqué dans l'étiologie des lymphomes infectieux chroniques de l'EBV, de la maladie de Hodgkin, du carcinome nasopharyngé et du carcinome gastrique. Il a également récemment été impliqué dans l'amygdalite récurrente et l'hypertrophie amygdalienne. EBV est également associé à la leucoplasie chevelue orale et peut montrer une certaine relation avec la polyarthrite rhumatoïde et le syndrome de fatigue chronique (Slots 2002).

### 2.4.1. La Mononucléose infectieuse

La mononucléose virale, ou mononucléose infectieuse, est une maladie contagieuse due dans la grande majorité des cas au virus d'Epstein-Barr (EBV). Cette pathologie virale est contagieuse, notamment par la salive, d'où son surnom de « maladie du baiser ». Souvent, le premier contact avec le virus a lieu dès le plus jeune âge et passe inaperçu : l'enfant atteint ne présente pas de symptômes. Par la suite, il est *immunisé* contre la mononucléose infectieuse sans avoir déclaré la maladie. En effet, son organisme développe des anticorps qui le protègent contre ce virus. Cependant, avec le développement des mesures d'hygiène, le nombre d'enfants touchés et *immunisés* diminue dans les pays développés.

La contamination survient alors plus tard dans la vie, le plus souvent pendant l'adolescence ou au début de l'âge adulte. Cela s'explique notamment par le fait que les contacts avec les autres à cette période de la vie sont plus intimes. Le syndrome se produit donc le plus souvent entre 15 et 24 ans. Il doit être suspecté chez les patients présentant des maux de gorge, fièvre, agrandissement des amygdales, fatigue, lymphadénopathie, inflammation pharyngée et pétéchies palatines.

Les enfants courent un risque plus élevé d'obstruction des voies aériennes, qui est la cause la plus fréquente d'hospitalisation de la MNI. Les patients immunodéprimés sont plus susceptibles d'être touchés par cette infection virale (Womack et Jimenez 2015).

Au cours de la période d'incubation d'environ 6 semaines, la réplication virale se produit tout d'abord dans l'oropharynx, suivie par la virémie dès 2 semaines avant le début de la maladie. La maladie aiguë est marquée par des charges virales élevées dans la cavité buccale et le sang, accompagnée de la production d'anticorps de l'immunoglobuline M contre l'antigène de la capsid virale de l'EBV et d'une expansion extraordinaire des lymphocytes T CD8 + dirigés contre les cellules B infectées par EBV. Pendant la convalescence, les lymphocytes T CD8 (+) reviennent à des niveaux normaux et les anticorps se développent contre l'antigène-1 nucléaire d'EBV (Balfour et al 2015)

Une fois le syndrome disparu, le virus est toujours présent dans la salive en petites quantités, pendant une période allant jusqu'à six mois, sa transmission reste alors possible.

Il n'existe pas de traitement curatif de la MNI, cependant, le traitement symptomatique, comprend une hydratation adéquate, des analgésiques, des antipyrétiques et un repos adéquat. Les corticostéroïdes, l'acyclovir et les antihistaminiques ne sont pas recommandés pour le traitement de routine de la mononucléose infectieuse, bien que les corticostéroïdes puissent bénéficier aux patients présentant un compromis respiratoire ou un œdème pharyngé sévère. La fatigue, les myalgies et le besoin de sommeil peuvent persister pendant plusieurs mois après la fin de l'infection aiguë (Ebell 2004)

Lorsque le malade est guéri, le virus reste toute sa vie dans ses ganglions, sans provoquer de récurrence.

#### 2.4.2. La Leucoplasie orale chevelue

La leucoplasie orale chevelue est une infection EBV courante, bénigne et opportuniste de la cavité buccale particulièrement rencontrée chez les patients atteints du VIH Elle siège sur les bords de la langue, sous la forme de lésions leucoplasiques en stries verticales blanches asymptomatiques, mal limitées et irrégulières. (Figure 10)



Figure 10 : Leucoplasie orale chevelue :

<http://healthh.com/wp-content/uploads/2014/05/hairy-leukoplakia-pictures-2.jpg>

Cette maladie présente une histopathologie caractéristique, incluant une hyperparakérotose épithéliale, une acanthose et une faiblesse de la réaction inflammatoire. Le EBV est présent comme un nombre énorme de virions complets complètement réplicatifs (forme lytique de EBV) et est considéré comme l'agent étiologique (Greenspan et al 2016).

Cette leucoplasie mérite rarement le traitement, mais si les patients se plaignent de l'apparence ou un léger inconfort, elle répond à l'acyclovir et valacyclovir, mais pas complètement éliminée. La thérapie est efficace à court terme, non curative et la récurrence après l'arrêt du traitement est habituellement observée.

#### 2.4.3. Le Lymphome de Burkitt

Il existe trois formes cliniques de lymphome de Burkitt : endémiques, sporadiques et celles liées à l'immunodéficience. La forme endémique est présente en Afrique équatoriale et Nouvelle Guinée-Papouasie, touche principalement les enfants. EBV est retrouvé dans 98 % des cellules tumorales de la forme endémique. La forme sporadique est retrouvée dans les pays occidentaux (Etats-Unis et Europe) mais de manière beaucoup plus rare. Dans cette forme EBV n'est détectable que dans 15 à 20 % des cas et dans 30 à 60 % si le sujet est atteint du SIDA (Syndrome de l'immunodéficience acquise).

Le lien entre les cellules B infectées par EBV et l'apparition des tumeurs malignes n'est pas encore connu, mais la détection d'EBNA-1 et des EBERs (latence de type I) dans les cellules malignes suggère l'importance d'EBV pour le développement de ces lymphomes.

Cliniquement, il présente des manifestations extra-ganglionnaires, avec une atteinte de la mâchoire fréquente dans les formes endémiques et une atteinte digestive avec un envahissement médullaire dans les formes sporadiques.

Les lymphomes de Burkitt peuvent être traités par chimiothérapie avec un taux de guérison de 90% pour les enfants et 70% pour les adultes (Todeschini et al. 2012).

#### 2.4.4. Le carcinome du Nasopharynx : NPC

Il est considéré comme le cancer le plus fréquent chez l'homme adulte, avec une prévalence particulièrement élevée en Chine du Sud et à Taiwan (30 à 80 cas pour 100 000 habitants). Il se développe au dépend de l'épithélium de la cavité rétro-nasale (cavum) et est caractérisé par des manifestations neurologiques tel qu'une diminution de l'audition et encore une obstruction nasale.

Le génome EBV est détecté dans 100% des biopsies de cellules tumorales, c'est donc le cancer le plus fréquemment associé à ce virus. Les protéines caractéristiques de l'état de la latence II de EBV sont retrouvées dans le NPC ce qui illustre que EBV peut persister *in vivo* dans les cellules épithéliales à un stade latent, contrairement au cas des leucoplasies orales chevelues.

La première étape du processus de malignité serait due à des anomalies génétiques qui permettraient la pénétration et la persistance de EBV dans les cellules.

Le traitement de ce cancer repose principalement sur de la radiothérapie avec ou sans chimiothérapie, tout en considérant que l'espérance de vie reste faible, notamment lorsque la tumeur a dépassé 2cm.

#### 2.4.5. Le Lymphome de Hodgkin

La maladie de Hodgkin est due à une prolifération des lymphocytes B, elle est associée à EBV dans près 40 % des cas, 100% chez les VIH positifs. Cette pathologie peut être définie par la destruction partielle ou totale de l'architecture des ganglions, induite par la prolifération

anormale de la cellule de Reed-Sternberg n'exprimant pas les récepteurs de surface habituels sur les LB. Les facteurs EBNA-1, LMP-1 et LMP-2 sont détectés dans les cellules HRS caractérisant une latence de type II. EBV est détecté dans 30 à 50% des cellules HRS dans les pays occidentaux et dans 90% des cas dans les pays en développement. Cette maladie se déclenche le plus souvent chez le jeune adulte et présente un second pic d'incidence autour de 45 ans. Sa survenue est 3 à 6 fois supérieure chez les patients VIH.

Les lymphomes de Hodgkin sont traités par chimio et radiothérapie ; le taux de guérison est de 65 à 90% en fonction du stade d'avancement de la maladie

## 2.5. Implication des cellules épithéliales dans la transmission EBV

Les cellules épithéliales orales (CE) auraient un rôle amplificateur de EBV dans l'excrétion orale du virus.

Ces cellules sont souvent infectées par EBV et peuvent servir d'important réservoir oral de cellules infectées EBV latentes.

Trois modèles différents ont été proposés pour expliquer comment l'EBV entre dans les cellules épithéliales: (1) "transfert d'infection", médié par des lymphocytes B ou des cellules de Langerhans ; (2) EBV utilise ses propres protéines pendant le processus de fusion avec la membrane cellulaire; Et (3) des virions de progéniture issus de cellules épithéliales infectées par EBV traversent des membranes latérales dans des cellules épithéliales adjacentes (Zuo et al. 2014).

Le niveau d'infection par EBV est corrélé à la sévérité de la maladie. Dans les tissus enflammés, les cellules épithéliales infectées par EBV apparaissent comme apoptotiques. La présence de EBV semble aggraver la situation inflammatoire locale en activant la production de chimiokines inflammatoires, dont CCL20, qui contrôle l'infiltration tissulaire de nombreuses cellules immunitaires.

D'après une étude récente, le virus EBV serait excrété continuellement dans la salive à un taux élevé et remplacé dans les 2 minutes, cela montre donc que la production de LB infectés n'est pas suffisante pour expliquer les niveaux très importants de charge virale salivaire (Hadinoto et al. 2009).

Le virus relargué par les plasmocytes lors de cycle lytique infecte les CE de l'anneau de Waldeyer qui forment alors une plaque de cellules infectées, ce qui amplifie considérablement la quantité de virus excrété.

**Une pathologie liée à EBV pourrait impliquer l'infection massive des cellules épithéliales, établissant un premier modèle de réplication épithéliale EBV *in vivo*, chez des individus en bon état de santé (Vincent-Bugnas et al. 2013).**

**Ainsi les cellules épithéliales joueraient un rôle important dans la production et la biologie de EBV dans l'organisme.**

## 2.6. Les traitements actuels anti-EBV

A l'heure actuelle il n'existe pas de traitement anti-EBV.

Cependant des drogues sont utilisées pour lutter contre les infections herpétiques, agissant sur l'ADN polymérase virale et ciblant donc le cycle lytique. Il s'agit d'analogues des nucléosides comme l'*aciclovir* (inhibiteur de l'élongation de la chaîne d'ADN), d'analogues des nucléotides comme le *cidofovir* (inhibiteur compétitif ou substrat alternatif au niveau des ADN polymérase des herpès virus), ou encore des analogues des pyrophosphates comme le *foscarnet* (inhibiteur non compétitif avec les substrats naturels de l'ADN polymérase virale).

Dans le cas de la MNI, les symptômes apparaissant qu'après répllication virale, le bénéfice du traitement par l'aciclovir est nul car il faudrait idéalement agir en amont du développement des signes de la pathologie.

Concernant les cas de leucoplasie orale chevelue, on observe généralement une bonne réponse au traitement par *aciclovir* ou *valacyclovir*, mais également des rechutes fréquentes à l'arrêt du traitement (Walling 2000).

Il a également été observé qu'un traitement prophylactique de 30 jours par *ganciclovir* diminue de 38% le risque d'apparition d'un syndrome lymphoprolifératif (du au virus EBV) post-transplantation dans la première année suivant la greffe.

Les antiviraux actuellement connus ont tous une activité inhibitrice de la répllication de EBV, mais aucun d'entre eux n'est connu pour traiter cliniquement l'infection par le virus, en particulier lors de la primo-infection.

Sur le plan vaccinal, deux approches de vaccins indépendants sont en cours de développement pour prévenir ou contrôler les maladies associées à l'EBV. La première approche, qui a été largement couronnée de succès contre d'autres infections virales, vise à induire une réponse d'anticorps de neutralisation virale pour empêcher une infection primaire. La deuxième approche se concentre sur l'induction de l'immunité à médiation cellulaire pour contrôler les cellules infectées latentes chez les individus infectés de manière persistante (Smith et Khanna 2015).

Il existe également la lymphothérapie adaptative anti-EBV, qui a pour objectif d'améliorer l'immunité cellulaire anti-tumorale du patient en utilisant la réinjection de lymphocytes autologues cytotoxiques (CD4+ et CD8+) contre certains antigènes spécifiques de EBV.

### **3. Implication du virus Epstein Barr dans la maladie parodontale**

#### **3.1. EBV et la maladie parodontale**

Des études récentes ont été réalisées dans le but de mettre en évidence l'implication des virus herpétiques et plus particulièrement de virus EBV dans la survenue et la gravité des maladies parodontales.

La haute prévalence de HSV-1 et EBV dans le fluide gingival des patients atteints de gingivite et parodontite chronique suggère une forte association entre ces virus et les maladies parodontales et que le traitement parodontal peut conduire à une réduction de ces virus dans les sites infectés (Shah et Mehta 2016).

HSV-1 et EBV sont significativement associés à la destruction osseuse dans les maladies parodontales (chroniques et agressives). De plus, HSV-1 serait associé à la sévérité et la progression de la maladie parodontale (DAS 2012).

En 2015, une étude met en évidence que l'association entre patients atteints de parodontite chronique et HSV-1, HSV-2, EBV et CMV est respectivement de 28% ; 32% ; 30,66% et 37,33%. EBV a été détecté dans tous les types de parodontite chronique et bien que ce virus ne soit pas significativement associé à la parodontite, il y a une hausse significative de celui-ci dans les parodontites sévères. Donc, ces virus herpétiques ont été significativement associés aux maladies parodontales, d'autant plus que celles-ci sont sévères.

Ils sont donc soupçonnés de jouer un rôle dans l'augmentation de la sévérité de la maladie (Kazi et al. 2015).

Les résultats d'une récente méta-analyse, suggèrent que EBV et CMV sont significativement associés aux parodontites chroniques (Zhu 2016).

De plus, la combinaison de ces deux virus jouerait un rôle pathogène important dans le cas

des parodontites. En effet, un grand nombre de patients CMV + sont également EBV + (28.3%) et seulement 9.1% des patients CMV - sont EBV + chez les patients atteints de parodontite chronique. Les patients atteints de parodontite chronique étant positif au virus EBV ont une profondeur de poche et une perte d'attache plus importante. Ces résultats suggèrent que le virus peut être précurseur de la maladie et que la combinaison de 2 virus pourrait jouer un rôle pathogène (Joshi et al. 2015).

Dans une autre étude, sur 60 échantillons de tissu sous-gingival prélevé sur des patients atteints de parodontite chronique, la quantité EBV est plus élevée dans les échantillons de poches parodontales de plus de 6mm. Egalement, le plus haut niveau de charge virale CMV est retrouvé dans la salive de patients présentant des poches parodontales supérieures à 6mm. Ainsi, selon les résultats de cette étude, la quantification de EBV et CMV est plus élevée dans les échantillons de tissu parodontal issus de patients atteints de parodontites chroniques sévères (Khosropanah et al. 2015).

Des études ont visé à détecter si la présence du virus est plus significative dans le cas des parodontites chroniques ou agressives. On note une prévalence de 45% de CMV et EBV1 dans les cas de parodontite agressive. La prévalence de CMV dans les cas de parodontite chronique et chez les patients sains était de 20% et 10% respectivement, tandis que pour EBV1 elle était de 25% et 0% respectivement. En terme de comparaison entre les paramètres cliniques et la présence du virus, tous les sites positifs à EBV 1 et CMV montrent une plus grande profondeur de poche par rapport aux sites négatifs. Cette étude met en évidence que la prévalence de EBV1 était plus importante dans les cas de parodontite chronique et agressive comparé au groupe contrôle (patients sains) et la prévalence de CMV était plus importante chez les patients atteints de parodontite agressive. Les sites positifs au virus montrent une plus grande profondeur de poche par rapport aux sites négatifs (R. Sharma 2012).

**Les études s'accordent donc sur une prédominance virale de EBV dans les sites parodontalement atteints, et sur une corrélation de la présence du virus avec la gravité de l'atteinte parodontale.**

Des preuves importantes suggèrent que la présence de plusieurs souches de virus dans l'environnement parodontal, et des mécanismes possibles ont été suggérés. La maladie parodontale comme facteur de risque dans des maladies systémiques peut aussi être mieux expliquée par cette étiologie virale. Les preuves d'un rôle causal des virus herpétiques dans la parodontite peuvent révolutionner les stratégies diagnostiques existantes, la prévention et le traitement de ces maladies (Ambili et al. 2014).

De plus, la présence de EBV est retrouvée dans des cas de pathologies implantaire. En effet, les lésions péri-implantaires seraient jusqu'à 3 fois plus porteuses de EBV que l'espace péri-implantaire sain et la salive. EBV serait donc un candidat potentiel à l'étiopathogénicité des péri-implantites. La synergie entre herpès-virus et bactéries peut favoriser les micro-bactéries dans la maladie péri-implantaire et exacerber leur progression. L'infection EBV pourrait expliquer le manque de réponse au traitement des péri-implantites, et suggérer l'éventuel recours à une thérapie antivirale (Verdugo et al. 2015).

Des interventions thérapeutiques et prophylactiques planifiées contre ces virus pourraient diminuer la perte dentaire associée à cette maladie (Kazi et al. 2015).

Le traitement au laser Nd-YAG, des poches parodontales, a produit de réels bénéfices chez les patients infectés par EBV : 78,2% des poches EBV + sont devenues EBV - après le traitement. : les résultats de cette étude préliminaire surlignent que EBV est plus fréquemment présents dans les poches parodontales des patients atteints de parodontite que HSV1 et

supporte la théorie que EBV pourrait avoir un rôle dans la progression des maladies parodontales. De plus, les données ont montré que le traitement parodontal au laser Nd-YAG est également efficace dans les cas d'infection virale, ce qui valide le fait qu'il serait une approche alternative à la thérapeutique parodontale conventionnelle (Martelli et al. 2015).

### 3.2. Association viro-bactérienne

La présence virale pourrait promouvoir l'initiation et la progression de certains cas de parodontite, en co-infection avec des bactéries, notamment les bactéries parodontopathogènes connues (Pg et Aa).

Chez des patients atteints de parodontite chronique, la coexistence de EBV et *P. gingivalis* est significativement plus importante dans les sites ayant une grande profondeur de poche (Kato et al. 2015). La synergie viro-bactérienne entre Pg, Tf, EBV-1 et CMV dans la pathogénèse de la parodontite chronique a également été soulignée par Chalabi et corrobore d'anciennes conclusions d'études précédentes (Chalabi et al. 2010), (Figure 11).

Microorganisms	Detection frequency			Significance ( <i>P</i> -value)		
	HC	CP (≤3 mm)	CP (≥5 mm)	HC vs. CP (≤3 mm)	HC vs. CP (≥5 mm)	CP (≤3 mm) vs. CP (≥5 mm)
EBV	18 (45%)	41 (48%)	56 (66%)	0.44	0.022*	0.015*
<i>P. gingivalis</i>	16 (40%)	34 (40%)	55 (65%)	0.58	0.008**	0.001**
<b>EBV + <i>P. gingivalis</i></b>	<b>5 (13%)</b>	<b>12 (14%)</b>	<b>34 (40%)</b>	<b>0.52</b>	<b>0.0013**</b>	<b>0.0001**</b>

Statistically significant;  $P < 0.01$ \*\*,  $P < 0.05$ \*; HC, healthy controls; CP, chronic periodontitis.

Figure 11: Présence d'ADN de l'EBV et de bactéries parodontopathogènes dans les échantillons sous-gingivaux de patients sains et de patients atteints de parodontite chronique. D'après l'article de Chalabi, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3753341/>

Les virus peuvent exacerber les effets parodontopathogènes en causant une suppression immunitaire locale, donnant un avantage aux bactéries parodontales pour coloniser la zone sous-gingivale et se multiplier. Effectivement, l'interaction de CMV et EBV dans l'établissement des bactéries parodontales (Pg et Aa) a été évaluée dans la pathogénicité des parodontites, notamment agressives, à l'aide de la PCR. La co-infection viro-bactérienne a été retrouvée à 77,78% ( $P = 0,0002$ ) avec Aa et CMV (S. Sharma et al. 2015).

**II. Bases**  
**Fondamentales**  
**de l'étude**

## **1. Introduction**

Selon des études précédemment menées et publiées par l'équipe du Dr Doglio, laboratoire Micoralis, EA7354, il a été démontré que les cellules épithéliales parodontales infectées par EBV seraient statistiquement beaucoup plus sensibles à l'apoptose et produiraient des facteurs inflammatoires comme la chimiokine CCL20 (Vincent-Bugnas et al. 2013). Il est admis que l'inflammation parodontale et la présence de virus épithéliaux est directement corrélée, et particulièrement pour la famille de virus herpétiques (CMV, EBV...). Il est proposé dans la littérature que les maladies parodontales résultent principalement d'un mécanisme synergique qui associe virus et bactéries.

En 2011, cette même équipe avait publié une étude démontrant que la présence de cellules infectées par EBV (lymphocytes B ou cellules épithéliales) provoquait le recrutement massif de cellules dendritiques au contact des cellules infectées (Braz-Silva et al. 2011).

**Les sites infectés par EBV seraient donc le siège de perturbation de l'équilibre immunitaire local.**

Suite à ces travaux mettant en avant la synergie viro-bactérienne dans la survenue et la gravité des pathologies parodontales, le but de cette étude est d'évaluer l'impact du traitement parodontal sur le virus Epstein Barr.

En effet, il est pour nous intéressant de voir si l'élimination de la plaque, du tartre sous gingival et la motivation à l'hygiène des patients, à des fins thérapeutiques pour stopper la progression de la parodontite, permettraient de diminuer la quantité d'ADN EBV dans les sites concernés.

Une thérapeutique initiale parodontale conventionnelle pourrait-elle diminuer la prévalence du virus que ce soit dans la salive ou dans les épithélia de poche des patients atteints de parodontite chronique ?

Tel est l'objectif de cette étude clinique préliminaire, réalisée au sein du département de parodontologie de l'Hôpital Saint Roch à Nice, dont le CHU s'est porté promoteur et enregistrée sous le numéro : *N° ID RCB : 2014-A00229-38 - N°: 13-GIRCI-01*

## **2. Objectif**

Le but de cette étude est de corréler l'action du traitement parodontal avec l'évolution de la charge virale EBV au sein de la salive du patient et des poches parodontales.

## **3. Matériel et méthode**

### 3.1. Méthode de recrutement et de prélèvement

#### 3.1.1. Recrutement des patients :

Les patients recrutés pour cette étude l'ont été selon des critères d'inclusion et de non inclusions précis décrits ci-dessous. (Annexe 2).

- Critères d'inclusion des sujets :
  - Patients  $\geq$  18 ans

- Pas de traitement en cours radio ou chimiothérapeutique pour cancer
  - Patients suivis et traités pour parodontopathie
  - Patients affiliés ou bénéficiaires d'un régime de sécurité sociale
  - Patients ayant donné son consentement éclairé par écrit
- Critères de non inclusion
    - Patients traités par chimiothérapie néo-adjuvante, adjuvante ou concomitante
    - Patients sous immunosuppresseurs après greffe d'organe
    - Prise d'anticoagulants incompatible avec les prélèvements odontologiques (saignements éventuels)
    - Patient présentant ou ayant présenté un cancer des voies aéro-digestives supérieures traité par radiothérapie.
    - Patients édentés et/ou dont l'état bucco-dentaire est incompatible avec les prélèvements odontologiques

### 3.1.2. Méthodologie des prélèvements

- Prélèvement de la Salive :

Un prélèvement salivaire (1 à 2 ml) a été réalisé pour l'extraction à suivre des ADN nucléiques viraux. Le patient n'a rien mangé, ni bu, 30 minutes avant le prélèvement. Un rinçage buccal à l'eau a lieu 15min avant le prélèvement.

Chaque tube de salive collecté est congelé à -20° avant la préparation des acides nucléiques.

- Prélèvement de l'épithélium de poche

Pour chaque patient, 2 prélèvements ont été réalisés : un prélèvement lors du surfaçage, un lors de la réévaluation (un à deux mois après le premier prélèvement). Le site de prélèvement est choisi avec précision et sera le même les deux fois, à savoir le site où la profondeur de poche est la plus importante. Ceci afin de réduire les biais et d'augmenter la précision de l'étude, **le but étant d'évaluer la prévalence du virus avant et après traitement.**

Les cellules présentes dans la poche parodontale ont été collectées de manière non invasive par grattage à l'aide d'une curette de Gracey adaptée au site de prélèvement et stérile.

Chaque prélèvement est déposé dans 2 ml de tampon de lyse de  $\beta$ -Mercaptoéthanol, et conservé à -20°.

## 3.2. Méthode d'extraction des prélèvements

### 3.2.1. Protocole d'extraction d'ADN à partir des échantillons de salive

L'extraction d'ADN à partir des échantillons de salive des patients a été réalisée à l'aide du kit : QIAamp DNA Mini Kit (Cat. No. : 51304), selon le protocole suivant :

### → Etape 1 : Transfert des échantillons de salive

Décongélation des échantillons dans la glace puis à température ambiante (30 à 60min)  
Agitation des échantillons afin de solubiliser les mucides, et transfert dans des tubes Eppendorfs avant stockage à -20°C

### → Extraction avec le QIAamp DNA Mini Kit et les contrôles des Kits R-Gene

Prélever 20µL de protéinase K dans un tube de 1,5mL :

- Ajouter 200µL d'échantillon au tube de 1,5ml
- Ajouter 10µL d'IC2 (R-Gene Kit) à l'échantillon
- Ajouter 200µL de tampon AL à l'échantillon

Agiter le mélange obtenu durant 15s

Laisser incuber pendant 10min à 56°C

Centrifuger le tube de 1,5mL

Ajouter 200µL d'Et-OH (96-100%) à l'échantillon et agiter durant 15s, puis centrifuger.

Transférer le contenu du tube dans la QIAamp Mini Spin Column, centrifuger 1min à 8000rpm. Placer la colonne dans un nouveau tube de 2mL et se débarrasser du contenu filtré.

Ajouter 500µL de tampon AW1.et centrifuger 1min à 8000 rpm

Placer la colonne dans un nouveau tube de 2mL et se débarrasser du contenu filtré.

Ajouter 500µL de tampon AW2.et centrifuger 3min à vitesse maximale.

Placer la colonne dans un nouveau tube de 2mL et se débarrasser du contenu filtré.

Centrifuger 1 min à vitesse maximale.

Placer la QIAamp Mini Spin Column dans un tube neuf de 1,5mL et jeter le contenu précédemment filtré. Ajouter 100µL de tampon AE.

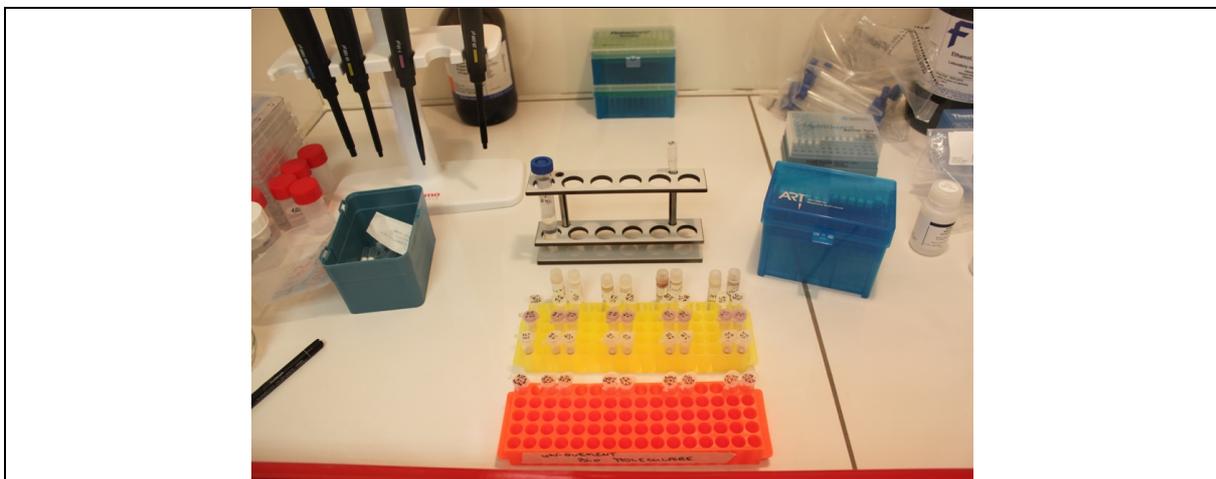
Laisser incuber pendant 5 min à température ambiante (15-25°C).

Centrifuger 1min à 8000 rpm. Conserver l'éluat à -20°C.

### 3.2.2. Protocole d'extraction d'ADN à partir des échantillons d'épithélium de poche

L'extraction d'ADN à partir des échantillons d'épithélium de poche des patients a été effectuée à l'aide du kit AllPrep DNA/RNA Mini (Cat. N°80204):

### → Etape 1 : Préparation des échantillons et du matériel



- Décongélation des échantillons :

Les décongeler à -20°C pendant 5min puis à 4°C pendant 10min et enfin à la température ambiante (15-25°C) pendant 15min.

- Préparation du RLT Plus Buffer

Préparer 3ml de RLT Plus Buffer + 1%  $\beta$ -ME (30 $\mu$ l de  $\beta$ -ME + 2970 $\mu$ L de RLT Buffer)

- Préparation du Buffer RLT + IC2 et des Échantillons + IC2

Préparer l'Eppendorf Buffer RLT + IC2 avec : 350 $\mu$ l de Buffer RLT + 1%  $\beta$ -ME et 10 $\mu$ l d'IC2

Puis préparer les Eppendorfs Échantillons + IC2 avec : 110 $\mu$ l d'Échantillon, 240 $\mu$ l de de Buffer RLT + 1%  $\beta$ -ME et 10 $\mu$ l d'IC2

**→ Etape 2 : Dissociation et Homogénéisation des échantillons**

Dissocier les prélèvements et l'IC2 en agitant au moins 1min et laisser incubé pendant 15min à température ambiante.

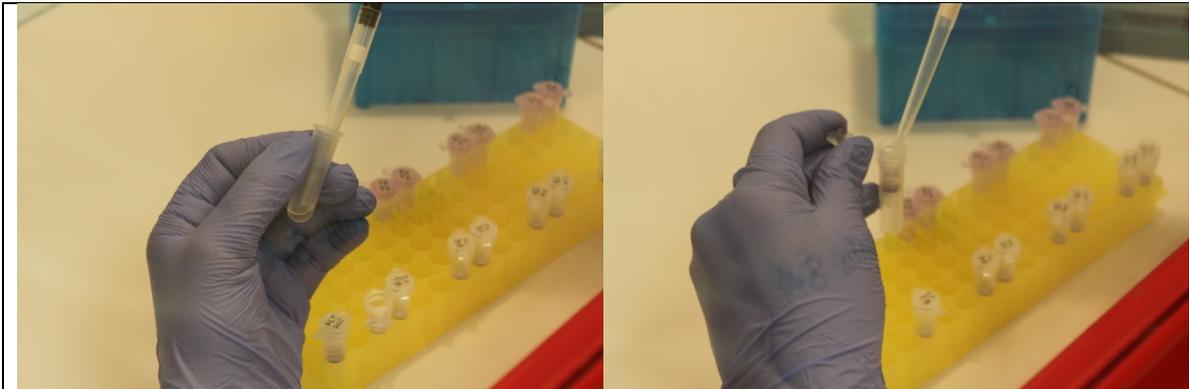
Prélever le lysant dans colonne (QIAshredder Spin), le transférer dans un tube de 2ml



Centrifuger pendant 2min à vitesse maximale (13200rpm)



Transférer le Lysat homogénéisé dans une colonne (AllPrep DNA Spin Column) avec un tube de collection de 2ml



Centrifuger pendant 60s à  $\geq 8000g$  ou  $\geq 10000rpm$

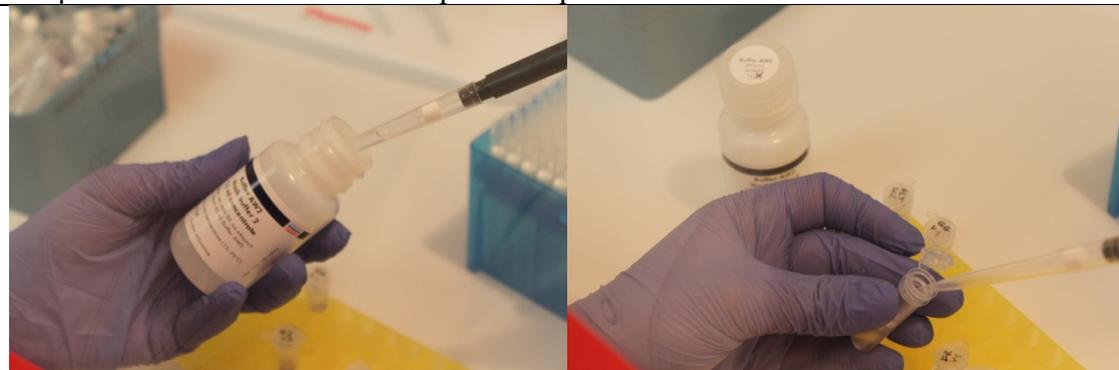
Placer la AllPrep DNA Spin Column dans un nouveau tube de 2ml

### → Etape 3 : Purification de l'ADNg

Ajouter 500 $\mu$ l de AW1 Buffer à la AllPrep DNA Spin Column



Centrifuger pendant 15s à  $\geq 8000g$  ou  $\geq 10000rpm$  et jeter le Flow-Through et ajouter 500 $\mu$ l de AW2 Buffer à la AllPrep DNA Spin Column

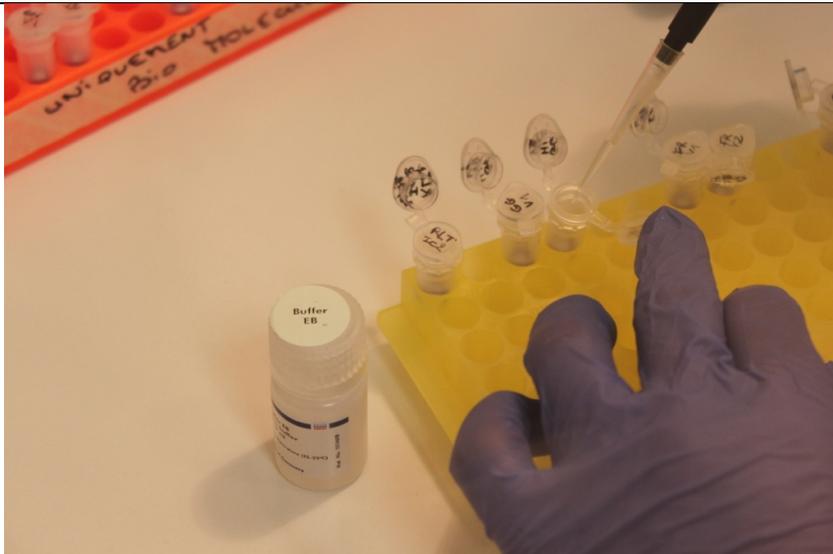


Centrifuger pendant 2min à vitesse maximale (13200rpm) et placer la AllPrep DNA Spin Column dans un nouveau tube de 1.5ml



Note : Éviter le contact entre la colonne et le Flow-Through.

Ajouter 50 $\mu$ l de EB Buffer (pré-chauffé à 70°C) directement sur la Spin Column Membrane



Incuber pendant 2min à température ambiante, puis centrifuger pendant 1min à  $\geq 8000g$  ou  $\geq 10000rpm$  pour éluer l'ADN  
Conserver l'Extraction d'ADN à -20°C

#### **4. Méthode d'analyse des prélèvements**

##### 4.1. Nanodrop = quantification et pureté de l'ADN extrait

Le dosage d'acides nucléiques est un point fondamental : c'est le premier « monitoring » important d'une expérience de biologie moléculaire.

Les spectrophotomètres NanoDrop™ permettent de réaliser des spectres d'absorbance pour micro-volume sans cuvette ni capillaire. Ils permettent des mesures sur une large gamme de longueurs d'onde pour l'analyse des spectres dans le visible et l'UV (Figure 12). La concentration, le plus souvent en  $ng.\mu L^{-1}$ , est déduite. La méthode spectrophotométrique (comparée à la méthode fluorométrique, plus sensible) fournit des informations que l'on tire des ratios suivants :

**Ratio A260/A280** : un ratio de 1,80 (+/- 0,1) permet de qualifier une extraction d'ADN comme pure, ce ratio se situe autour de 2,0 pour une extraction d'ARN (+/- 0,1). Si ce ratio est inférieur cela signifie que l'extraction est polluée par des protéines et/ou des composés phénoliques

**Ratio A260/A230** : la valeur attendue de ce ratio se situe entre 2,0 et 2,20. Si ce ratio est plus faible cela indique nécessairement qu'un composé absorbe à 230 nm. Ces composés peuvent le plus souvent être de l'EDTA, des sucres, et encore une fois le phénol et particulièrement le TRIZOL reagent.

Ces valeurs de ratios donnent une indication quant à la présence d'éventuels inhibiteurs qui viendraient perturber le devenir des acides nucléiques (« NanoDrop-Spectrophotometers-Nucleic-Acid-Purity-Ratios » 2017).

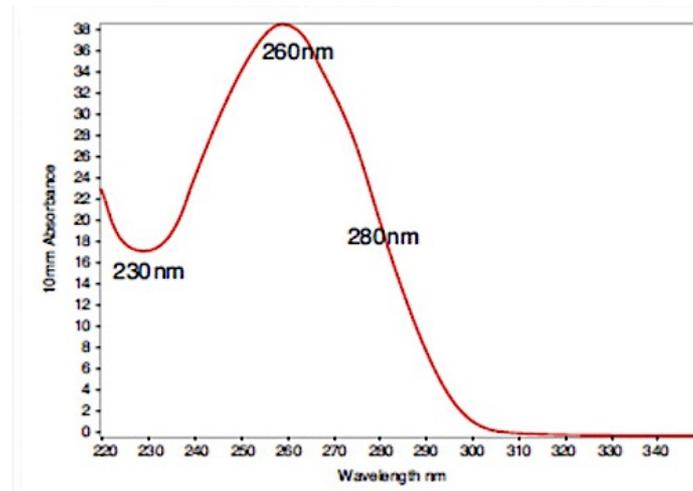
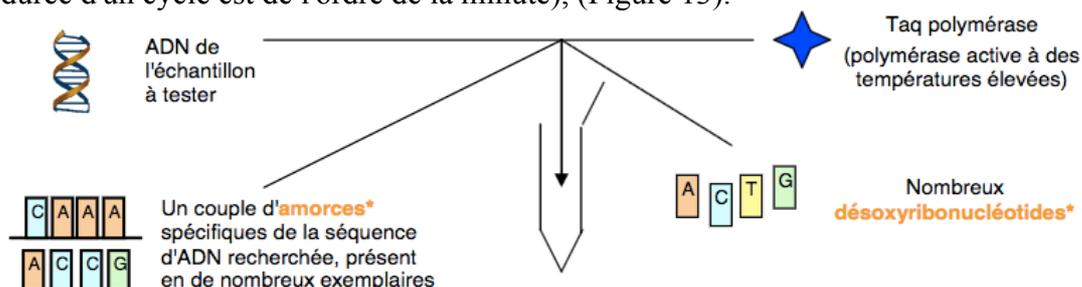


Figure 12 : Spectre d'absorption caractéristique d'ADN pur  
<http://www.ozyme.fr/ressources/cyberlettres/techozyme/techozyme31-quantification-acides-nucleiques.asp>

#### 4.2. q-PCR = détection des virus dans l'ADN extrait

La **PCR quantitative** (ou q-PCR), ou **PCR en temps réel**, est une méthode particulière de réaction en chaîne par polymérase permettant d'obtenir, à partir d'un échantillon complexe et peu abondant, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique et de longueur définie. Elle mesure le nombre d'amplicon (portion d'ADN définie par un couple d'amorces). Il s'agit de réaliser une succession de réactions de réplication d'une matrice double brin d'ADN.

Chaque cycle de PCR comprend trois étapes : une **dénaturation** par chauffage de l'ADN pour séparer les deux brins le composant, une **hybridation** des amorces aux extrémités de la séquence recherchée, puis une **élongation** grâce à une ADN polymérase. Ce cycle est répété de nombreuses fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible (la durée d'un cycle est de l'ordre de la minute), (Figure 13).



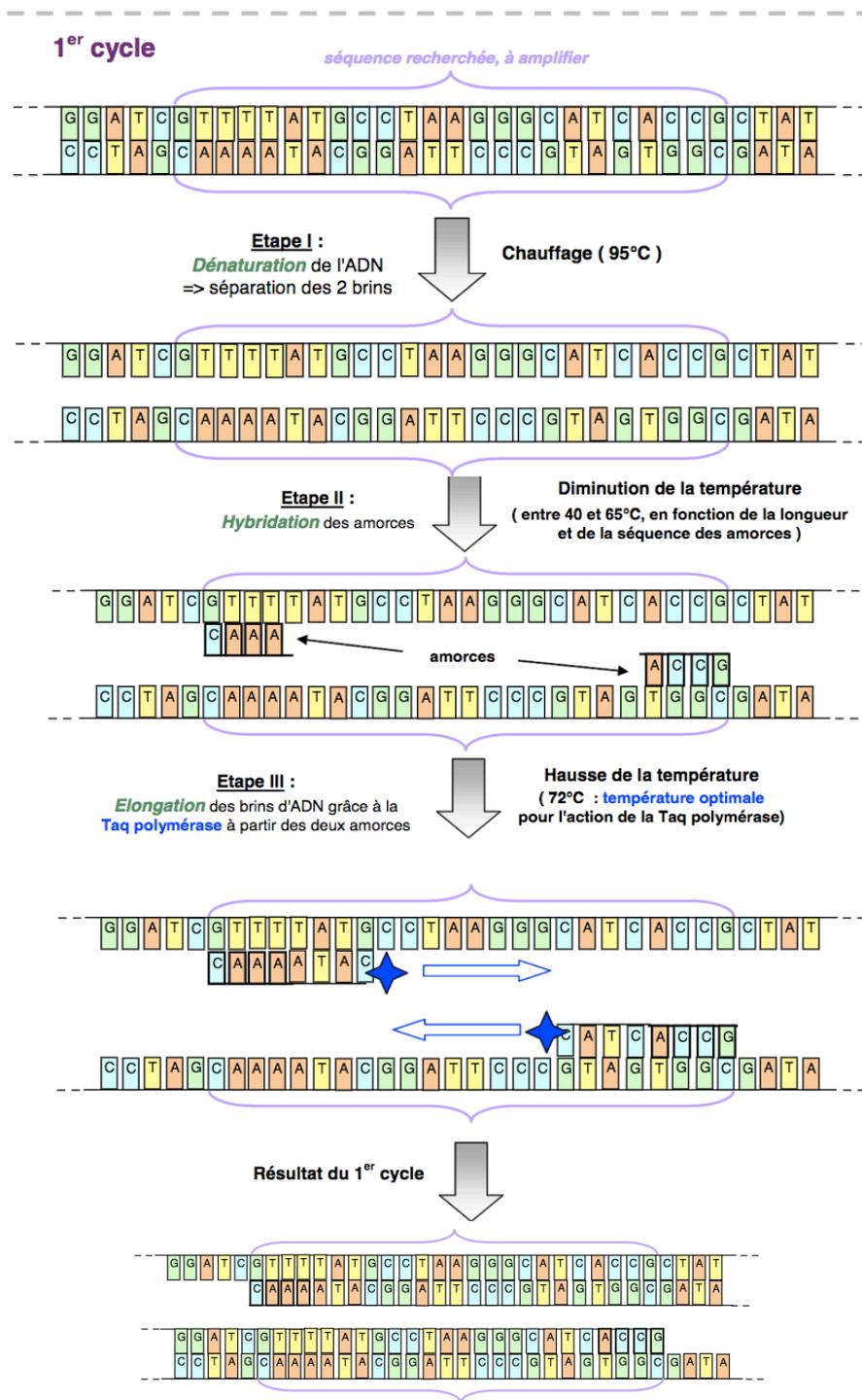


Figure 13 : Schématisation de la PCR

[http://bibliomer.ifremer.fr/documents/fiches/fiche\\_ensavoirplus\\_lien\\_PCR\\_vf.pdf](http://bibliomer.ifremer.fr/documents/fiches/fiche_ensavoirplus_lien_PCR_vf.pdf)

Les principaux marqueurs viraux EBV et CMV et l'expression des marqueurs cellulaires seront quantifiés par qRT-PCR à partir des ADN extraits *in vivo* ou *in vitro*. Ces méthodes et techniques ont déjà été largement validées par l'équipe du laboratoire Micoralis. L'utilisation de kits standardisés commerciaux (PCR EBV, CMV) permet de quantifier simplement les charges virales salivaires, dans le cadre de notre étude, le kit utilisé est : **EBV R-gene**<sup>®</sup> des laboratoires Argene.

# **III. Résultats**

# 1. La salive : reflet de la situation buccale globale

## 1.1. Qualité des extractions de salive

Lors des analyses des résultats obtenus à partir des extractions de salive, nous avons observé de nombreux facteurs, dont la variabilité des concentrations et les ratios énoncés dans la partie sur le nano-drop, permettant de dire si l'extraction est polluée par d'éventuels inhibiteurs.

Nous avons mis en lumière que :

- Les concentrations sont très variables d'un patient à l'autre
- Les concentrations sont très variables d'une visite à l'autre pour un même patient
- Les ratios A260/A280 sont corrects pour l'ensemble des extractions, ce qui indique que la qualité de l'extraction est correcte.
- Les ratios A260/A230 sont très variables et peu cohérents, nous pouvons ainsi nous demander si d'éventuels nutriments ont pu dégrader la pureté de l'ADN extrait.

De façon générale, les extractions sont correctes (malgré les Ratios A260/A230) et les ADN ont pu être utilisés pour de la q-PCR avec les Kits R-Gene.

## 1.2. Bilan salivaire après q-PCR

### 1.2.1. Evolution clinique

Parmi les 23 patients retenus (après exclusion de 2 patients pour des raisons administratives), 8 sont atteints de parodontite qualifiée d'avancée ou sévère, les 15 restants étant atteints de parodontite débutante ou modérée.

Trois indices parodontaux ont été utilisés, afin d'évaluer la gravité de la parodontite et également pour mesurer l'évolution de la pathologie (Tableau 3) :

- **Profondeur de poche** : nous observons une diminution de la profondeur moyenne de poche chez 22 patients sur 23, de plus, cette diminution s'avère importante chez 10 patients sur 23, soit près de la moitié de notre échantillon.
- **Indice de plaque** : dans notre panel, 5 patients présentaient initialement un indice de plaque moyen supérieur ou égal à 2, leur hygiène buccale n'était pas satisfaisante. A la réévaluation et après une motivation à l'hygiène, l'indice de plaque a diminué et seulement un patient présente un indice supérieur à 1.
- **Niveau d'attache** : dans le cas de 12 patients, nous remarquons un gain d'attache supérieur ou égal à 1, ce qui est un résultat clinique très encourageant dans le traitement de la parodontite.

Ainsi nous pouvons dire que cliniquement, les résultats obtenus par la thérapeutique initiale non chirurgicale (détartrage + surfaçage et polissage radiculaire) sont satisfaisants, tant au point de vue de la diminution de la profondeur de poche, du gain d'attache mais également de l'hygiène globale du patient.

A l'issue de l'étude, on note donc une bonne réponse clinique au traitement parodontal, ce qui nous permettra une mise en relation pertinente de la clinique et de la biologie.

Patient	Initiales	Sexe	tabac	Age	Données cliniques initiales					Réévaluation			
					Indice de plaque moy	Indice gingival moy	niveau d'attache clinique moy	profondeur de poche au sondage moy	atteinte paro	Indice de plaque moy	profondeur de poche au sondage	Gain d'attache moy	Diminution des pps moy
4	SC	F	x	62	0	0	3	3	débutante	0	3	2	0
22	FR	F	x	78	1	1	5	4	modérée	1	3	0	1
24	FR	H	x	28	1	0	4	4	modérée	1	3	1	1
2	CM	F	x	67	1	2	5	4	modérée	1	2	0	2
3	MM	H	x	63	0	1	4	4	modérée	0	3	1	1
5	LN	F	x	54	0	0	4,5	4	modérée	0	2	1,5	2
9	TV	F	x	72	3	1	4	4	modérée	1	3	1	1
10	LC	F	x	65	0	2	4	4	modérée	0	3	1	1
11	BJ	F	x	65	0	2	4	4	modérée	0	3	2	1
1	BS	F	x	38	1	2	6	5	modérée	1	4	0	1
12	DR	F	Oui	43	1	2	4	5	modérée	1	3	0	2
14	GG	H	Oui	49	2	2	4	5	modérée	2	4	0	1
16	MP	H	Oui	44	1	1	5	5	modérée	1	4	0	1
19	PG	H	Oui	36	1	2	6	5	modérée	1	4	0	1
21	LG	F	x	87	0	1	6	5	modérée	0	3	1	2
25	VE	F	x	51	0	0	5	5	avancée	0	4	0	1
8	CN	F	Oui	47	1	0	5	6	avancée	1	4	1	2
13	VM	F	Oui	65	1	0	5	6	avancée	1	4	0	2
18	LT	H	x	53	1	2	6	6	avancée	1	3	1	3
6	CC	F	x	63	3	3	4	7	sévère	1	4	2	3
7	PG	H	Oui	49	2	0	5	7	sévère	0	4	1	3
15	MM	F	x	71	1	2	6	7	sévère	1	6	0	1
23	TB	F	x	50	2	1	8	7	sévère	0	4	0	3

Tableau 3 : Synthèse des résultats cliniques

### 1.2.2. Analyse du bilan salivaire

Suite à la qPCR, nous avons pu établir un tableau afin de définir la quantité de copies d'ADN EBV par ml de salive à la première visite (lors du surfaçage) et à la seconde visite (lors de la réévaluation, c'est à dire 2 mois après le surfaçage) pour chaque patient et en tirer des conclusions en terme d'augmentation, stabilisation ou diminution de la charge virale EBV (Tableau 4).

Par abus de langage, mais pour des raisons didactiques, nous utilisons dans notre analyse des résultats les termes de :

- **patient « EBV+ »**, c'est à dire que le virus EBV est retrouvé **dans la salive**
- **patient « EBV- »**, c'est à dire, que le virus n'est pas retrouvé **dans la salive**

En effet, pour des raisons éthiques, nous n'avons pas réalisé de prise de sang à nos patients, dont la majorité doivent être porteur sain du virus (90% des patients EBV+ au niveau général).

Patient	Initiales	Sexe	tabac	Age	Bilan salives qPCR EBV		
					Quantité (Copies/ml de Salive) Visite 1	Quantité (Copies/ml de Salive) Visite 2	Conclusion
4	SC	F	x	62	0	0	EBV- à V1 / EBV- à V2
22	FR	F	x	78	553026	26785	Patient EBV+ / Diminution à V2
24	FR	H	x	28	38984	5355	Patient EBV+ / Diminution à V2
2	CM	F	x	67	1194550	0	EBV+ à V1 / EBV- à V2
3	MM	H	x	63	4399865	82734112	Patient EBV+ / Augmentation à V2
5	LN	F	x	54	379	4515	Patient EBV+ / Augmentation à V2
9	TV	F	x	72	309890	85248	Patient EBV+ / Diminution à V2
10	LC	F	x	65	0	0	EBV- à V1 / EBV- à V2
11	BJ	F	x	65	25708	4366	Patient EBV+ / Diminution à V2
1	BS	F	x	38	0	2389	EBV- à V1 / EBV+ à V2
12	DR	F	Oui	43	7106859	3549434	Patient EBV+ / Diminution à V2
14	GG	H	Oui	49	148357	6688752	Patient EBV+ / Augmentation à V2
16	MP	H	Oui	44	69718	13346	Patient EBV+ / Diminution à V2
19	PG	H	Oui	36	21556254	2127	Patient EBV+ / Diminution à V2
21	LG	F	x	87	907898	2138	Patient EBV+ / Diminution à V2
25	VE	F	x	51	11805	0	EBV+ à V1 / EBV- à V2
8	CN	F	Oui	47	168	1017433	Patient EBV+ / Augmentation à V2
13	VM	F	Oui	65	0	0	EBV- à V1 / EBV- à V2
18	LT	H	x	53	2054238	0	EBV+ à V1 / EBV- à V2
6	CC	F	x	63	1181392	68883	Patient EBV+ / Diminution à V2
7	PG	H	Oui	49	28281	5713	Patient EBV+ / Diminution à V2
15	MM	F	x	71	3602	96178	Patient EBV+ / Augmentation à V2
23	TB	F	x	50	1878681	81	Patient EBV+ / Diminution à V2

Tableau 4 : Bilan Salivaire

Les résultats obtenus sont les suivants : (Tableau 5 et Figure 14)

Synthèse charge virale salivaire	Nombre de Patients	Nombre Total de Patients	Proportion (%)
Patient EBV+ à V1, EBV- à V2	3	23	13,0
Patient EBV+ avec Diminution	11	23	47,8
Patient EBV - à V1 & V2	3	23	13,0
Patient EBV+ avec Augmentation	5	23	21,7
Patient EBV- à V1 puis EBV+ à V2	1	23	4,3

Tableau 5 : Evolution charge virale salivaire des patients

Proportion (%) de l'évolution de la contamination salivaire à l'échelle des patients

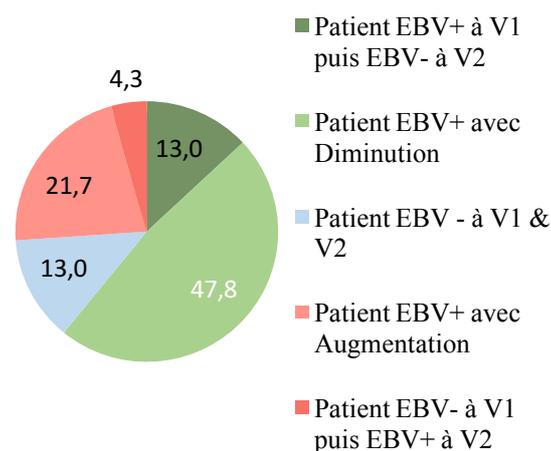


Figure 14 : Graphique de l'évolution de la charge virale salivaire

Sur les 23 patients :

- 3 d'entre eux présentaient une salive EBV négative (appelés patients EBV -) à la première visite et le sont restés à la réévaluation : ces patients ne nous apportent donc pas d'information particulière quant à l'évolution de la charge virale.

- Parmi les 20 autres patients présentant une salive EBV positive (appelés patients EBV +), 70% présentent une diminution de la charge EBV après traitement parodontal, et 30% une augmentation (Tableau 6 et Figure 15).

Des pistes de réflexion concernant ces augmentations seront évoquées plus tard dans la discussion.

Synthèse charge virale salivaire	Nombre de patients	Nombre total de patients	Proportion (%)
Diminution de la charge virale EBV	14	20	70
Augmentation de la charge virale EBV	6	20	30

Tableau 6 : Tableau synthétique de l'évolution de la charge salivaire EBV

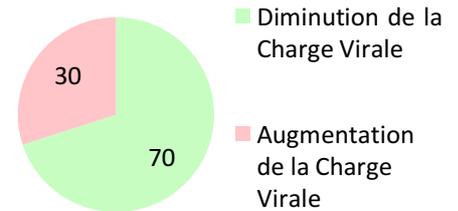


Figure 15 : Diminution et évolution de la charge EBV salivaire

## 2. Les épithélia de poche, reflet d'une situation *in situ*

### 2.1. Qualité des extractions d'épithélium de poche

Afin de savoir si les extractions des épithélia de poche ont pu être polluées, nous avons à nouveau analysé les ratios obtenus :

- Les ratios A260/A280 sont corrects (de l'ordre de 1,8 à 2) pour l'ensemble des extractions, ce qui indique que la qualité de l'extraction est bonne.
- Les ratios A260/A230 sont assez faibles et peu cohérents, nous pouvons ainsi nous demander si d'éventuels nutriments ont pu dégrader la pureté de l'ADN extrait. En effet, la faiblesse du ratio indique nécessairement qu'un composé absorbe à 230 nm. Ces composés, nous l'avons vu, peuvent le plus souvent être de l'EDTA, des sucres, le phénol et particulièrement le TRIZOL reagent. Cependant, des sucres, des phénols (type tanins) peuvent être retrouvés naturellement en bouche, ce qui laisserait à penser que l'ADN extrait, étant un composé prélevé en bouche, contient forcément des éléments faisant baisser ce ratio.

De façon générale, les extractions sont correctes (malgré les Ratios A260/A230) et les ADN ont pu être utilisés pour de la qPCR avec les Kits R-Gene.

### 2.2. Bilan après q-PCR

Le kit utilisé nous permettait également de détecter d'autres virus tels que HSV-1 et CMV :

- Concernant HSV-1 la majorité des patients est HSV-1 négatif aux visites 1 et 2, seuls 2 patients sortent du lot :  
 → GG H49 qui est négatif à V1 puis positif à V2 (0,24copies/ $\mu$ l d'ADN extrait soit

0,01copies/ng d'ADN)

→ PG H49 qui est positif à V1 (0,19copies/μl d'ADN extrait soit 0,007copies/ng d'ADN) puis négatif à V2.

Ces résultats ne sont pas très représentatifs car les quantités de copies détectées sont très faibles, nous les citons donc à titre indicatif.

- Concernant CMV, l'ensemble des patients est CMV négatif à V1 & V2.
- Les résultats qui nous intéressent sont ceux qui concernent le virus EBV, donc l'analyse est plus complexe (Tableau 7) :
  - 3 Patients EBV négatifs à la première visite sont positifs lors de la réévaluation
  - 3 Patients sont EBV positifs à V1 et V2 mais présentent une augmentation d'un facteur 10 minimum, soit une augmentation que l'on peut qualifiée de significative.
  - 6 Patients sont également EBV positifs à V1 et V2 mais cette fois l'augmentation est qualifiée de faible car nettement inférieur au facteur 10.
  - 5 Patients EBV négatifs tout au long de l'étude.
  - 2 Patients sont EBV positifs à V1 et V2 et présentent une diminution de charge inférieure à un facteur 10.
  - 1 Patient EBV positif à V1 et V2 présente également une diminution de charge, cette fois supérieure à un facteur 10.
  - 3 Patients EBV positifs à V1 puis EBV négatifs à V2.

Initiales	Age	Diminution des pps moy	Bilan poches qPCR EBV				Conclusion
			Prélèvement (dent, pps) Visite 1	Prélèvement (dent, pps) Visite 2	Quantité (copies/μl D'ADN extrait) Visite 1	Quantité (copies/μl D'ADN extrait) Visite 2	
SC	62	0	37 (pps à 9)	37 (pps à 7)	0	0	EBV- à V1 / EBV- à V2
FR	78	1	26 (pps à 7)	26 (pps à 4)	24258,40039	0	EBV+ à V1 / EBV- à V2
FR	28	1	26 (pps à 5)	26 (pps à 2)	340,4876099	1,07769227	Patient EBV+ / Diminution à V2
CM	67	2	25 (pps à 5)	21 (pps à 3)	0,921248555	1,550564647	Patient EBV+ / Augmentation à V2
MM	63	1	22 (pps à 10)	22 (pps à 8)	0,381311089	436,7167053	Patient EBV+ / Augmentation à V2
LN	54	2	26 (pps à 7)	26 (pps à 5)	0,33090359	0,849656582	Patient EBV+ / Augmentation à V2
TV	72	1	27 (pps à 8)	27 (pps à 7)	0	2,042250395	EBV- à V1 / EBV+ à V2
LC	65	1	47 (pps à 6)	26 (pps à 4)	0	0	EBV- à V1 / EBV- à V2
BJ	65	1	47 (pps à 7)	47 (pps à 6)	5,940976143	23,82302475	Patient EBV+ / Augmentation à V2
BS	38	1	26 (pps à 7)	26 (pps à 5)	0	8,138422966	EBV- à V1 / EBV+ à V2
DR	43	2	22 (pps à 7)	32 (pps à 4)	3,428714752	15,73376846	Patient EBV+ / Augmentation à V2
GG	49	1	46 (pps à 9)	46 (pps à 7)	2,603492737	2656,662109	Patient EBV+ / Augmentation à V2
MP	44	1	14 (pps à 5)	14 (pps à 8)	0,704492509	0,687895	Patient EBV+ / Diminution à V2
PG	36	1	32 (pps à 5)	43 (pps à 4)	0	0,326286137	EBV- à V1 / EBV+ à V2
LG	87	2	43 (pps à 8)	43 (pps à 6)	3,122500181	4,380105019	Patient EBV+ / Augmentation à V2
VE	51	1	11 (pps à 7)	11 (pps à 6)	0	0	EBV- à V1 / EBV- à V2
CN	47	2	43 (pps à 7)	43 (pps à 6)	0	0	EBV- à V1 / EBV- à V2
VM	65	2	33 (pps à 9)	33 (pps à 8)	0	0	EBV- à V1 / EBV- à V2
LT	53	3	46 (pps à 10)	23 (pps à 4)	2,815060139	4,600505829	Patient EBV+ / Augmentation à V2
CC	63	3	27 (pps à 9)	27 (pps à 7)	4,725069046	1,763676643	Patient EBV+ / Diminution à V2
PG	49	3	46 (pps à 8)	46 (pps à 5)	1915,22522	0	EBV+ à V1 / EBV- à V2
MM	71	1	37 (pps à 9)	16 (pps à 5)	0,574470162	44,21218491	Patient EBV+ / Augmentation à V2
TB	50	3	36 (pps à 10)	36 (pps à 7)	20,09087753	0	EBV+ à V1 / EBV- à V2

Tableau 7 : Bilan des épithélia de poche

Concernant le bilan des résultats des épithélia de poche, nous observons des résultats plus contradictoires de notre étude.

Les 5 patients négatifs lors des deux visites ne nous permettent pas de tirer de conclusion, cependant sur les 18 patients restants, seuls 6 patients présentent des résultats que nous pouvons qualifier de satisfaisants à la suite du traitement parodontal, soit un tiers des patients.

Une observation peut être faite concernant les diminutions de poches :

- Pour les 6 patients présentant une diminution ou disparition de charge, les poches diminuent de 2 à 3mm en moyenne
- Pour les patients présentant une augmentation ou apparition de la charge virale, les poches diminuent de 1 à 2mm en moyenne.

Nous pouvons ainsi conjecturer ici encore un lien entre les paramètres cliniques et la charge virale.

Quant aux augmentations, différents facteurs peuvent les expliquer et seront mis en lumière dans la partie discussion.

### **3. Analyse générale des résultats**

Nous n'avons pas corrélé les résultats du bilan salivaire avec les résultats du bilan de poche car il n'y avait pas de cohérence à cela.

En effet, le bilan salivaire nous informe sur une situation de la cavité buccale globale, tandis que le bilan de poche est plus précis car il s'intéresse à un site, les deux n'étant pas nécessairement liés.

Le bilan salivaire est encourageant, avec **70% de patients montrant soit une diminution, soit une disparition de la charge virale EBV après thérapeutique parodontale initiale.**

De plus, ces résultats semblent être fortement liés à une nette amélioration des facteurs cliniques parodontaux

Nous pouvons également noter que les meilleurs résultats ont été rencontrés majoritairement chez les patients présentant une atteinte parodontale qualifiée de « sévère ».

Les résultats obtenus à partir des prélèvements de poche sont plus discutables. En effet, nous n'obtenons qu'un tiers de résultats satisfaisants pour notre étude.

Nous pouvons voir que les résultats cliniques corroborent les analyses de biologie moléculaire : nous observons que **les diminutions de profondeur de poches sont plus importantes au niveau des sites présentant une diminution de la charge EBV.**

# **IV. Discussion**

## **1. Relation entre résultats cliniques et bilan salivaire**

De façon générale nous avons observé une nette amélioration des paramètres cliniques parodontaux et une diminution de la charge virale EBV.

Sur l'échantillon total (n = 23 patients), 6 patients présentent une augmentation de la charge virale EBV (cases coloriées en rouge dans le tableau 4), il nous reste à quantifier cette augmentation.

- le patient n°14 est l'unique patient présentant un indice de plaque supérieur à 2, suite à la réévaluation : on peut s'interroger sur un possible lien entre le manque d'hygiène dentaire et l'augmentation de la charge virale chez ce patient.

- dans le cas des patients n°1, 3 et 15, leur réponse clinique au traitement est relativement faible, ce qui pourrait être lié à une augmentation de la charge virale trouvée chez ces patients.

- dans le cas du patient n°5 : les résultats cliniques sont encourageants, il faudra corréliser les résultats bruts aux résultats obtenus en tenant compte des seuils de risque et de détection (tableau 7).

- concernant le patient n°8 : la charge virale constatée à la deuxième visite semble anormalement élevée, deux hypothèses peuvent être émises : il pourrait s'agir d'une contamination lors de manipulations réalisées au cours des procédures d'extractions, ou d'une contamination externe inhérente au patient, 1 à 3 mois séparant les deux visites.

D'après ces premiers résultats obtenus après q-PCR et la mise en relation avec la clinique, nous pouvons initier l'hypothèse selon laquelle le traitement parodontal, non seulement permet une amélioration des paramètres cliniques, mais pourrait également induire une diminution de la charge virale EBV dans la majorité des cas.

## **2. La parodontite, une maladie de site**

La maladie parodontale est une maladie de site, ainsi lorsque nous réalisons un prélèvement au sein d'une poche, le résultat obtenu ne sera pas représentatif d'une situation globale buccale, mais spécifique à cette poche.

Au cours de notre étude, nous avons réalisé les deux prélèvements au niveau de la même dent à la première visite et à la réévaluation.

Cependant, pour 6 patients, des aléas cliniques ne nous ont pas permis de réaliser le prélèvement au même endroit (Tableau 9) : dent prélevée extraite entre la première et la seconde visite, ou dent prélevée en V1 devenue infectée lors de la réévaluation, nous obligeant alors de choisir une dent voisine.

De plus, la quantité de matériau prélevé est différente selon les visites pour un même patient et entre les différents patients : ceci pourrait créer un biais dans l'analyse des résultats.

Sur les 6 patients qui n'ont pas été prélevés au niveau du même site en V1 et V2, 5 présentent une augmentation de la charge virale : cette augmentation n'est donc pas représentative car la charge virale EBV est variable d'un site à l'autre.

### 3. Les seuils de risque et de détection

La courbe (Figure 16) représente l'analyse de probabilité du kit utilisé : elle montre que la probabilité de détecter un échantillon de 3,64 copies/PCR (c'est à dire 182 copies/mL de liquide biologique) est de 95 %. Cette valeur est plus de 25 fois inférieure au seuil de risque de 5000 copies/mL de liquide biologique (Notice Argene R-EBV).

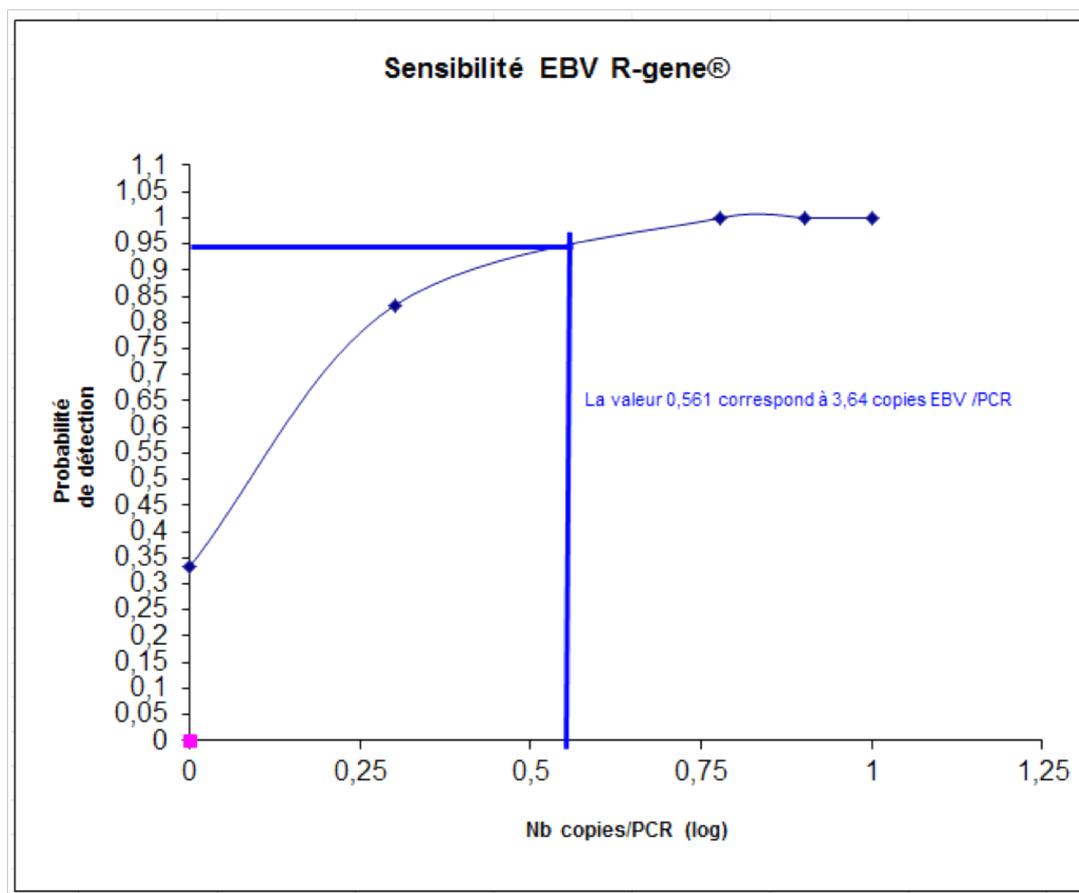


Figure 16 : Sensibilité du Test utilisé pour la quantification de l'ADN

Ainsi nous devons prendre en compte dans notre analyse des résultats 2 seuils importants :

- Seuil de détection (**180copies / ml de liquide biologique**), il nous indique le moment à partir duquel nous pouvons être sûr que le virus a été vraiment détecté.
- Seuil de risque (**5000 copies / ml de liquide biologique**), il nous indique quand nous pouvons parler d'une réelle séropositivité au virus, c'est à dire à quel moment la présence du virus est suffisamment important pour déclarer le patient EBV positif.

#### 3.1. Bilan salivaire avec seuils de détection et de risque

Tenant compte de ces seuils, nous avons réalisé un nouveau tableau de synthèse pour le bilan salivaire (Tableau 8)

Le seuil qui nous a paru le plus pertinent dans le cadre de notre étude est le **seuil de risque**, en effet c'est lui qui nous permet de mettre en évidence la vraie charge EBV +.

Nous remarquons que des patients que nous avons initialement classés comme EBV + n'ont pas un nombre de copies / ml suffisamment élevé pour être classés comme tels et sont donc d'après ce nouveau tableau considérés EBV- à la première visite comme à la seconde.

Nous avons donc à présent 7 patients sur 23 EBV - (initialement ils étaient 3), étant négatifs aux 2 visites : ils ne nous permettent donc pas d'émettre de conclusion sur l'évolution de la charge virale.

**Sur les 16 patients restants considérés EBV+ à la première visite, 14 présentent une diminution de leur charge virale, et sur ces 14, 7 seraient EBV- après réévaluation, en tenant compte du seuil de risque.**

De plus, les 2 patients présentant une augmentation de la charge sont les patients n° 3 et 14, n'ayant pas montré une bonne évolution des paramètres cliniques (indice de plaque, hygiène orale, profondeur moyenne de poche).

Patient	Bilan salives qPCR EBV								
	Quantité (Copies/ml de Salive) Visite 1	seuil de risque : 5000 copies/ml	seuil de détection : 182 copies /ml	Quantité (Copies/ml de Salive) Visite 2	seuil de risque : 5000/ml	seuil de détection : 182 copies /ml	Conclusion	Conclusion seuil à 5000	Conclusion seuil à 182
4	0	x	x	0	x	x	EBV- à V1 et V2	EBV- à V1 et V2	EBV- à V1 et V2
22	553026	x	x	26785	x	x	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution
24	38984	x	x	5355	x	x	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution
2	1194550	x	x	0	x	x	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ à V1 / EBV- à V2
3	4399865	x	x	82734112	x	x	EBV+ Augmentation	EBV+ Augmentation	EBV+ Augmentation
5	379	EBV + ?	pas détecté	4515	EBV + ?	détecté	EBV+ Augmentation	EBV- à V1 et V2	EBV+ Augmentation
9	309890	x	x	85248	x	x	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution
10	0	x	x	0	x	x	EBV- à V1 et V2	EBV- à V1 et V2	EBV- à V1 et V2
11	25708	x	x	4366	EBV + ?	détecté	EBV+ / Diminution	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ / Diminution
1	0	x	x	2389	EBV + ?	détecté	EBV+ Augmentation	EBV- à V1 et V2	EBV+ Augmentation
12	7106859	x	x	3549434	x	x	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution
14	148357	x	x	6688752	x	x	EBV+ Augmentation	EBV+ Augmentation	EBV+ Augmentation
16	69718	x	x	13346	x	x	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution
19	21556254	x	x	2127	EBV + ?	détecté	EBV+ / Diminution	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ / Diminution
21	907898	x	x	2138	EBV + ?	détecté	EBV+ / Diminution	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ / Diminution
25	11805	x	x	0	x	x	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ à V1 / EBV- à V2
8	168	EBV + ?	Pas détecté	1017433	x	x	EBV+ Augmentation	EBV- à V1 et V2	EBV- à V1 et V2
13	0	x	x	0	x	x	EBV- à V1 et V2	EBV- à V1 et V2	EBV- à V1 et V2
18	2054238	x	x	0	x	x	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ à V1 / EBV- à V2
6	1181392	x	x	68883	x	x	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution
7	28281	x	x	5713	x	x	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution	EBV+ / Diminution
15	3602	EBV + ?	détecté	96178	x	x	EBV+ Augmentation	EBV- à V1 et V2	EBV+ Augmentation
23	1878681	x	x	81	EBV + ?	pas détecté	EBV+ / Diminution	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ / Diminution

Tableau 8 : Bilan salivaire avec seuils de risque et de détection

Avec ces nouveaux résultats, nous pouvons conjecturer le fait que le traitement parodontal induirait une diminution notable de la charge virale EBV, corrélée à une amélioration des indices cliniques parodontaux.

En effet, nous avions auparavant, avec les résultats bruts, 70% de patients présentant une diminution de charge ou une disparition de celle-ci, et à présent, **en tenant compte du seuil de risque ce nombre s'élève à 87,5% de patients.**

### 3.2. Bilan des poches avec prise en compte des seuils

Le seuil de détection permet de mettre en évidence le niveau à partir duquel nous pouvons réellement noter la présence du virus. On voit ici que les conclusions en tenant compte de ce seuil sont très proches des conclusions brutes. Effectivement, seuls 2 patients présentant initialement une augmentation de charge ont été révélés négatifs car possédant des résultats inférieurs au seuil de détection.

En tenant compte du **seuil de risque**, permettant de mettre en évidence la vraie charge EBV +, c'est à dire le seuil qui identifie la séropositivité avérée à EBV, nous observons que pour la majorité des patients, le virus EBV n'est détecté ni à la première visite, ni à la réévaluation et ce pour 14 patients (ils étaient 4 au premier bilan de poche), aucune conclusion ne peut être tirée à partir de ces résultats (Tableau 9)

Il reste alors 9 patients et sur ce faible échantillon nous pouvons noter que :

- 5 présentent une apparition de charge EBV +, mais 2 d'entre eux ont été prélevés sur des sites différents, ce qui laisse 3 patients devenus EBV séropositifs.
- 4 patients présentent une disparition de la charge EBV après traitement parodontal.

Suite à ces nouveaux résultats, nous pouvons dire qu'il y a près de la moitié des patients pour lesquels le traitement parodontal a agi positivement sur la diminution de la charge.

Cependant, le nombre élevé de patients pour lesquels aucune conclusion ne peut être apportée (plus de la moitié de l'échantillon total de départ) nous laisse penser que les différents facteurs tels que le site prélevé et la quantité de matière qui fluctue, n'a pas permis d'obtenir un résultat satisfaisant.

Nous pouvons également nous poser la question de l'adaptabilité du kit d'extraction à la matière prélevée : celui-ci était adapté aux salives car mis au point pour des liquides biologiques tels que le sang, or nous sommes ici en présence d'une matière plus complexe, comprenant du sang mais également du tissu, certes dissocié par le tampon de lyse mais néanmoins plus dense.

De plus, lors de la procédure d'extraction nous pipetons une partie de l'échantillon présent dans le lysant et non son intégralité, nous pouvons ainsi nous demander si la partie prélevée contient suffisamment de tissu ou si nous laissons une partie qui pourrait nous intéresser dans le tube initial.

Initiales	Age	Diminution des pps moy	Prélèvement (dent, pps) Visite 1	Prélèvement (dent, pps) Visite 2	Quantité (copies/µl D'ADN extrait) Visite 1	seuil de risque : 10 copies/µl D'ADN extrait	seuil de détection : 0,364 copies/µl D'ADN extrait	Quantité (copies/µl D'ADN extrait) Visite 2	seuil de risque : 10 copies/µl D'ADN extrait	seuil de détection : 0,364 copies/µl D'ADN extrait	Conclusion	Conclusion avec seuil de risque	Conclusion avec seuil de détection
SC	62	0	37 (pps à 9)	37 (pps à 7)	0	x	x	0	x	x	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2
FR	78	1	26 (pps à 7)	26 (pps à 4)	24258,4	x	x	0	x	x	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ à V1 / EBV- à V2
FR	28	1	26 (pps à 5)	26 (pps à 3)	340,48761	x	x	1,0776923	EBV+?	x	Patient EBV+ / Diminution à V2	EBV+ à V1 / EBV- à V2	Patient EBV+ / Diminution à V2
CM	67	2	25 (pps à 5)	21 (pps à 3)	0,9212486	EBV+?	x	1,5505646	EBV+?	x	Patient EBV+ / Augmentation à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	Patient EBV+ / Augmentation à V2
MM	63	1	22 (pps à 10)	22 (pps à 8)	0,3813111	EBV+?	x	436,71671	x	x	Patient EBV+ / Augmentation à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	Patient EBV+ / Augmentation à V2
LN	54	2	26 (pps à 7)	26 (pps à 5)	0,3309036	EBV+?	detecté?	0,8496566	EBV+?	x	Patient EBV+ / Augmentation à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	Patient EBV+ / Augmentation à V2
TV	72	1	27 (pps à 8)	27 (pps à 7)	0	x	x	2,0422504	EBV+?	x	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2
LC	65	1	47 (pps à 6)	26 (pps à 4)	0	x	x	0	x	x	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2
BJ	65	1	47 (pps à 7)	47 (pps à 6)	5,9409761	EBV+?	x	23,823025	x	x	Patient EBV+ / Augmentation à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	Patient EBV+ / Augmentation à V2
BS	38	1	26 (pps à 7)	26 (pps à 5)	0	x	x	8,138423	eBV+?	x	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2
DR	43	2	22 (pps à 7)	32 (pps à 4)	3,4287148	eBV+?	x	15,733768	x	x	Patient EBV+ / Augmentation à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	Patient EBV+ / Augmentation à V2
GG	49	1	46 (pps à 9)	46 (pps à 7)	2,6034927	eBV+?	x	2656,6621	x	x	Patient EBV+ / Augmentation à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	Patient EBV+ / Augmentation à V2
MP	44	1	14 (pps à 5)	14 (pps à 8)	0,7044925	eBV+?	x	0,687895	eBV+?	x	Patient EBV+ / Diminution à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	Patient EBV+ / Diminution à V2
PG	36	1	32 (pps à 5)	43 (pps à 4)	0	x	x	0,3262861	eBV+?	detecté?	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2
LG	87	2	43 (pps à 8)	43 (pps à 6)	3,1225002	eBV+?	x	4,3803105	eBV+?	x	Patient EBV+ / Augmentation à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	Patient EBV+ / Augmentation à V2
VE	51	1	11 (pps à 7)	11 (pps à 6)	0	x	x	0	x	x	Patient EBV+ / Augmentation à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2
CN	47	2	43 (pps à 7)	43 (pps à 6)	0	x	x	0	x	x	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2
VM	65	2	33 (pps à 9)	33 (pps à 8)	0	x	x	0	x	x	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2
LT	53	3	46 (pps à 10)	23 (pps à 4)	2,8150601	eBV+?	x	4,6005058	eBV+?	x	Patient EBV+ / Augmentation à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	Patient EBV+ / Augmentation à V2
CC	63	3	27 (pps à 9)	27 (pps à 7)	4,725069	eBV+?	x	1,7636766	eBV+?	x	Patient EBV+ / Diminution à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	Patient EBV+ / Diminution à V2
PG	49	3	46 (pps à 8)	46 (pps à 5)	1915,2252	x	x	0	x	x	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ à V1 / EBV- à V2
MM	71	1	37 (pps à 9)	16 (pps à 5)	0,5744702	eBV+?	x	44,212185	x	x	Patient EBV+ / Augmentation à V2	EBV- à V1 / EBV- à V2	Patient EBV+ / Augmentation à V2
TB	50	3	36 (pps à 10)	36 (pps à 7)	20,090878	x	x	0	x	x	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ à V1 / EBV- à V2	EBV+ à V1 / EBV- à V2

Tableau 9 : Bilan des poches avec seuils

#### **4. Autres facteurs de discussion**

D'autres facteurs peuvent être pris en compte dans la discussion des résultats obtenus au cours de notre étude

##### 4.1. L'absence de regard sur l'identification de porteurs sains

Pour des raisons éthiques, comme nous l'avons déjà énoncé, nous n'avons pas l'autorisation de réaliser des prises de sang afin de tester la séropositivité EBV du patient en début d'étude.

L'incertitude sur ce point laisse planer le doute sur la présence locale du virus, c'est à dire un foyer uniquement bucco-dentaire, ou si le virus est présent à l'échelle systémique.

##### 4.2. L'absence de suivi entre les deux visites

Une période de un à trois mois peut séparer la première visite et la réévaluation. Durant ce laps de temps, nous n'avons pas de contrôle sur le patient. Malgré les consignes d'hygiène données dès le premier rendez-vous, il arrive que certains patients ne les mettent pas en pratique, rendant ainsi le maintien parodontal difficile. De plus, une contamination externe, dépendante du patient, liée à sa vie privée peut survenir lors de cette période, le virus se transmettant par la salive.

Nous n'avons donc pas une transparence totale concernant la survenue du virus que ce soit aussi bien avant l'inclusion, que pendant la durée de l'étude.

# **V. Conclusion**

Après 2 années de travail sur cette étude, nous avons mis en lumière des éléments permettant d'avancer dans la mise en relation de l'action du traitement parodontal avec l'évolution de la charge virale EBV.

Le résultat le plus probant est celui du bilan salivaire, il est le plus cohérent et celui qui présente le plus de corrélation avec l'évolution des paramètres cliniques.

Ce résultat montre que **70% de patients présentent soit une diminution, soit une disparition de la charge virale EBV après thérapeutique parodontale initiale.**

En tenant compte du **seuil de risque, ce nombre s'élève à 87,5% de patients**

De plus, sur le plan clinique, c'est au niveau **des sites présentant une diminution de la charge EBV que les diminutions de profondeur de poches sont plus importantes.**

Les résultats obtenus à partir du bilan des épithélia de poche ne sont pas représentatifs d'une situation parodontale globale, ils sont plutôt le reflet d'une situation ponctuelle.

**Nous avons recueilli, sur les 16 patients restants considérés EBV+ à la première visite, 14 diminutions de charge virale, dont 7 disparitions de charge EBV- après réévaluation, en tenant compte du seuil de risque.**

**Cela nous a permis d'émettre l'hypothèse que le traitement parodontal induirait une diminution notable de la charge virale EBV, et que cette diminution serait corrélée à une amélioration des indices cliniques parodontaux.**

La maladie parodontale étant une maladie de site, ce résultat nous intéresse notamment en ce qui concerne le traitement des sites réfractaires.

**Dans nos récentes études nous avons montré que le virus EBV potentialise la maladie parodontale, les conclusions apportées par cette thèse, c'est à dire une diminution globale de la charge virale liée à une amélioration des paramètres cliniques, apportent une nouvelle donnée importante pour améliorer la prise en charge des patients atteints de maladie parodontale.**

**VI.**  
**Bibliographie**

- Al Tabaa, Yassine, Edouard Tuailon, Karine Bollere, Vincent Foulongne, Gael Petitjean, Jean-Marie Seigneurin, Christophe Duperray, Claude Desgranges, et Jean-Pierre Vendrell. 2009. « Functional Epstein-Barr Virus Reservoir in Plasma Cells Derived from Infected Peripheral Blood Memory B Cells ». *Blood* 113 (3) : 604-11.
- Albandar, Jasim M. 2005. « Epidemiology and Risk Factors of Periodontal Diseases ». *Dental Clinics of North America* 49 (3) : 517-532, v-vi.
- Albandar, JM. 2016. « Aggressive periodontitis: case definition and diagnostic criteria. - PubMed ».
- Allan, G. J., G. J. Inman, B. D. Parker, D. T. Rowe, et P. J. Farrell. 1992. « Cell Growth Effects of Epstein-Barr Virus Leader Protein ». *The Journal of General Virology* 73
- Amano, Atsuo, et Hiroaki Inaba. 2012. « [Cardiovascular diseases and periodontal diseases] ». *Clinical Calcium* 22 (1): 43-48.
- Ambili, Ranjith, Chandran Preeja, Vilasan Archana, Krishnavilasam Jayakumary Nisha, Abraham Seba, et Mohammed Khasim Reejamol. 2014. « Viruses: Are They Really Culprits for Periodontal Disease? A Critical Review ». *Journal of Investigative and Clinical Dentistry* 5 (3) : 179-87.
- Balfour, Henry H., Samantha K. Dunmire, et Kristin A. Hogquist. 2015. « Infectious Mononucleosis ». *Clinical & Translational Immunology* 4 (2) : e33.
- Batisse, Julien, Evelyne Manet, Jaap Middeldorp, Alain Sergeant, et Henri Gruffat. 2005. « Epstein-Barr Virus mRNA Export Factor EB2 Is Essential for Intranuclear Capsid Assembly and Production of gp350 ». *Journal of Virology* 79 (22): 14102-11.
- Boccellato, Francesco, Eleni Anastasiadou, Paola Rosato, Bettina Kempkes, Luigi Frati, Alberto Faggioni, et Pankaj Trivedi. 2007. « EBNA2 Interferes with the Germinal Center Phenotype by Downregulating BCL6 and TCL1 in Non-Hodgkin's Lymphoma Cells ». *Journal of Virology* 81 (5) : 2274-82.
- Bourgeois, D., P. Bouchard, et C. Mattout. 2007. « Epidemiology of Periodontal Status in Dentate Adults in France, 2002-2003 ». *Journal of Periodontal Research* 42 (3) : 219-27.
- Braz-Silva, Paulo Henrique, Sébastien Vitale, Catherine Butori, Nicolas Guevara, José Santini, Marina Magalhães, Paul Hofman, et Alain Doglio. 2011. « Specific Infiltration of Langerin-Positive Dendritic Cells in EBV-Infected Tonsil, Hodgkin Lymphoma and Nasopharyngeal Carcinoma ». *International Journal of Cancer* 128 (10) : 2501-8.
- Chabay, Paola. 2015. « Epidemiology of Epstein-Barr virus-associated pediatric lymphomas from Argentina ».
- Chalabi, M., F. Rezaie, S. Moghim, A. Mogharehabet, M. Rezaei, et B. Mehraban. 2010. « Periodontopathic Bacteria and Herpesviruses in Chronic Periodontitis ». *Molecular Oral Microbiology* 25 (3) : 236-40.
- DAS, S. 2012. « Detection of human herpes viruses in patients with chronic and aggressive periodontitis and relationship between viruses and clinical parameters. - PubMed ».

- Dickerson, Sarah J., Yongna Xing, Amanda R. Robinson, William T. Seaman, Henri Gruffat, et Shannon C. Kenney. 2009. « Methylation-Dependent Binding of the Epstein-Barr Virus BZLF1 Protein to Viral Promoters ». *PLoS Pathogens* 5 (3) : e1000356.
- Ebell, Mark H. 2004. « Epstein-Barr Virus Infectious Mononucleosis ». *American Family Physician* 70 (7) : 1279-87.
- Faulkner, G. C., S. R. Burrows, R. Khanna, D. J. Moss, A. G. Bird, et D. H. Crawford. 1999. « X-Linked Agammaglobulinemia Patients Are Not Infected with Epstein-Barr Virus : Implications for the Biology of the Virus ». *Journal of Virology* 73 (2): 1555-64.
- Fleury, Hervé. 2009. « Virologie humaine - 9782294704321 | Elsevier Masson - Livres, ebooks, revues et traités EMC pour toutes spécialités médicales et paramédicales ».
- Gottschalk, S., C. Y. Ng, M. Perez, C. A. Smith, C. Sample, M. K. Brenner, H. E. Heslop, et C. M. Rooney. 2001. « An Epstein-Barr Virus Deletion Mutant Associated with Fatal Lymphoproliferative Disease Unresponsive to Therapy with Virus-Specific CTLs ». *Blood* 97 (4) : 835-43.
- Greenspan, J. S., D. Greenspan, et J. Webster-Cyriaque. 2016. « Hairy Leukoplakia; Lessons Learned: 30-plus Years ». *Oral Diseases* 22 Suppl 1 (avril) : 120-27.
- Hadinoto, Vey, Michael Shapiro, Chia Chi Sun, et David A. Thorley-Lawson. 2009. « The Dynamics of EBV Shedding Implicate a Central Role for Epithelial Cells in Amplifying Viral Output ». *PLoS Pathogens* 5 (7): e1000496.
- Huck, O., H. Tenenbaum, et J.-L. Davideau. 2011. « Relationship between Periodontal Diseases and Preterm Birth: Recent Epidemiological and Biological Data ». *Journal of Pregnancy* 2011 : 164654.
- Ide, Mark, Marina Harris, Annette Stevens, Rebecca Sussams, Viv Hopkins, David Culliford, James Fuller, et al. 2016. « Periodontitis and Cognitive Decline in Alzheimer's Disease ». *PloS One* 11 (3) : e0151081.
- Jeffcoat, Marjorie K., Robert L. Jeffcoat, Patricia A. Gladowski, James B. Bramson, et Jerome J. Blum. 2014. « Impact of Periodontal Therapy on General Health: Evidence from Insurance Data for Five Systemic Conditions ». *American Journal of Preventive Medicine*
- Joshi, Vinayak Mahableshwar, Kishore Gajanan Bhat, Sandeep Suresh Katti, Manohar Suresh Kugaji, et Preeti Shivaji Ingalgil. 2015. « Prevalence of Herpesvirus and Correlation with Clinical Parameters in Indian Subjects with Chronic Periodontitis ». *The Journal of Contemporary Dental Practice* 16 (11) : 915-20.
- Jourde, Michel. 2014. « Maladies parodontales: Facteurs de risques et approches thérapeutiques ». *séance inter-académique: académie nationale de chirurgie dentaire et académie vétérinaire de france: pathologie comparée, Les Cordeliers, 17 octobre 2013.*
- Juillard, Franceline, Edwige Hiriart, Nicolas Sergeant, Valérie Vingtdeux-Didier, Hervé Drobecq, Alain Sergeant, Evelyne Manet, et Henri Gruffat. 2009. « Epstein-Barr Virus Protein EB2 Contains an N-Terminal Transferable Nuclear Export Signal That Promotes Nucleocytoplasmic Export by Directly Binding TAP/NXF1 ». *Journal of Virology* 83 (24)

- Kato, Ayako, Kenichi Imai, Kuniyasu Ochiai, et Yorimasa Ogata. 2015. « Prevalence and Quantitative Analysis of Epstein-Barr Virus DNA and Porphyromonas Gingivalis Associated with Japanese Chronic Periodontitis Patients ». *Clinical Oral Investigations* 19 (7) : 1605-10.
- Kazi, Mohammad Mukhit Abdul Gaffar, Renu Bharadwaj, Kishore Bhat, et Daisy Happy. 2015. « Association of Herpes Viruses with Mild, Moderate and Severe Chronic Periodontitis ». *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR* 9 (7): DC05-08.
- Khosropanah, Hengameh, Maryam Karandish, Mazyar Ziaeyan, et Marzieh Jamalidoust. 2015. « Quantification of Epstein-Barr Virus and Human Cytomegalovirus in Chronic Periodontal Patients ». *Jundishapur Journal of Microbiology* 8 (6): e18691.
- Kurth, Julia, Martin-Leo Hansmann, Klaus Rajewsky, et Ralf Küppers. 2003. « Epstein-Barr Virus-Infected B Cells Expanding in Germinal Centers of Infectious Mononucleosis Patients Do Not Participate in the Germinal Center Reaction ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (8): 4730-35.
- Larrat, Sylvie. 2010. « Inhibition du cycle lytique du Virus Epstein-Barr par ARN interférence ». Université de Grenoble.
- Laudenbach, Joel M., et Ziv Simon. 2014. « Common Dental and Periodontal Diseases: Evaluation and Management ». *The Medical Clinics of North America* 98 (6): 1239-60.
- Le Clorennec, Christophe, Tan-Sothéa Ouk, Ibtissam Youlyouz-Marfak, Stéphanie Panteix, Catherine-Claude Martin, Julia Rastelli, Eric Adriaenssens, et al. 2008. « Molecular Basis of Cytotoxicity of Epstein-Barr Virus (EBV) Latent Membrane Protein 1 (LMP1) in EBV Latency III B Cells : LMP1 Induces Type II Ligand-Independent Autoactivation of CD95/Fas with Caspase 8-Mediated Apoptosis ». *Journal of Virology* 82 (13): 6721-33.
- Lee, May-Ann, Margaret E. Diamond, et John L. Yates. 1999. « Genetic Evidence That EBNA-1 Is Needed for Efficient, Stable Latent Infection by Epstein-Barr Virus ». *Journal of Virology* 73 (4) : 2974-82.
- Lindner, Scott E., Krisztina Zeller, Aloys Schepers, et Bill Sugden. 2008. « The Affinity of EBNA1 for Its Origin of DNA Synthesis Is a Determinant of the Origin's Replicative Efficiency ». *Journal of Virology* 82 (12) : 5693-5702.
- Ma, Ying-ying, Tao-wen Zhang, Yu-xi Jiang, et Shu-tai Liu. 2015. « [Comparative analysis of 6 kinds of bacteria in the subgingival plaque in different types of patients with periodontal diseases] ». *Shanghai Kou Qiang Yi Xue = Shanghai Journal of Stomatology* 24 (5) : 574-78.
- Madianos, P. N., Y. A. Bobetsis, et D. F. Kinane. 2005. « Generation of Inflammatory Stimuli : How Bacteria Set up Inflammatory Responses in the Gingiva ». *Journal of Clinical Periodontology* 32 Suppl 6 : 57-71.
- Martelli, Francesco Saverio, Giovanni Bacci, Maria Laura Martelli, Piero Nobili, Anna Boddi, Claudio Rosati, et Elena Fanti. 2015. « Efficacy of the ND:YAG Laser Therapy on EBV and HSV1 Contamination in Periodontal Pockets ». *Igiene E Sanita Pubblica* 71
- Maruo, Seiji, Yi Wu, Taku Ito, Teru Kanda, Elliott D. Kieff, et Kenzo Takada. 2009. « Epstein-Barr Virus Nuclear Protein EBNA3C Residues Critical for Maintaining

Lymphoblastoid Cell Growth ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (11): 4419-24.

Matsuura, Hisae, Austin N. Kirschner, Richard Longnecker, et Theodore S. Jardetzky. 2010. « Crystal structure of the Epstein-Barr virus (EBV) glycoprotein H/glycoprotein L (gH/gL) complex ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (52): 22641-46.

Merchant, M., R. Swart, R. B. Katzman, M. Ikeda, A. Ikeda, R. Longnecker, M. L. Dykstra, et S. K. Pierce. 2001. « The Effects of the Epstein-Barr Virus Latent Membrane Protein 2A on B Cell Function ». *International Reviews of Immunology* 20 (6): 805-35.

« NanoDrop-Spectrophotometers-Nucleic-Acid-Purity-Ratios ». 2017.

« Notice Argene R-EBV.pdf ». s. d.

Onabolu, Olanrewaju, Nikos Donos, Yu-Kang Tu, Ulpee Darbar, et Luigi Nibali. 2015. « Periodontal Progression Based on Radiographic Records: An Observational Study in Chronic and Aggressive Periodontitis ». *Journal of Dentistry* 43 (6) : 673-82.

Panagopoulos, Dimitris, Panayiotis Victoratos, Maria Alexiou, George Kollias, et George Mosialos. 2004. « Comparative Analysis of Signal Transduction by CD40 and the Epstein-Barr Virus Oncoprotein LMP1 in Vivo ». *Journal of Virology* 78 (23) : 13253-61.

Paster, Bruce J., Susan K. Boches, Jamie L. Galvin, Rebecca E. Ericson, Carol N. Lau, Valerie A. Levanos, Ashish Sahasrabudhe, et Floyd E. Dewhirst. 2001. « Bacterial Diversity in Human Subgingival Plaque ». *Journal of Bacteriology* 183 (12): 3770-83.

Pegman, PM. 2006. « Epstein-Barr virus nuclear antigen 2 trans-activates the cellular antiapoptotic bfl-1 gene by a CBF1/RBPJ kappa-dependent pathway. - PubMed ».

Peng, Rongsheng, Stephanie C. Moses, Jie Tan, Elisabeth Kremmer, et Paul D. Ling. 2005. « The Epstein-Barr Virus EBNA-LP Protein Preferentially Coactivates EBNA2-Mediated Stimulation of Latent Membrane Proteins Expressed from the Viral Divergent Promoter ». *Journal of Virology* 79 (7) : 4492-4505.

Peyret-Lacombe, Alexis. 2007. « Etude de l'immuno-réactivité épithéliale gingivale en réponse à deux bactéries commensales : implication du TLR2 ». Université de Toulouse.

Pihlstrom, Bruce L., Bryan S. Michalowicz, et Newell W. Johnson. 2005. « Periodontal Diseases ». *Lancet (London, England)* 366 (9499): 1809-20.

Preshaw, Philip M. 2015. « Detection and Diagnosis of Periodontal Conditions Amenable to Prevention ». *BMC Oral Health* 15 Suppl 1 : S5.

Rechsteiner, Markus P., Michele Bernasconi, Christoph Berger, et David Nadal. 2008. « Role of Latent Membrane Protein 2 Isoforms in Epstein-Barr Virus Latency ». *Trends in Microbiology* 16 (11) : 520-27.

Repeke, Carlos Eduardo, Cristina Ribeiro Cardoso, Marcela Claudino, Elcia Maria Silveira, Ana Paula Favaro Trombone, Ana Paula Campanelli, João Santana Silva, Walter Martins, et Gustavo Pompermaier Garlet. 2012. « Non-Inflammatory Destructive Periodontal Disease : A

Clinical, Microbiological, Immunological and Genetic Investigation ». *Journal of Applied Oral Science: Revista FOB* 20 (1): 113-21.

Ribeiro, Fernanda V., Renato C. V. Casarin, Maria A. G. Palma, Francisco H. N. Júnior, Enilson A. Sallum, et Márcio Z. Casati. 2011. « Clinical and Patient-Centered Outcomes after Minimally Invasive Non-Surgical or Surgical Approaches for the Treatment of Intrabony Defects : A Randomized Clinical Trial ». *Journal of Periodontology* 82 (9): 1256-66.

Ricci, Emiliano P., Fabrice Mure, Henri Gruffat, Didier Decimo, Cahora Medina-Palazon, Théophile Ohlmann, et Evelyne Manet. 2009. « Translation of Intronless RNAs Is Strongly Stimulated by the Epstein-Barr Virus mRNA Export Factor EB2 ». *Nucleic Acids Research* 37 (15): 4932-43.

Richards, Derek. 2014. « Review Finds That Severe Periodontitis Affects 11% of the World Population ». *Evidence-Based Dentistry* 15 (3): 70-71.

Roughan, Jill E., et David A. Thorley-Lawson. 2009. « The Intersection of Epstein-Barr Virus with the Germinal Center ». *Journal of Virology* 83 (8): 3968-76.

Salek-Ardakani, Shahram, John R. Arrand, et Mike Mackett. 2002. « Epstein-Barr Virus Encoded Interleukin-10 Inhibits HLA-Class I, ICAM-1, and B7 Expression on Human Monocytes: Implications for Immune Evasion by EBV ». *Virology* 304 (2) : 342-51.

Samanta, M., D. Iwakiri, et K. Takada. 2008. « Epstein-Barr Virus-Encoded Small RNA Induces IL-10 through RIG-I-Mediated IRF-3 Signaling ». *Oncogene* 27 (30): 4150-60.

Shah, Rucha, et Dhoom Singh Mehta. 2016. « Prevalence of Herpesviruses in Gingivitis and Chronic Periodontitis: Relationship to Clinical Parameters and Effect of Treatment ». *Journal of Indian Society of Periodontology* 20 (3): 279-85.

Shannon-Lowe, Claire, et Martin Rowe. 2011. « Epstein-Barr Virus Infection of Polarized Epithelial Cells via the Basolateral Surface by Memory B Cell-Mediated Transfer Infection ». *PLoS Pathogens* 7 (5).

Sharma, R. 2012. « Comparative analysis of presence of Cytomegalovirus (CMV) and Epsteinbarr virus -1 (EBV-1) in cases of chronic periodontitis and aggressive periodo... ».

Sharma, Sumit, Roopali P. Tapashetti, Sudhir R. Patil, Sonali Medsinghe Kalra, Geetha K. Bhat, et Sowjanya Guvva. 2015. « Revelation of Viral - Bacterial Interrelationship in Aggressive Periodontitis via Polymerase Chain Reaction: A Microbiological Study ». *Journal of International Oral Health: JIOH* 7 (9): 101-7.

Simain, F., E. Rompen, et E. Heinen. 2010. « [Dental biofilms] ». *Revue Medicale De Liege* 65 (10): 569-73.

Slots, Jørgen. 2002. *Interactions between Herpesviruses and Bacteria in Human Periodontal Disease*. ASM Press.

Smith, Corey, et Rajiv Khanna. 2015. « The Development of Prophylactic and Therapeutic EBV Vaccines ». *Current Topics in Microbiology and Immunology* 391: 455-73.

Teng, Yen-Tung A. 2003. « The Role of Acquired Immunity and Periodontal Disease

Progression ». *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine : An Official Publication of the American Association of Oral Biologists* 14 (4): 237-52.

Todeschini, Giuseppe, Massimiliano Bonifacio, Cristina Tecchio, Rita Balter, Giuseppe Carli, Piero Maria Stefani, Fausto Adami, et al. 2012. « Intensive Short-Term Chemotherapy Regimen Induces High Remission Rate (over 90%) and Event-Free Survival Both in Children and Adult Patients with Advanced Sporadic Burkitt Lymphoma/Leukemia ». *American Journal of Hematology* 87 (1): 22-25.

Tugizov, Sharof, Rossana Herrera, Piri Veluppillai, John Greenspan, Deborah Greenspan, et Joel M. Palefsky. 2007. « Epstein-Barr Virus (EBV)-Infected Monocytes Facilitate Dissemination of EBV within the Oral Mucosal Epithelium ». *Journal of Virology* 81 (11): 5484-96.

« UFSBD Prévalence des maladies parodontales et des facteurs de risque associés ». 2016.

Verdugo, Fernando, Ana Castillo, Francisca Castillo, et Agurne Uribarri. 2015. « Epstein-Barr Virus Associated Peri-Implantitis: A Split-Mouth Study ». *Clinical Oral Investigations* 19 (2): 535-43.

Vincent-Bugnas, Séverine, Sébastien Vitale, Caroline C. Mouline, Wafa Khaali, Yves Charbit, Patrick Mahler, Isabelle Prêcheur, Paul Hofman, Janet L. Maryanski, et Alain Doglio. 2013. « EBV Infection Is Common in Gingival Epithelial Cells of the Periodontium and Worsens during Chronic Periodontitis ». *PloS One* 8 (12): e80336.

Walling, D. M. 2000. « Oral Hairy Leukoplakia: An Epstein-Barr Virus-Associated Disease of Patients with HIV ». *Research Initiative, Treatment Action : RITA* 6 (4): 10-15.

Womack, Jason, et Marissa Jimenez. 2015. « Common Questions about Infectious Mononucleosis ». *American Family Physician* 91 (6): 372-76.

Yin, Qinyan, et Erik K. Flemington. 2006. « siRNAs against the Epstein Barr Virus Latency Replication Factor, EBNA1, Inhibit Its Function and Growth of EBV-Dependent Tumor Cells ». *Virology* 346 (2): 385-93.

Young, Lawrence S., John R. Arrand, et Paul G. Murray. 2007. « EBV Gene Expression and Regulation ». In *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*, édité par Ann Arvin, Gabriella Campadelli-Fiume, Edward Mocarski, Patrick S. Moore, Bernard Roizman, Richard Whitley, et Koichi Yamanishi. Cambridge: Cambridge University Press.

Zhu, C. 2016. « Association between Herpesviruses and Chronic Periodontitis: A Meta-Analysis Based on Case-Control Studies. - PubMed ».

Zuo, Lie-Lian, Mei-Juan Zhu, Shu-Juan Du, Jian-Hong Lu, et Gui-Yuan Li. 2014. « [The entry of Epstein-Barr virus into B lymphocytes and epithelial cells during infection] ». *Bing Du Xue Bao = Chinese Journal of Virology* 30 (4): 476-82.

# **Annexes :**

## Annexe 1 :

### CLASSIFICATION DES MALADIES PARODONTALES (ARMITAGE 1999) MISE A JOUR PAR L'ACADEMIE AMERICAINE DE PARODONTOLOGIE (2002)

<p><b>I - Maladies gingivales</b></p> <p>A - Maladies gingivales induites par la plaque dentaire</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Gingivites associées avec la plaque dentaire uniquement               <ol style="list-style-type: none"> <li>a- Sans facteurs locaux contributifs</li> <li>b- Avec facteurs locaux contributifs (cf. VIII.A)</li> </ol> </li> <li>2- Maladies gingivales associées à des facteurs systémiques               <ol style="list-style-type: none"> <li>a- Associées à des modifications endocriniennes                   <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Gingivite de la puberté</li> <li>2- Gingivite associée aux cycles menstruels</li> <li>3- Gingivite au cours de la grossesse                       <ol style="list-style-type: none"> <li>a) Gingivite</li> <li>b) Granulome pyogénique</li> </ol> </li> <li>4- Gingivite associée au diabète sucré</li> </ol> </li> <li>b- Associées aux dyscrasies hématologiques                   <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Gingivite associée à la leucémie</li> <li>2- Autres troubles</li> </ol> </li> </ol> </li> <li>3- Maladies gingivales liées à des médicaments               <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Hypertrophie gingivale induite par les médicaments</li> <li>2- Gingivites induites par les médicaments                   <ol style="list-style-type: none"> <li>a- Gingivites liées aux contraceptifs oraux</li> <li>b- Autres médicaments</li> </ol> </li> </ol> </li> <li>4- Gingivites et malnutrition               <ol style="list-style-type: none"> <li>a- Gingivite et carence en vitamine C</li> <li>b- Autres</li> </ol> </li> </ol> <p>B- Lésions gingivales non induites par la plaque dentaire</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Maladies gingivales d'origine bactérienne spécifique</li> <li>2- Maladies gingivales d'origine virale               <ol style="list-style-type: none"> <li>a- Infection à Herpes virus                   <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Gingivostomatite herpétique primitive</li> <li>2- Herpès buccal récidivant</li> <li>3- Infections à varicelle- zona</li> </ol> </li> <li>b- Autres</li> </ol> </li> <li>3- Maladies gingivales d'origine fongique               <ol style="list-style-type: none"> <li>a- Infections à Candida                   <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Candidose gingivale généralisée</li> </ol> </li> <li>b- Erythème gingival linéaire</li> <li>c- Histoplasmose</li> <li>d- Autres</li> </ol> </li> <li>4- Lésions gingivales d'origine génétique               <ol style="list-style-type: none"> <li>a- Fibromatose gingivale héréditaire</li> <li>b- Autres</li> </ol> </li> <li>5- Gingivites au cours de maladies systémiques               <ol style="list-style-type: none"> <li>a- Atteintes cutané-muqueuses</li> <li>b- Réactions allergiques</li> </ol> </li> <li>6- Lésions traumatiques (factices, iatrogéniques, accidentelles)               <ol style="list-style-type: none"> <li>a) Lésion chimique</li> <li>b) Lésion physique</li> <li>c) Lésion thermique</li> </ol> </li> <li>7- Réactions auto-immunes</li> <li>8- Non spécifiques</li> </ol>	<p><b>IV - Parodontites en tant que manifestations de maladies systémiques</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>A- Associées à une hémopathie</li> <li>B- Associées à des anomalies génétiques</li> <li>C- Non spécifiées</li> </ol> <p><b>V- Maladies parodontales ulcéro-nécrotiques</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>A- Gingivite ulcéro-nécrotique (GUN)</li> <li>B- Parodontite ulcéro-nécrotique (PUN)</li> </ol> <p><b>VI- Abscès parodontaux</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>A- Abscès gingival</li> <li>B- Abscès parodontal</li> <li>C- Abscès péri-coronaire</li> </ol> <p><b>VII- Parodontites associées à des lésions endodontiques</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>A- Lésions combinées endo-parodontales</li> </ol> <p><b>VIII- Déformations et affections acquises ou du développement</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>A- Facteurs locaux liés à la dent, modifiant ou prédisposant aux gingivites ou aux parodontites induites par la plaque               <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Facteurs liés à l'anatomie dentaire</li> <li>2- Obturation et restauration dentaire</li> <li>3- Fractures radiculaires</li> <li>4- Résorptions de la racine cervicale et fissurations du cément</li> </ol> </li> <li>B- Malformations mucogingivales au voisinage des dents               <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Récessions gingivales et des tissus mous                   <ol style="list-style-type: none"> <li>a- Surfaces linguales ou vestibulaires</li> <li>b- Interproximales (papillaires)</li> </ol> </li> <li>2- Défaut de kératinisation de la gencive</li> <li>3- Réduction de la profondeur vestibulaire</li> <li>4- Frein aberrant/anomalie de l'insertion musculaire</li> <li>5- Excès de gencive                   <ol style="list-style-type: none"> <li>a- Pseudo-poche</li> <li>b- Gencive marginale inconsistante</li> <li>c- Excès de gencive visible</li> <li>d- Hypertrophie gingivale (cf. I.A.3 et I.B.4)</li> </ol> </li> <li>6- Anomalie de la coloration</li> </ol> </li> <li>C- Malformations mucogingivales et affections des berges édentées               <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Déficit vertical ou horizontal de la crête alvéolaire</li> <li>2- Déficit de kératinisation de la gencive</li> <li>3- Hypertrophie gingivale ou des tissus mous</li> <li>4- Frein aberrant/anomalie de l'insertion musculaire</li> <li>5- Réduction de la profondeur vestibulaire</li> <li>6- Anomalie de la coloration</li> </ol> </li> <li>D- Traumatisme occlusal               <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Traumatisme occlusal primaire</li> <li>2- Traumatisme occlusal secondaire</li> </ol> </li> </ol>
<p><b>II- Parodontites chroniques</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>A- Localisées</li> <li>B- Généralisées</li> </ol>	
<p><b>III- Parodontites agressives</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>A- Localisées</li> <li>B- Généralisées</li> </ol>	





# **Liste des** **abréviations**

*Aa* : *Actinomyces actinomycetemcomitans*  
ADF : Association Dentaire Française  
ADN : Acide DésoxyriboNucléique  
BOP : Bleeding On Probing (Saignement au sondage)  
CAL : Clinical Attachment Level (Niveau d'Attache Clinique)  
CE : Cellule Epithéliale  
CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité  
CMV : Cytomégalovirus  
CPP : Comité de Protection des Personnes  
*Cr* : *Campylobacter rectus*  
EBER : Epstein-Barr Encoded Small RNA  
EBNA : Epstein-Barr Nuclear Antigen  
EBV : Virus Epstein Barr  
*Ec* : *Eikenella Corrodens*  
EJ : Epithélium de jonction  
GI : Gingival Index  
HHV : Human HerpesVirus  
HSV : Herpes simplex virus  
IR : Internal Repeat  
LB : Lymphocyte B  
LCL : Lignée Cellulaire Lymphoblastique  
LMP : Latent Membrane Protein  
LPS : Lipopolysaccharide  
LT : Lymphocyte T  
MMP : Métalloprotéinase Matricielle  
MNI : Mononucléose Infectieuse  
OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
PCR : Polymerase Chain Reaction  
*Pg* : *Porphyromonas gingivalis*  
PMN : Polymorphonucléaire  
PPS : Profondeur de Poche au Sondage  
S : Sulcus  
*Tf* : *Tannerella forsythia*  
TR : Terminal Repeat  
VZV : Virus Varicelle Zoster

## Approbation – Improbation

Les opinions émises par les dissertations présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, sans aucune approbation ou improbation de la Faculté de Chirurgie dentaire (1).

Lu et approuvé,

Vu,  
Nice, le

Le Président du jury,

Le Doyen de la Faculté de  
Chirurgie Dentaire de l'UNS

Professeur

Professeur Armelle MANIERE

(1) Les exemplaires destinés à la bibliothèque doivent être obligatoirement signés par le Doyen et par le Président du Jury.

## *Serment d'Hippocrate*

*En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate,*

*Je promets et je jure, au nom de l'Être Suprême, d'être fidèle aux lois de l'Honneur et de la probité dans l'exercice de La Médecine Dentaire.*

*Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.*

*Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui se passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.*

*Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon Devoir et mon patient.*

*Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès sa conception.*

*Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'Humanité.*

*Respectueux et reconnaissant envers les Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses,*

*Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.*

# ANALYSE DE LA CHARGE VIRALE EPSTEIN BARR CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE PARODONTITE CHRONIQUE : TRAITEMENT PARODONTAL ET REPONSE VIRALE

**Thèse** : Chirurgie Dentaire, Nice, 2017, n°42.57.17.17

**Directeur de thèse** : Docteur Séverine Vincent- Bugnas

**Mots-clés** : Parodontite, Etude, Analyses, Virus Epstein Barr, Traitement

## **Résumé** :

La parodontite est la principale pathologie responsable de la perte des dents. Il s'agit d'une maladie atteignant un très grand nombre de personnes, pouvant avoir des conséquences graves sur l'état de santé général des individus atteints. Cette pathologie a jusqu'à présent été mise en avant comme étant principalement d'origine bactérienne. Cependant, de récentes études ont montré qu'une étiologie viro-bactérienne, notamment avec l'implication des virus herpétiques et plus particulièrement du virus Epstein Barr (EBV), était à envisager.

Notre étude a eu pour but d'analyser l'effet du traitement parodontal classique sur la charge virale Epstein Barr. Pour cela nous avons, réalisé sur un échantillon de patients atteints de parodontite chronique, des prélèvements de salive et d'épithélium de poche, avant le traitement conventionnel initial, puis lors de la visite de réévaluation. Des données cliniques ont été prises en compte et mises en relation avec les données biologiques obtenues lors des manipulations au laboratoire.

Les résultats suggèrent que le traitement parodontal induirait une diminution notable de la charge virale EBV, et que cette diminution serait corrélée à une amélioration des indices cliniques parodontaux.

En conclusion, la diminution globale de la charge virale EBV liée à l'amélioration des paramètres cliniques, apporterait une nouvelle donnée importante pour améliorer la prise en charge des patients atteints de maladie parodontale.