



HAL
open science

Détection de pathogènes responsables de l'endocardite infectieuse dans la pulpe dentaire

Estelle Azoulay

► **To cite this version:**

Estelle Azoulay. Détection de pathogènes responsables de l'endocardite infectieuse dans la pulpe dentaire. Chirurgie. 2021. dumas-03384250

HAL Id: dumas-03384250

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03384250>

Submitted on 18 Oct 2021

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

THESE

*POUR OBTENIR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE*

Présentée et publiquement soutenue devant la

Faculté d'Odontologie de Marseille
(Doyen : Monsieur le Professeur Bruno FOTI)

Aix-Marseille Université
(Président : Monsieur le Professeur Éric BERTON)

Détection de pathogènes responsables de l'endocardite infectieuse dans la pulpe dentaire.

Présentée par

AZOULAY Estelle

Né(e) le 20/06/1995

A Marseille

(Bouches du Rhône)

Thèse soutenue le Mercredi 17/03/2021

Devant le jury composé de

Président : Professeur RASKIN Anne

Assesseurs : Docteur TERRER Elodie

Professeur ROCHE POGGI Philippe

Docteur SANTUNIONE Charlotte

THESE

*POUR OBTENIR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE*

Présentée et publiquement soutenue devant la

Faculté d'Odontologie de Marseille
(Doyen : Monsieur le Professeur Bruno FOTI)

Aix-Marseille Université
(Président : Monsieur le Professeur Éric BERTON)

Détection de pathogènes responsables de l'endocardite infectieuse dans la pulpe dentaire.

Présentée par

AZOULAY Estelle

Né(e) le 20/06/1995

A Marseille

(Bouches du Rhône)

Thèse soutenue le Mercredi 17/03/2021

Devant le jury composé de

Président : Professeur RASKIN Anne

Assesseurs : Docteur TERRER Elodie

Professeur ROCHE POGGI Philippe

Docteur SANTUNIONE Charlotte

ADMINISTRATION

Mise à jour : sept. 2020

Doyens Honoraires

Professeur	Raymond SANGIUOLO†
Professeur	Henry ZATTARA
Professeur	André SALVADORI
Professeur	Jacques DEJOU

Doyen Assesseurs

Professeur	Bruno FOTI
Professeur	Michel RUQUET
Professeur	Anne RASKIN

Directeurs de Départements

Formation Initiale	Professeur	Michel RUQUET
Recherche	Professeur	Anne RASKIN
Formation Continue	Professeur	Frédéric BUKIET

Charges de missions

Relations Internationales	Professeur	Hervé TASSERY
Internat et Diplômes d'études spécialisées	Professeur	Virginie MONNET-CORTI
Affaires générales	Docteur	Patrick TAVITIAN

Responsable des Services Administratifs et Techniques

Madame	Katia LEONI
--------	-------------

LISTE DES ENSEIGNANTS

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS DES CSERD

BUKIET Frédéric (58-01)
FOTI Bruno (56-02)
LE GALL Michel (56-01)
MONNET-CORTI Virginie (57-01)
ORTHLIEB Jean-Daniel (58-01)
RASKIN Anne (58-01)
RUQUET Michel (58-01)
TARDIEU Corinne (56-01)
TARDIVO Delphine (56-02)
TASSERY Hervé (58-01)

PROFESSEUR DES UNIVERSITES

ABOUT Imad (65)

PROFESSEURS EMERITES

DEJOU Jacques
HUE Olivier

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS DES CSERD

ABOUDHARAM Gérard (58-01)	LAN Romain (56-02)
BANDON Daniel (56-01)	LAURENT Michel (58-01)
BELLONI Didier (57-01)	LAURENT Patrick (57-01)
BOHAR Jacques (56-01)	MAILLE Gérald (58-01)
CAMOIN Ariane (56-01)	PHILIP-ALLIEZ Camille (56-01)
CAMPANA Fabrice (57-01)	POMMEL Ludovic (58-01)
CATHERINE Jean-Hugues (57-01)	PRECKEL Bernard-Éric (58-01)
GAUBERT Jacques (56-01)	RÉ Jean-Philippe (58-01)
GIRAUD Thomas (58-01)	ROCHE-POGGI Philippe (57-01)
GIRAUDEAU Anne (58-01)	STEPHAN Grégory (58-01)
GUIVARC'H Maud (58-01)	TAVITIAN Patrick (58-01)
JACQUOT Bruno (58-01)	TERRER Elodie (58-01)
LABORDE Gilles (58-01)	TOSELLO Alain (58-01)

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES ASSOCIES

BALLESTER Benoît (58-01)
BLANCHET Isabelle (56-01)
MENSE Chloé (58-01)
SILVESTRI Frédéric (58-01)

ASSISTANTS HOSPITALIERS ET UNIVERSITAIRES

AL AZAWI Hala (56-01)	HAHN-GOLETTI Larissa (58-01)
ANTEZACK Angeline (57-01)	LIOTARD Alicia (58-01)
ARNIER Canelle (56-01)	MANSUY Charlotte (58-01)
BACHET-DORISON Damienne (56-01)	MARTIN William (56-01)
CAMBON Isabelle (56-01)	MATTERA Rémi (56-01)
CASAZZA Estelle (56-01)	MELLOUL Sébastien (57-01)
CASTRO Romain (57-01)	PARFU Anne (58-01)
DAVID Laura (56-01)	PASCHEL Laura (58-01)
DEVICTOR Alix (58-01)	PILLIOL Virginie (58-01)
DODDS Mélina (58-01)	REPETTO Andréa (58-01)
DRAUSSIN Thierry (56-02)	ROMANET Yvan (57-01)
DUMAS Cathy (57-01)	SANTUNIONE Charlotte (58-01)
HADJ-SAID Mehdi (57-01)	VINAÏ Michael (56-01)

ASSISTANTS DES UNIVERSITES ASSOCIES

GRINE Ghilès (57-01)
HOUVENAEGHEL Brice (57-01)

Intitulés des sections CNU :

- 56^{ème} section : Développement, croissance et prévention
 - 56-01 Odontologie pédiatrique et orthopédie dento-faciale
 - 56-02 : Prévention – Epidémiologie – Economie de la santé – Odontologie légale
- 57^{ème} section : Chirurgie orale ; Parodontologie ; Biologie Orale
 - 57-01 : Chirurgie orale – Parodontologie – Biologie orale
- 58^{ème} section : Réhabilitation orale
 - 58-01 : Dentisterie restauratrice – Endodontie – Prothèses – Fonction-Dysfonction – Imagerie – Biomatériaux

L'auteur s'engage à respecter les droits des tiers, et notamment les droits de propriété intellectuelle. Dans l'hypothèse où la thèse comporterait des éléments protégés par un droit quelconque, l'auteur doit solliciter les autorisations nécessaires à leur utilisation, leur reproduction et leur représentation auprès du ou des titulaires des droits. L'auteur est responsable du contenu de sa thèse. Il garantit l'Université contre tout recours. Elle ne pourra en aucun cas être tenue responsable de l'atteinte aux droits d'un tiers

A notre présidente de thèse,

Madame la Professeur Anne Raskin,

Merci pour l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de présider ce jury de thèse.

Vous m'avez conseillé, écouté et guidé durant ma 6^{ème} année.

Je n'oublierai jamais que j'ai trouvé mon sujet de thèse grâce à vous.

Merci pour votre altruisme et votre dévouement.

C'était toujours un plaisir de discuter avec vous dans votre bureau. Nous prenons plaisir à travailler dans votre service. Votre pédagogie et votre rigueur seront à n'en point douter des outils très précieux pour notre future vie professionnelle.

A notre directrice de thèse,
Maître de Conférences des Universités,
Madame le Docteur Elodie Terrer,

Je souhaitais vous exprimer toute ma gratitude d'avoir accepté de prendre la direction de cette thèse.

Vous avez su m'orienter vers ce sujet de thèse qui m'a beaucoup intéressé.

Par ailleurs, vous avez toujours, avec beaucoup d'écoute et de gentillesse été disponible et j'ai pu apprécier votre accompagnement rigoureux à la clinique et pour ce sujet assez technique. J'ai découvert l'aspect passionnant de la recherche en odontologie et de tout son intérêt pour la connaissance et l'évolution de la clinique.

Votre soutien et vos encouragements m'ont donné toute la motivation souhaitée pour l'accomplissement de ce travail. Un grand MERCI.

A notre membre du jury,

Monsieur le Professeur Philippe ROCHE-POGGI,

Quel beau symbole de vous compter parmi les membres du jury !

Outre votre notoriété, mille mercis pour votre pédagogie, votre disponibilité, votre sympathie et votre humilité. Votre manière d'enseigner et de travailler sont un exemple à suivre pour nous. Par ailleurs, votre tempérament méditerranéen, et, donc chaleureux, constitue un atout supplémentaire.

Veillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A notre membre du jury,

Madame la Docteur Charlotte Santunione,

C'est un grand honneur pour moi de vous compter parmi les membres du jury.

J'ai vraiment adoré travailler avec vous durant ma 6^{ème} année.

Vos conseils précieux sont toujours donnés avec pédagogie, gentillesse et diplomatie et cela nous donne envie de donner le meilleur.

Merci pour tout.

SOMMAIRE

Introduction	1
I. La pulpe dentaire	2
1. Anatomie du complexe pulpo-dentinaire.....	2
a. La dentine.....	2
b. La pulpe.....	3
2. Histologie de la pulpe dentaire.....	4
a. Composition cellulaire de la couche odontoblastique	5
A. Les odontoblastes	5
b. Composition cellulaire de la couche acellulaire de WEIL	8
c. Composition cellulaire de la couche de HOHL ou « zone de relais ».....	8
d. Composition cellulaire de la zone centrale de la pulpe	9
1. Les fibroblastes pulpaire.....	9
2. Les cellules souches	10
3. Les cellules immunitaires	10
a. Les cellules dendritiques	11
b. Les macrophages	11
c. Les lymphocytes T	12
4. Les cellules vasculaires et périvasculaires	12
e. La matrice extracellulaire de la pulpe	13
1. Les fibres collagéniques	13
2. La substance fondamentale	13
A. Les glycosaminoglycanes	14
B. Les glycoprotéines	14
C. L'élastine	14
D. Les métalloprotéases	14
II. L'endocardite infectieuse	15
1. Rappels anatomiques du cœur	15
2. Physiopathologie de l'endocardite infectieuse	18
3. Les différentes portes d'entrée bactériennes responsables d'EI	21
4. Microbiologie	22
a. Description des agents infectieux de l'endocardite infectieuse	24
1. Les bactéries gram positives	25
2. Les bactéries gram négatives	25

5.	Lien vasculaire entre la pulpe dentaire et l'organe du cœur	27
1.	De l'organe cardiaque vers l'organe dentaire	27
2.	De l'organe dentaire vers l'organe cardiaque	27
III.	Analyse anatomopathologique de la pulpe dentaire chez un patient atteint d'endocardite infectieuse	29
1.	Matériels et méthodes	29
a.	Récupération des échantillons	29
b.	Critères de sélection des échantillons	30
c.	Préparation des échantillons dentaires	31
2.	Les techniques d'analyse de la pulpe dentaire	33
a.	Culture directe	33
b.	Culturomics	33
c.	MALDITOF	34
d.	PCR	41
IV.	Résultats	47
V.	Discussion	47
VI.	Conclusion	50
VII.	Bibliographie.....	I

Introduction

L'endocardite infectieuse (EI) correspond à l'infection d'une ou de plusieurs valves cardiaques, natives ou prothétiques, le plus souvent par une bactérie ou plus rarement par un champignon. Malgré les progrès réalisés dans le domaine de l'antibioprophylaxie, l'endocardite infectieuse reste une pathologie fréquente et son traitement doit être adapté au pathogène impliqué. L'identification de l'agent étiologique, cruciale pour le diagnostic et le traitement de cette maladie, repose principalement sur les hémocultures aéro/anérobies réalisées avant toute antibiothérapie.

Cependant, l'identification microbiologique échoue jusqu'à 31% des cas (1). Les principales raisons de cet échec sont une antibiothérapie préalable au prélèvement sanguin ou une endocardite causée par des germes de culture fastidieuse.

La pulpe dentaire est un tissu stérile richement vascularisé. Elle est souvent utilisée comme matériel biologique pour détecter l'ADN d'agents infectieux et a permis d'isoler de nombreux pathogènes d'organismes humains ou animaux anciennement atteints d'une maladie infectieuse.

Il s'agit d'un tissu hautement spécialisé pluricellulaire, en relation avec les différents organes permettant la dissémination de pathogènes d'origine dentaire dans le reste de l'organisme mais également la colonisation de la pulpe dentaire par des agents infectieux (2).

Récemment, une étude de Nomura montrait que le *Streptocoque mutans*, impliqué dans l'endocardite infectieuse, a été isolé à partir de pulpes dentaires infectées indiquant ainsi que le canal dentaire est un réservoir bactérien fréquemment impliqué dans les bactériémies (3).

Dans notre étude, nous émettons l'hypothèse que les pathogènes responsables de l'endocardite infectieuse peuvent être détectés dans la pulpe dentaire.

Afin de démontrer cette hypothèse, nous allons prélever de nombreux échantillons dentaires de patients atteints d'endocardite infectieuse. Nous analyserons par technique MALDITOF et PCR les germes présents dans nos échantillons.

La concordance entre le germe responsable de l'EI, identifié sur les hémocultures, et le germe présent dans l'échantillon dentaire démontrerait alors qu'une identification plus rapide et efficace du pathogène responsable de l'endocardite infectieuse pourrait être faite via la pulpe dentaire et présenterait un intérêt clinique pertinent lorsque les hémocultures sont négatives (4).

I. La pulpe dentaire

I.1. Anatomie du complexe pulpo-dentinaire

La dent est composée de différents tissus.

Nous distinguons (5) :

- Les tissus minéralisés qui sont l'émail, la dentine (produite par les odontoblastes) et le cément.
- Un tissu conjonctif : la pulpe, qui est non minéralisée. Elle se situe dans la partie centrale de la dent (dans la chambre pulpaire et les canaux dentaires).

La dentine et la pulpe peuvent être considérées comme une seule entité anatomique et fonctionnelle : « le complexe pulpo-dentinaire ».

I.1.a. La dentine

La dentine est un tissu conjonctif minéralisé : elle est constituée de 70 % de cristaux d'hydroxyapatite, de 20 % de matière organique et de 10 % d'eau (6).

Il existe 3 types de dentine :

- La dentine primaire : elle apparaît en premier, lors de la formation de la dent.

La partie la plus externe de cette couche s'appelle le manteau dentinaire : elle est la seule à être atubulaire.

- La dentine secondaire : elle est physiologique (comme la primaire) et sécrétée après la primaire (après formation de la dent).

Ces deux dentines ont la même structure et la même composition. Seule la vitesse de sécrétion est différente, celle de la dentine primaire étant quatre fois plus rapide que la secondaire.

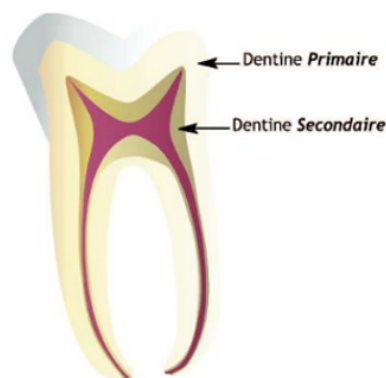


Figure 1 : Patron histologique des deux types de dentine physiologique, primaire et secondaire

- La dentine tertiaire : elle est pathologique c'est-à-dire qu'elle est formée à la suite d'une agression (bactérienne ou suite à une abrasion par exemple).

Il existe deux types de dentine tertiaire :

- La dentine réactionnelle, si l'agression est modérée et que les odontoblastes restent intacts. Il y a réactivation de l'activité de synthèse des odontoblastes.
- La dentine réparatrice, lorsque l'agression est plus importante et que la palissade odontoblastique est touchée. De nouvelles cellules sécrétrices sont mises en place et activées afin d'assurer la synthèse du pont dentinaire.

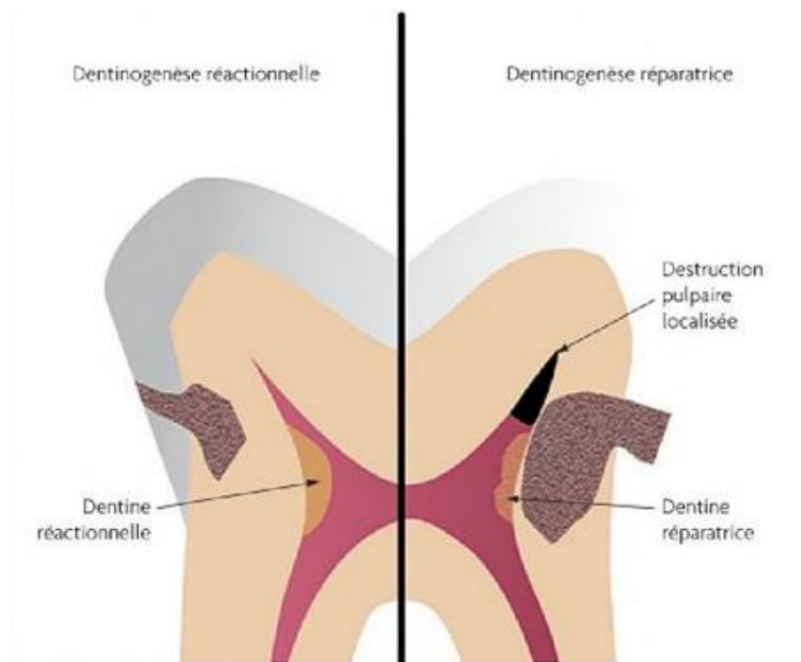


Figure 2 : Illustration des deux types de dentine tertiaire. (6)

I.1.b. La pulpe dentaire

La pulpe est organisée en plusieurs couches qui sont, de la périphérie vers l'intérieur : (6),(7)

- La couche odontoblastique : Elle comprend les odontoblastes, qui forment la « palissade odontoblastique » en périphérie grâce à des jonctions cellulaires étanches qui permettent la communication entre ces cellules.

- La couche acellulaire de Weil : Elle mesure environ 40 µm d'épaisseur. Elle comprend un réseau nerveux et capillaire important qui permet d'apporter aux odontoblastes tous les éléments nécessaires à leur activité de synthèse et de minéralisation.

- La couche de Höhl : zone de faible épaisseur riche en cellules, elle contient :

- Des fibroblastes
- Des cellules mésenchymateuses indifférenciées
- Des cellules dendritiques

-La zone centrale riche en cellules : elle contient :

- Des fibroblastes
- Des cellules mésenchymateuses indifférenciées
- Des cellules de défense immunocompétentes
- Des vaisseaux sanguins et des nerfs de gros diamètre.

La pulpe contient également une matrice extracellulaire faite de collagène (types I, III, V et VI), de fibronectine et de protéoglycannes.

La composition moléculaire de la pulpe et de la dentine est donc significativement différente.

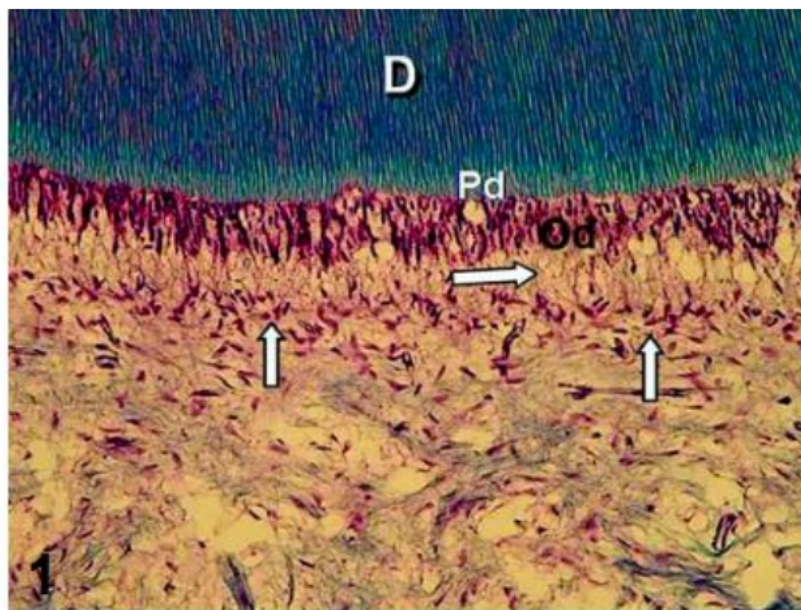


Figure 3 : Coupe histologique du complexe pulpo-dentinaire au microscope électronique(x64). (28)

On y trouve la pré-dentine (Pd), sous laquelle se trouve la couche odontoblastique (Od). La flèche horizontale montre la zone acellulaire de Weil, et les flèches verticales montrent la zone riche en cellules.

I.2. Histologie de la pulpe dentaire

La pulpe représente le tissu le plus vivant de la dent, du fait de sa nature conjonctivo-vasculaire. Elle est très hydratée et très vascularisée.

Son intégrité est indispensable au maintien de la vitalité des autres tissus.

Les principaux rôles de la pulpe sont les suivants :

→ Elle élabore la dentine.

- Elle assure les échanges métaboliques de toutes les masses dentinaires (vascularisation importante).
- Elle joue un rôle de défense.
- Elle assure en grande partie la sensibilité dentaire qui se manifeste par des sensations douloureuses.

I.2.a. Composition cellulaire de la couche odontoblastique

A. Les odontoblastes

Les odontoblastes sont des cellules mésenchymateuses de type fibroblastique qui sont responsables de la formation de la dentine.

Ces cellules sont immobilisées en périphérie pulpaire, et bordent la prédentine et la dentine qu'elles élaborent.

L'odontoblaste assure la minéralisation de la dentine, mais, pour ce faire ces cellules ont besoin de calcium et de phosphore. Ces cellules jouxtent les capillaires artériels et veineux. Elles sont également au contact des terminaisons nerveuses, et sont reliées entre elles par des complexes jonctionnels : on parle de palissade odontoblastique à cause des jonctions communicantes.

Il s'agit de cellules bien différenciées, et post-mitotiques (elles ne se reproduisent plus) dont le nombre et la forme varient en fonction de l'activité.

Enfin elles sont responsables de la dentinogénèse (primaire et secondaire) exprimant deux sialoprotéines : la DSP (sialoprotéine dentinaire) et la DPP (phosphoprotéine dentinaire).

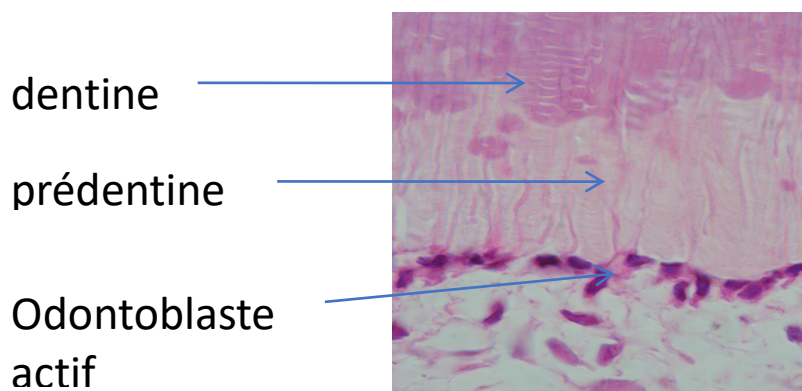


Figure 4 : Coupe histologique de la couche odontoblastique avec présence d'odontoblastes actifs. Les prolongements odontoblastiques sont situés dans la prédentine et dans la dentine. (29)

Sur un plan phylogénétique, l'odontoblaste dérive de structures cellulaires de type ostéoblastique.

Il présente :

- un corps cellulaire de forme oblongue de 20 à 30 µm de long situé en dehors de la dentine.
- un prolongement cytoplasmique inclus dans les tubulis dentinaires.

Il s'agit d'une cellule fortement polarisée. En effet, le corps cellulaire est organisé en 3 parties :

- un pôle basal qui est occupé par le noyau : il s'agit du lieu de stockage de l'ADN nucléaire.
- une partie centrale, responsable de :
 - ⇒ la synthèse de macromolécules protéiques (procollagène)
 - ⇒ la modification, le tri et l'assemblage des macromolécules (procollagène).
- un pôle distal ou apical, responsable :
 - ⇒ Contrôle des produits de sécrétion
 - ⇒ Contrôle de la matrice extra-cellulaire (dégradation, réabsorption) par les lysosomes.

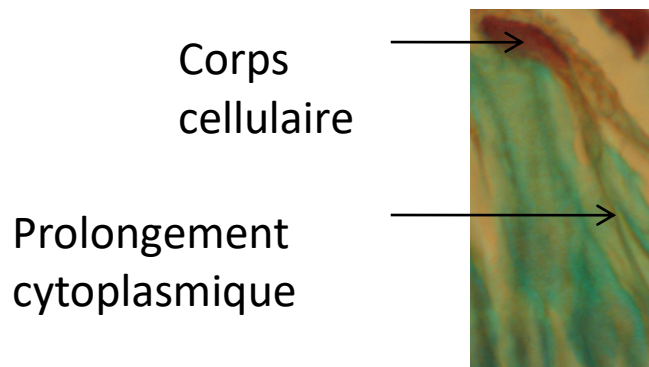


Figure 5 : Organisation cellulaire d'un odontoblaste (cellule polarisée). (29)

Concernant les prolongements odontoblastiques, ils sont situés dans la pré-dentine et dans la dentine. Appelés également « fibres de Tomes », ils occupent les tubulis dentinaires et participent activement à la minéralisation dentinaire.

On peut noter la présence de filipodes qui vont permettre de mettre en relation les odontoblastes avec les autres cellules (immunitaires par exemple).

Les odontoblastes subissent des variations de forme et de structure qui vont conditionner leurs différentes fonctions.

On note une cohésion mécanique entre les odontoblastes ce qui crée ainsi une véritable barrière histologique.

La MORPHOLOGIE des odontoblastes est associée à leur ACTIVITE FONCTIONNELLE.

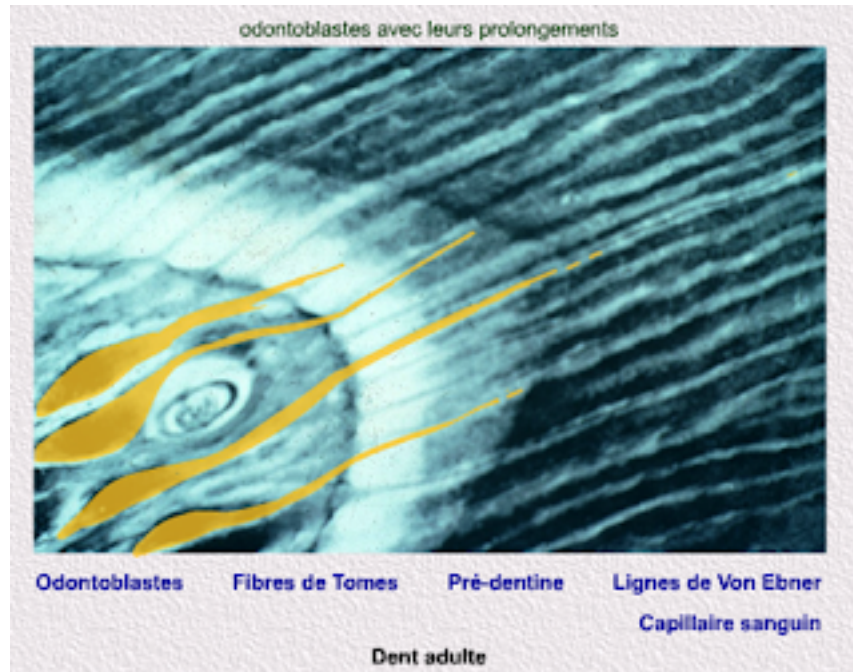


Figure 6 : Coupe histologique de 4 odontoblastes actifs (en jaune). (30)

Processus de différenciation des odontoblastes :

Lors de la formation et l'éruption de la dent, les odontoblastes, étant des cellules hautement différenciées présentent une importante activité cellulaire. Ensuite, cette activité diminue et les odontoblastes passent à un état quiescent.

Lors de la différenciation cellulaire, il faut plusieurs mitoses pour parvenir au stade de l'odontoblaste. La dernière division cellulaire met en jeu deux cellules : une appelée à migrer vers la palissade et qui donnera un odontoblaste ; et une autre ne se différenciera pas et sera stockée dans la couche de Höhl.

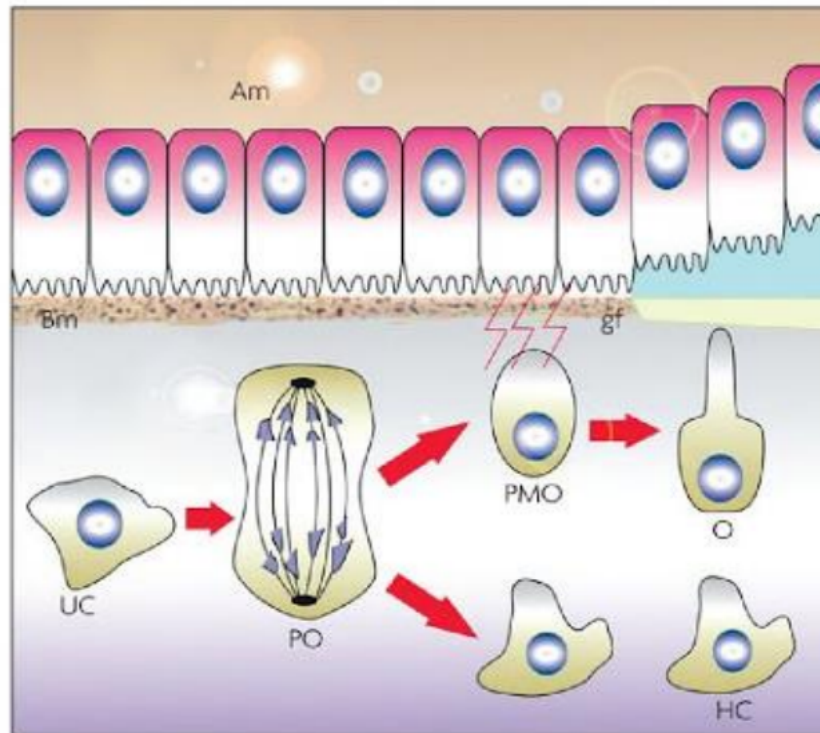


Figure 7 : Illustration de la différenciation terminale de l'odontoblaste. (8).

A l'issue de la dernière mitose, la cellule fille en contact avec la membrane basale se différencie en odontoblaste, tandis que la seconde cellule fille rejoint les cellules de la couche de Höhl. Am : améloblaste ; Bm : membrane basale ; UC : cellule indifférenciée ; PO : pré-odontoblaste ; PMO : odontoblaste post mitotique ; O : odontoblaste sécréteur ; gf : facteur de croissance ; HC : cellule de la couche de Höhl.

I. 2.b. Composition cellulaire de la couche acellulaire de WEIL

Entre la couche odontoblastique et la couche cellulaire de HOHL, se situe la couche acellulaire de WEIL. Elle comprend un réseau nerveux et capillaire important qui permet d'apporter aux odontoblastes tous les éléments nécessaires à leur activité de synthèse et de minéralisation.

I. 2.c. Composition cellulaire de la couche de HOHL ou « zone de relais »

Les cellules de la couche de HOHL sont activées dans des conditions pathologiques : traumatisme, infection... Lorsqu'il y a une atteinte irréversible des odontoblastes ; on a une migration de ces cellules de la zone de relais vers l'intérieur de la couche odontoblastique.

Il y a différenciation des cellules de relais en cellules de type odontoblastique. Ces cellules sont capables de remplacer les odontoblastes atteints. Elles ont un rôle primordial dans la cicatrisation et sont responsables de la synthèse de dentine tertiaire type réparatrice.

La population cellulaire de la couche de Höhl est composée par :

→ *Les cellules fibroblastiques*

Ce sont les cellules qui forment et détruisent la matrice extracellulaire. Dans cette zone, elles présentent une forme plutôt arrondie ou ovoïde ainsi que des prolongements cytoplasmiques leur permettant d'établir des contacts membranaires avec les odontoblastes.

→ *Les cellules mésenchymateuses indifférenciées : « cellules souches de la pulpe »*

Après la différenciation terminale des odontoblastes, ces cellules filles localisées dans la zone de Höhl, pourraient être des cellules dentinogéniques « en attente », capables de donner naissance à des odontoblastes de remplacement (ou odontoblastes de deuxième génération) lorsque les odontoblastes primaires ont été détruits par une agression. Il s'agit donc des cellules filles non odontoblastiques qui se sont formées lors de la dernière mitose des préodontoblastes. Leur présence intervient dans le processus de réparation pulpaire. Elles apparaissent comme de grandes cellules polyédriques possédant un noyau central volumineux, un cytoplasme abondant et des extensions cytoplasmiques périphériques. Leur nombre diminue avec l'âge. Ces cellules en fonction du stimulus semblent pouvoir se différencier en fibroblastes et en odontoblastes dits alors de « deuxième génération ».

→ *Les cellules immunitaires dendritiques*

Elles sont de grande taille et présentent au moins trois extensions cytoplasmiques (ou dendrites) qui les relient entre elles. Cela leur permet de constituer un réseau continu dans l'ensemble de la pulpe. Elles sont intimement associées aux capillaires sanguins.

I. 2.d. Composition cellulaire de la zone centrale de la pulpe

I. 2.d.1. Les fibroblastes pulpaires

La zone centrale de la pulpe est constituée d'un grand nombre de fibroblastes. Les fibroblastes sont des cellules jeunes capables d'élaborer et de sécréter des fibres de collagène. Elles ont une forme type fusiforme. Elles sont non polarisées et possèdent de nombreux organites intracellulaires. Leur noyau est volumineux. Elles sont également impliquées dans la réabsorption du collagène qui a vieilli.

Leurs rôles :

→ Synthèse protéique : élaboration et remaniement de la matrice extracellulaire de la pulpe (fibres de collagène).

→ Rôle dans la défense immunitaire :

-expression de chimiokines

-permet la migration des cellules dendritiques.

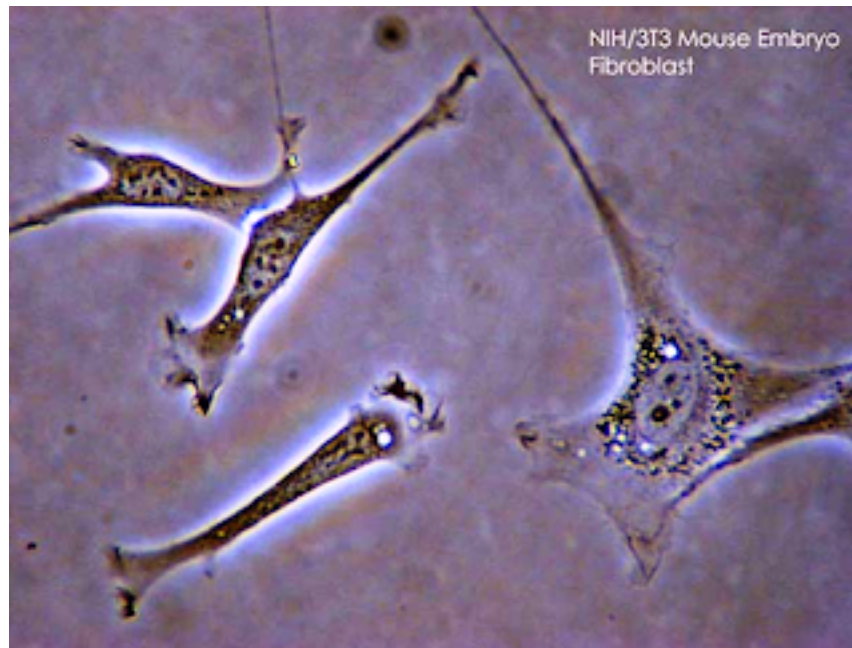


Figure 8 : Coupe histologique d'un fibroblaste pulpaire (avec sa forme fusiforme). (30)

I. 2.d.2. Les cellules souches

La présence de cellules souches dans la pulpe a été mise en évidence dès 2000 par de Gronthos (9), au sein de pulpe de dents permanentes. Elles ont été nommées DPSCs pour « dental pulp stem cells ».

Ces cellules souches pulpaires sont des cellules mésenchymateuses indifférenciées, capables de s'auto-renouveler et de se différencier en différents types cellulaires (odontoblastes de 2^{ème} génération, fibroblastes, chondroblastes, adipocytes, cellules nerveuses...).

Elles sont donc impliquées dans la cicatrisation par l'élaboration de dentine tertiaire de type dentine réparatrice.

I. 2. d.3. Les cellules immunitaires

Plusieurs types de cellules immunitaires sont présents dans la pulpe. La pulpe saine, non enflammée, ne contient que des cellules dendritiques, des macrophages et des lymphocytes T.

Les cellules dendritiques et les macrophages constituent environ 8% de la population totale des cellules pulpaire. Elles permettent une réponse rapide à toute agression bactérienne en assurant une surveillance immunitaire du tissu pulpaire.

Comme tous les tissus conjonctifs lâches, la pulpe dentaire contient des cellules immunocompétentes.

Trois principaux types cellulaires peuvent être décrits dans la pulpe saine :

I. 2.d.3.a. Les cellules dendritiques

Deux populations distinctes de cellules dendritiques ont été identifiées dans la pulpe saine : les cellules dendritiques CD11c+, présentes principalement à la jonction dentine/pulpe, et les cellules dendritiques F4/80+, concentrées autour des vaisseaux sanguins du centre de la pulpe (10). Étant reliées entre elles par leurs dendrites, elles forment de ce fait un réseau continu dans l'ensemble du tissu pulpaire. Ces cellules sont considérées comme un élément clé du système de l'immunosurveillance de la pulpe.

I. 2.d.3.b. Les macrophages

Les macrophages sont de grandes cellules rondes ovalaires ou étoilées. Dans une pulpe saine, les macrophages sont impliqués dans l'élimination des cellules mortes. Au cours de l'envahissement bactérien de la pulpe, les macrophages éliminent les bactéries et interagissent avec les autres cellules de l'immunosurveillance comme les lymphocytes T.

Les histiocytes et les macrophages issus des monocytes d'origine sanguine constituent les cellules de défense de la pulpe. Les macrophages produisent des facteurs solubles de la famille des cytokines. Ces cellules participent à la réaction immunitaire et sont impliquées dans des fonctions de phagocytose.

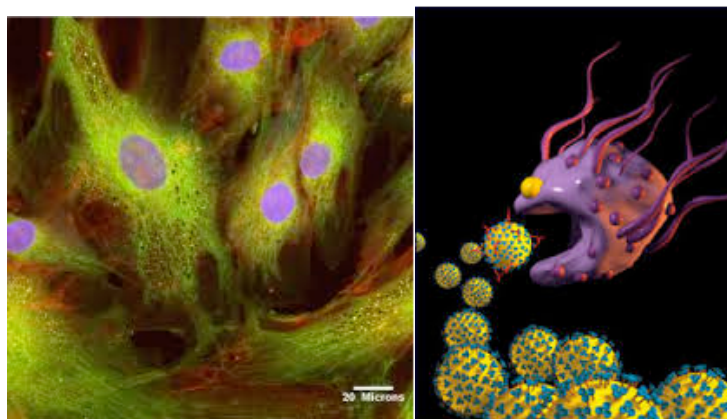


Figure 9 : Image en ME d'un macrophage qui ingère une bactérie. (30)

I. 2.d.3.c. Les lymphocytes T

Les lymphocytes T sont activés par les cellules dendritiques et ils interagissent avec les macrophages lors de l'inflammation pulpaire.

I. 2.d.4. Les cellules vasculaires et périvasculaires

Les péricytes sont les cellules vasculaires les plus importantes. Ces cellules sont ancrées sur certaines cellules endothéliales des capillaires. Elles permettent la régulation du débit sanguin via le contrôle des contractions de l'endothélium et via leurs récepteurs aux substances vasoactives (prostacycline, angiotensineII, endothéline). Elles sont impliquées dans l'angiogenèse et la néoangiogénèse et donc dans la cicatrisation.

La vascularisation pulpaire dentaire est caractérisée par 1 à 2 artérioles et 2 à 4 veinules suggérant que la colonisation bactérienne au cours de la bactériémie pourrait se produire. Récemment, il a été rapporté que l'ADN de *Coxiella burnetii* pouvait être détecté dans la pulpe dentaire des cobayes infectés (11) et que le VIH pouvait être détecté dans la pulpe dentaire des patients séropositifs (12).

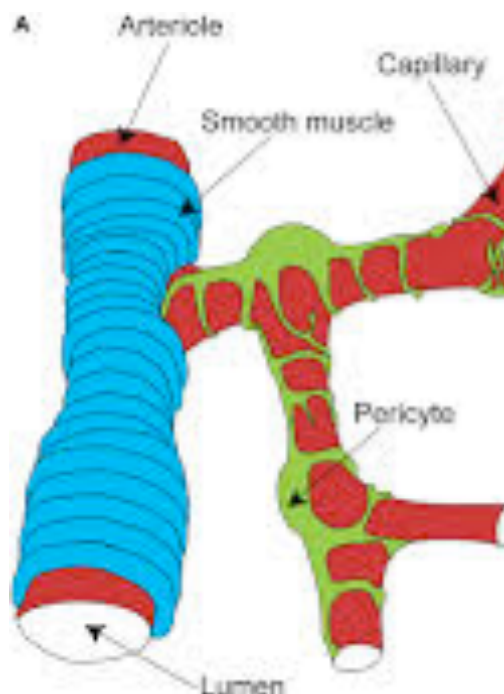


Figure 10 : Schéma montrant les péricytes présents sur les vaisseaux sanguins. (30)

I. 2.e. La matrice extracellulaire de la pulpe

Le compartiment extracellulaire de la pulpe est composé de :

- fibres collagéniques pour la plupart
- et de substance fondamentale.

I. 2.e.1. Les fibres collagéniques

Les fibres de collagène constituent plus de 30% des protéines de la substance fondamentale pulpaire, avec 55% de collagène de type I et 45% de collagène de type III.

Ce sont des fibres fines localisées essentiellement dans la partie centrale de la pulpe, où elles s'associent aux protéoglycanes.

Cette zone comporte également des fibres de collagène de type IV, dont les faisceaux passent à travers la couche des odontoblastes et attachent la pulpe à la prédentine (13).

Les fibres s'attachent aux cellules grâce aux protéines d'adhésion ; elles constituent une trame qui consolide la cohésion de la pulpe.

Ci-dessous les pourcentages de collagène fibrillaire présent dans la matrice extracellulaire de la pulpe dentaire :

- Collagène de type I (56%)
- Collagène de type III (41%)
- Collagènes de type V et VI (2%)
- Collagène de type IV : membrane basale entourant l'endothélium des vaisseaux sanguins.

Il est à noter que la quantité de collagène, dans la pulpe, augmente avec l'âge.

I.2.e.2. La substance fondamentale

La substance fondamentale de la pulpe dentaire est un gel hydraté dans lequel baignent les cellules et les éléments fibrillaires. Elle comporte de l'eau et des substances organiques : protéoglycanes, protéines d'adhésion et lipides.

Elle se comporte à la fois comme :

- un "filtre" permettant de sélectionner les molécules destinées à transiter entre la circulation sanguine et les cellules pulpaires et entre les cellules pulpaires et les sites d'élaboration tissulaire,
- un "site échangeur d'ions" permettant le transfert des ions minéraux de la circulation vers les odontoblastes.

Elle assure aussi un contrôle de la minéralisation, se comporte comme un amortisseur hydraulique, et comme une barrière à la protection bactérienne.

Une altération dans la composition de la substance fondamentale causée par l'âge ou la pathologie interfère donc avec sa fonction et produit des modifications métaboliques perturbant la fonction cellulaire et plus particulièrement la fonction odontoblastique.

Les principaux composants de la substance fondamentale de la pulpe sont les glycosaminoglycannes et les glycoprotéines qui permettent avec les fibres collagène la formation de réseaux.

Associés à l'eau, la présence de ces réseaux explique l'effet "amortisseur" de la substance fondamentale vis à vis des cellules pulpaire.

A. Les glycosaminoglycannes

- Assurent la rétention de l'eau dans la pulpe
- Interviennent dans la fibrillogénèse du collagène.

B. Les glycoprotéines (fibronectine)

Synthétisées en majorité par les fibroblastes pulpaire, ces protéines adhésives se lient aux membranes plasmiques et au collagène. Elles permettent l'adhésion des cellules au réseau collagéniques. Elles jouent un rôle majeur dans les communications intercellulaires.

C. L'élastine

Elle est présente autour des artérioles pulpaire, elle est responsable de l'élasticité des parois vasculaires.

D. Les métalloprotéases

Il s'agit d'enzymes, capables de dégrader presque toutes les protéines de la matrice extracellulaire. Elles sont impliquées dans la minéralisation et dans les processus de remodelage de la pulpe normale, mais également au cours des phénomènes inflammatoires et cicatriciels. Elles semblent jouer un rôle dans la maturation de la prédentine.

- MMP1 & MMP13 fibroblastiques dégradent le collagène de type I et de type III
- MMP2 & MMP9 agissent sur les collagènes de type IV et V.

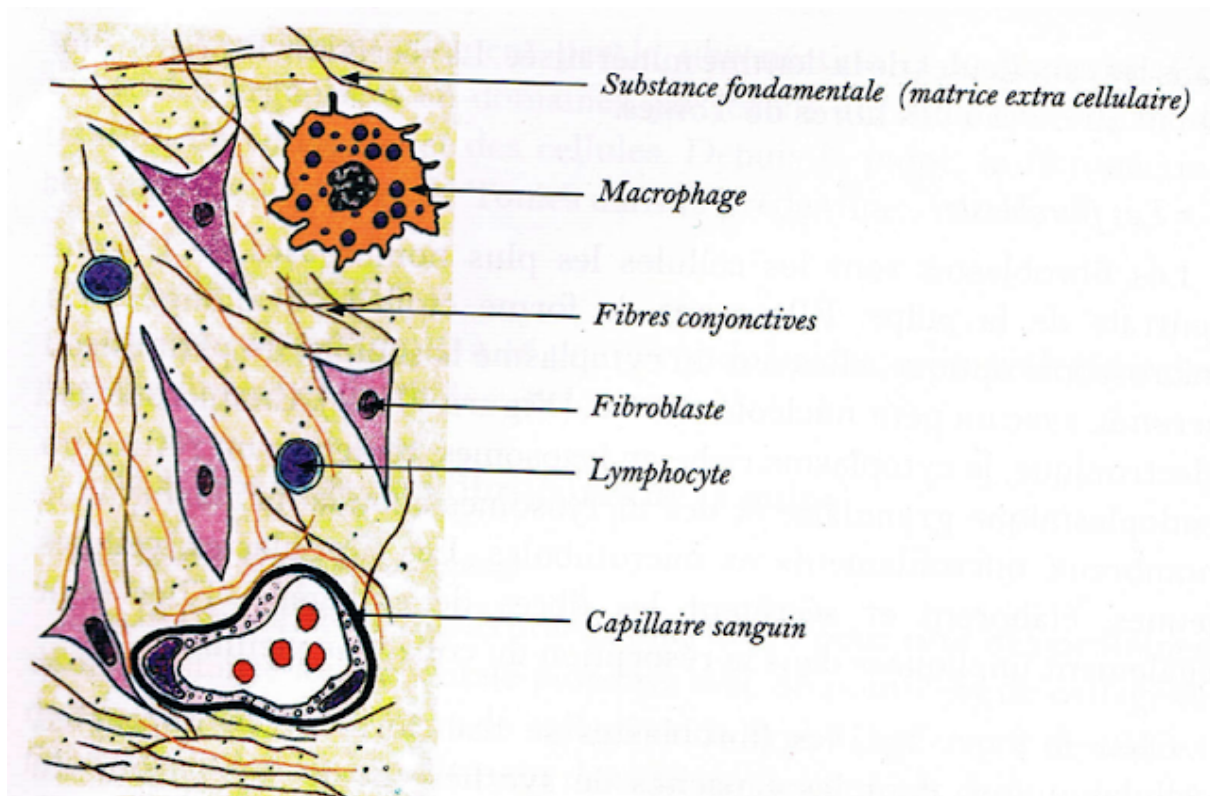


Figure 11 : Schéma récapitulatif des cellules présentes dans la pulpe dentaire. (30)

II. L'endocardite infectieuse

L'endocardite infectieuse est une infection potentiellement mortelle. Il s'agit de l'infection d'une ou plusieurs valves cardiaques, natives ou prothétiques, le plus souvent par une bactérie, plus rarement par un champignon. Les agents infectieux gagnent la circulation sanguine via une porte d'entrée qu'il convient de rechercher et de traiter le cas échéant, ils se fixent au niveau de la valve. Le diagnostic repose sur des arguments cliniques, bactériologiques et d'imagerie (échographie) (14).

II.1. Rappels anatomiques du cœur

Le cœur est un muscle creux, situé au niveau du thorax entre les poumons et reposant sur le diaphragme. Ce muscle est une pompe ayant pour fonction de propulser le sang vers tous les organes de l'organisme. Le cœur pompe environ 5 litres de sang par minute et chaque battement de cœur envoie le sang vers les poumons et les autres parties du corps. C'est grâce à sa structure interne complexe que le cœur est capable de réaliser cette opération.

Le cœur possède un côté droit et un côté gauche. Le côté droit comprend l'oreillette droite et le ventricule droit ; ces chambres récupèrent le sang pauvre en oxygène et l'envoient dans les poumons où il est enrichi en oxygène. Le côté gauche du cœur comprend l'oreillette gauche et le ventricule gauche ; ces chambres récupèrent et envoient le sang riche en oxygène dans le corps. Quatre valvules permettent au sang de se déplacer dans le bon sens. Deux des valvules cardiaques séparent les oreillettes droite et gauche des ventricules droit et gauche. Les deux autres valvules séparent le ventricule droit de l'artère pulmonaire et le ventricule gauche de l'aorte.

Au cours d'un battement normal du cœur, le sang pauvre en oxygène renvoyé par le corps pénètre dans l'oreillette droite par la veine cave (supérieure et inférieure). L'oreillette droite se contracte, ce qui fait passer le sang par la valvule tricuspide ; il pénètre alors dans le ventricule droit. Le ventricule droit se contracte et envoie le sang par la valvule pulmonaire dans l'artère pulmonaire (droite et gauche), puis dans les poumons.

Simultanément, le sang riche en oxygène provenant des poumons est amené au cœur par les veines pulmonaires. La veine pulmonaire se vide dans l'oreillette gauche qui se contracte pour pousser le sang riche en oxygène par la valvule mitrale, puis dans le ventricule gauche. Le ventricule gauche se contracte et pousse le sang dans la valvule aortique, puis dans l'aorte qui distribue le sang dans les artères de l'ensemble du corps. Le cœur est alimenté en sang par les artères coronaires, qui bifurquent sur l'aorte.

(OD = oreillette droite, VD = ventricule droit, OG = oreillette gauche, VG = ventricule gauche.)

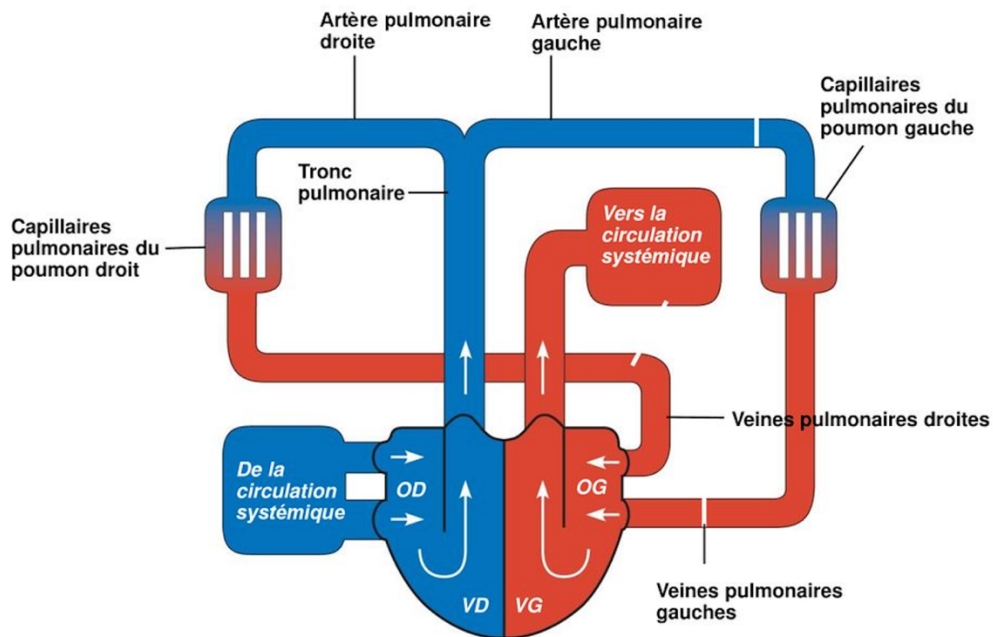


Figure 12 : Représentation schématique de la circulation pulmonaire. (32)

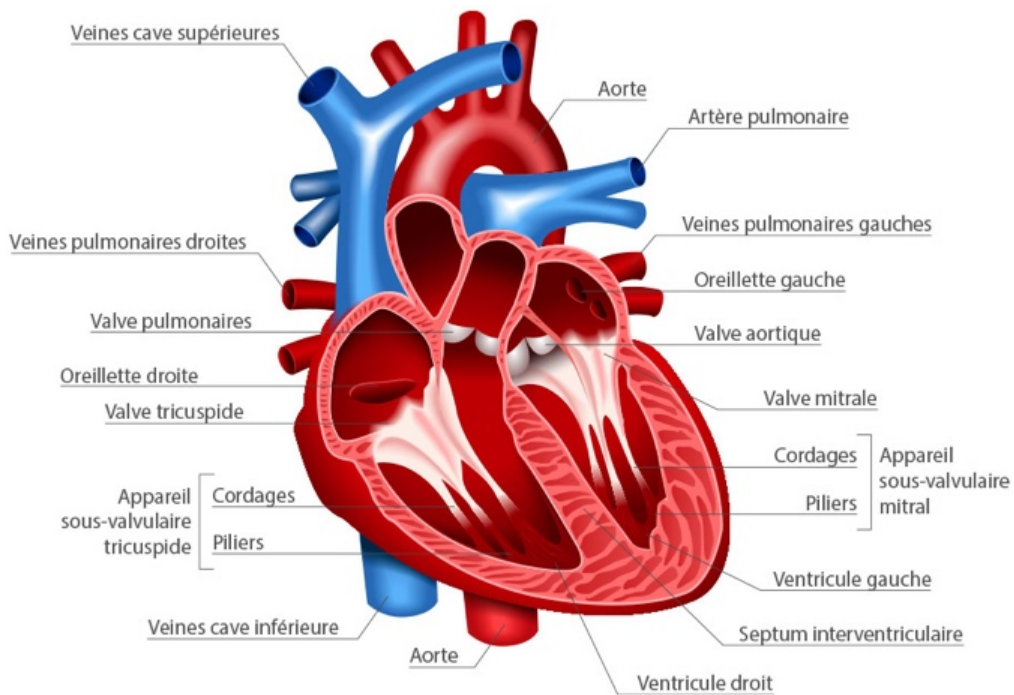


Figure 13 : Anatomie et fonctionnement du cœur. (33)

La structure interne du cœur se compose de 3 couches avec de l'intérieur vers l'extérieur :

- L'endocarde est une membrane endothéliale qui tapisse la face interne du cœur

- Le myocarde constitue le muscle cardiaque proprement dit ; c'est un muscle strié c'est-à-dire qu'il possède la même structure que les muscles des membres et la même force de contraction
- Le péricarde est un sac à double paroi qui enveloppe le cœur.

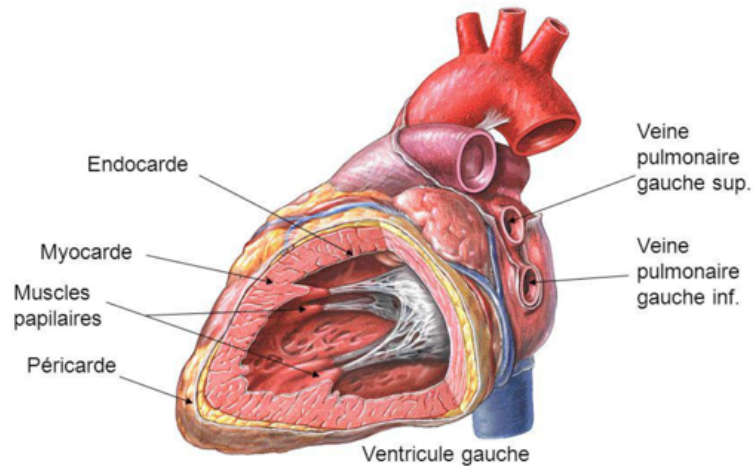


Figure 14 : Structure interne du cœur avec ses différentes couches. (34)

II.2. Physiopathologie de l'endocardite infectieuse (15)

L'endocardite infectieuse provoque une infection d'une ou plusieurs valves cardiaques, par un micro-organisme, bactérie le plus souvent, plus rarement germe intracellulaire ou levure.

L'endothélium valvulaire est normalement résistant à la colonisation par des bactéries circulantes. Cependant, à l'occasion d'une bactériémie, des bactéries peuvent adhérer à l'endocarde lésé (par la turbulence du flux sanguin, électrodes, cathéters, injection répétée de particules solides) et s'y multiplier, avec pour conséquence le développement des lésions caractéristiques de l'EI.

On retrouve :

– Les végétations : ce sont des amas fibrinoplaquettaires appendus sur les valves, et au milieu desquels siègent les colonies microbiennes. Leur masse est irrégulière, friable et nécrotique, et elles sont implantées sur les commissures ou feuillets valvulaires.

Les végétations sont susceptibles d'emboliser dans la circulation sanguine.

L'adhésion des micro-organismes à la végétation est possible grâce à la production par ceux-ci d'une matrice extracellulaire protéique et polysaccharidique (le slime) constituant un

biofilm. Le biofilm se développe sur les tissus lésés mais surtout sur les matériaux étrangers : cathéters, pacemakers et prothèses valvulaires. Au sein du biofilm, les bactéries sont « à l'abri » de l'action des moyens de défense de l'organisme mais aussi de l'action des antibiotiques.

Les bactéries enchâssées dans le biofilm ont une sensibilité aux antibiotiques 100 à 1 000 fois moindre que celle des bactéries libres dites « planctoniques ».

Le biofilm constitue aussi une réserve de bactéries quiescentes, source d'infections récurrentes. La végétation mesure de quelques millimètres à plusieurs centimètres et altère le fonctionnement valvulaire (insuffisance ou plus rarement obstruction valvulaire).

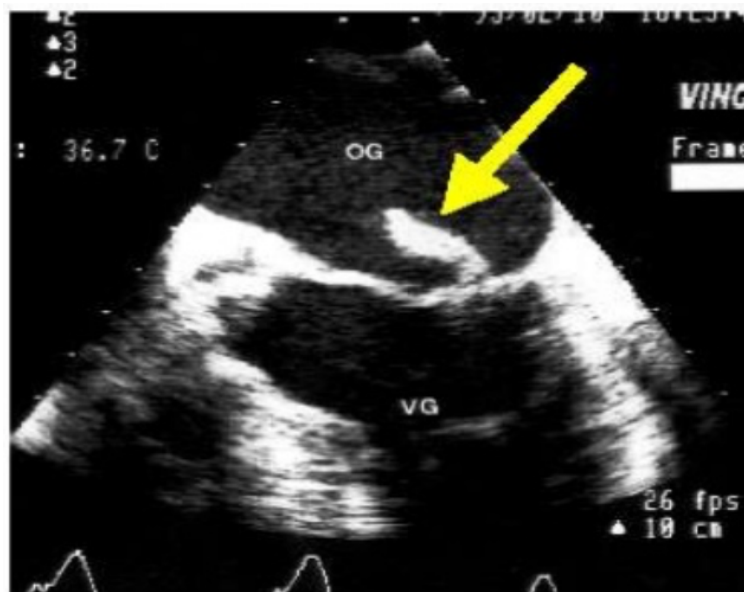


Figure 15 : Échocardiographie montrant une végétation de la valve mitrale menaçant de se rompre. (36)

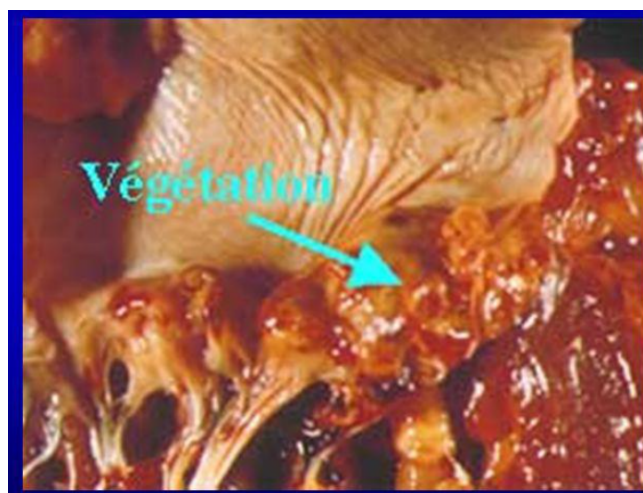


Figure 16 : Végétation per opératoire. (34)

À partir d'elle, l'infection peut s'étendre à l'ensemble de la valve générant une destruction progressive ou une mutilation valvulaire :

- Ulcération ou perforation valvulaire.
- Rupture de cordage (valve mitrale) ou de sigmoïdes (aortique).
- Abscès annulaires (valve aortique+++): L'abcès annulaire est une néocavité à contenu purulent suite à l'extension de l'infection au tissu péri-valvulaire.
- Fistulisation à l'origine de tableaux plus ou moins sévères d'insuffisance cardiaque.

La végétation peut également essaimer dans la circulation générale avec constitution de foyers infectieux secondaires (abcès tissulaires) ou être à l'origine d'embolies artérielles avec constitution d'infarctus spléniques, rénaux, cérébraux... Enfin, la végétation est à l'origine d'une circulation d'antigènes favorisant la production de complexes immuns circulants pouvant conduire à des phénomènes vascularitiques (glomérulonéphrite, purpura pétéchial, érythème de Janeway...).

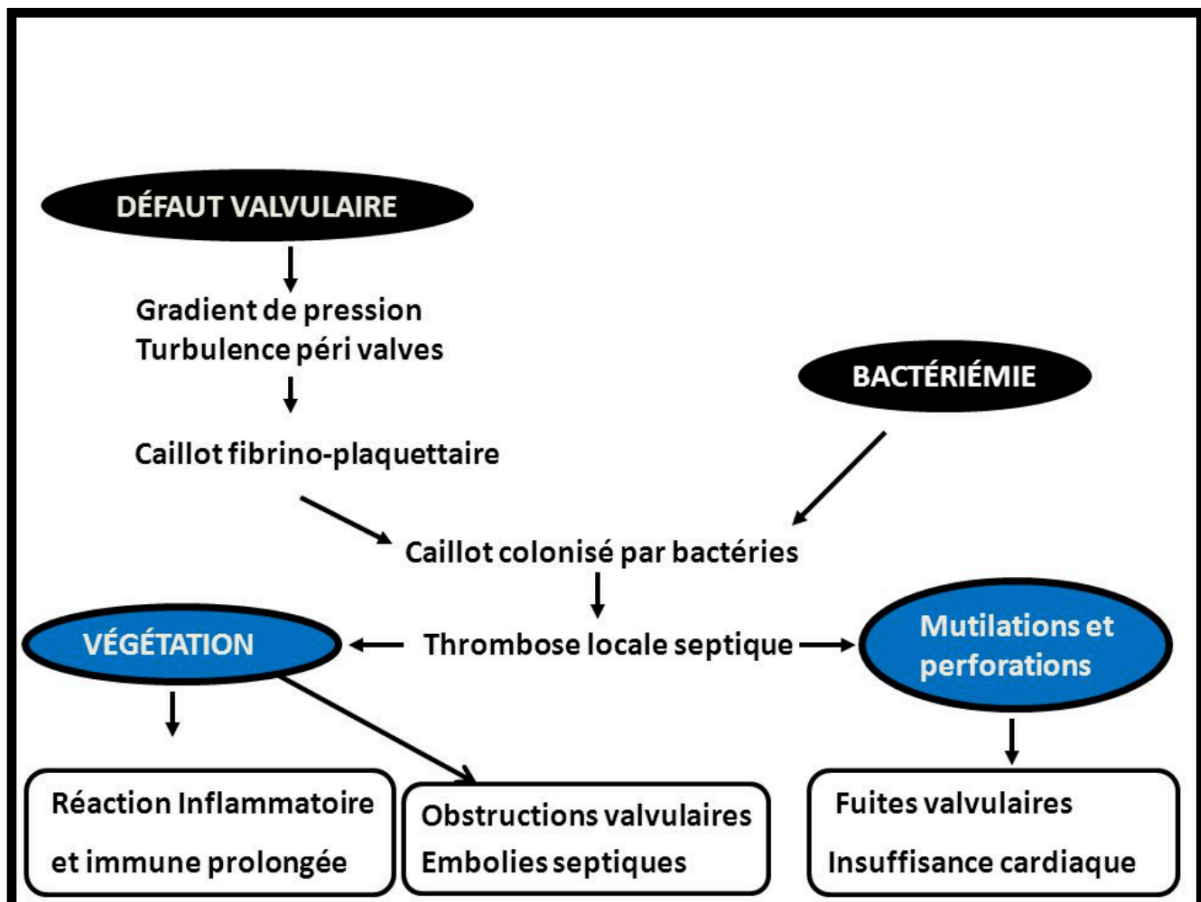


Figure 17 : Physiopathologie de l'endocardite infectieuse. (37)

Deux groupes de patients doivent être distingués :

- Groupe dit « à haut risque d'endocardite infectieuse », où l'incidence et la morbi/mortalité de l'endocardite infectieuse sont élevées et un

- Groupe dit « à risque moins élevé d'endocardite infectieuse » avec incidence et gravité moindres.

Cardiopathies à haut risque	Cardiopathies à risque moins élevé
Prothèse valvulaire (mécanique, homogreffe ou bioprothèse) Cardiopathie congénitale cyanogène non opérée ou avec shunts résiduels, dérivation chirurgicale ou conduit prothétique, matériel prothétique implanté chirurgicalement ou par voie percutanée (pendant les 6 mois qui suivent si correction complète) Antécédent d'endocardite infectieuse	Valvulopathie : Insuffisance Aortique, Insuffisance Mitrale, Rétrécissement Aortique, Prolapsus de la Valve Mitrale avec IM et/ou épaissement valvulaire* Bicuspidie aortique Cardiopathie congénitale non cyanogène sauf Communication InterAuriculaire** Cardiomyopathie hypertrophique obstructive (avec souffle à l'auscultation)

* IA : insuffisance aortique ; IM : insuffisance mitrale ; RA : rétrécissement aortique ; PVM : prolapsus de la valve mitrale. ** CIA : communication interauriculaire (cardiopathie non à risque).

Figure 18 : Cardiopathies à risque d'endocardite infectieuse. (15)

II.3. Les différentes portes d'entrées bactériennes responsables d'endocardite infectieuse

Une bactériémie (ou fongémie) transitoire est l'élément déclenchant de l'endocardite infectieuse. Ainsi, certains gestes invasifs provoquent le passage de bactéries dans le flux sanguin circulant et sont associés à un risque accru d'endocardite infectieuse.

Les bactéries responsables de l'EI peuvent provenir de différentes portes d'entrées (classées par ordre de fréquence) :

- bucco-dentaire ++ : caries, extraction dentaire, brossage dentaire, infections parodontale ou endodontique, détartrage ou autres actes favorisant la dissémination des germes bactériens
- digestive : diverticules, chirurgies digestives
- uro-génitale : infection, chirurgie de la prostate

- cutanée : plaies infectées, dermatoses
- ORL : foyer amygdalien
- cathéter vasculaire dans les EI nosocomiales.

Agents infectieux	Porte d'entrée
<i>Staphylococcus aureus</i> , staphylocoques coagulase négative	Cutanée, matériel endovasculaire (cathéters veineux, pacemaker, cathéters d'hémodialyse...), toxicomanie intraveineuse
Streptocoques oraux	Buccodentaire
<i>Streptococcus gallolyticus</i> (streptocoques du groupe D)	Digestive (cancer ou polypes coliques)
Entérocoques	Digestive Urinaire
Bactéries du groupe HACEK*	Buccodentaire
<i>Candida</i> spp.	Matériel endovasculaire Toxicomanie intraveineuse

* *Haemophilus* spp., *Aggregatibacter* spp., *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Kingella* spp.

Figure 19 : Agents infectieux responsables d'endocardite infectieuse et leurs portes d'entrée. (15)

II.4. Microbiologie (15) (16)

L'argument microbiologique est fondamental dans le diagnostic de l'endocardite infectieuse.

L'identification de l'agent infectieux peut être réalisée par une hémoculture.

Il faudra réaliser 3 prélèvements sanguins sur 24h, espacés d'au moins 1heure, pour cultures aéro/anaérobies.

Dans 90 % des cas, un micro-organisme est identifié. Les micro-organismes impliqués sont :

- les **staphylocoques** (*S. aureus*, *Staphylocoque à coagulase négative*),
- les **streptocoques oraux** (*S. sanguinis*, *S. mitis*, *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. anginosus*, *S. intermedius*, *S. constellatus*, *S. bovis*) et
- les **entérocoques** (*E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*).

Les streptocoques, les staphylocoques et les entérocoques représentent près de 90% des germes en cause. En dehors de ces trois principales familles, de nombreux autres micro-organismes (bactéries et levures) peuvent être responsables d'endocardite infectieuse.

Agent infectieux	Répartition (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	30
Streptocoques oraux	20
<i>Streptococcus gallolyticus</i> (ex <i>S. bovis</i>)	13
Entérocoques	10
Staphylocoques coagulase négative	10
Autres agents infectieux (bactéries du groupe HACEK, <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Bartonella</i> spp., <i>Candida</i> spp., ...)	8
Hémocultures négatives	5 à 10

Figure 20 : Répartition des agents infectieux responsables d'endocardites infectieuses. (15)

Cependant, dans 10 % des cas, l'hémoculture est négative et peut être la conséquence de 3 situations (1), (17) :

-les endocardites décapitées par une antibiothérapie préalable

- les endocardites liées à des pathogènes de croissance fastidieuse (bactéries du groupe HACEK : *Haemophilus parainfluenzae*, *H. aphrophilus*, *H. paraphrophilus*, *H. influenzae*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Kingella kingae*, streptocoques déficients – *Gemella*, *Granulicatella*, et *Abiotrophia* sp.– *Propionibacterium acnes*, *Candida* sp.)

-les « vraies » endocardites infectieuses à hémocultures négatives, liées à des bactéries intracellulaires non cultivables en routine dans le sang avec les technologies actuelles : en France, il s'agit de *Bartonella sp.*, *Coxiella burnetti* et *Tropheryma whippelii*, dont le diagnostic est très difficile et est en général obtenu par PCR sur du tissu valvulaire.

Etiologies	Microorganismes en cause	Fréquence, porte d'entrée, valvulopathie préexistante ou non
Endocardite « décapitée »	– Un traitement antibiotique administré avant la réalisation des hémocultures	Première cause d'EI à hémocultures négatives
Présence d'un germe de culture difficile	– bactéries du groupe HACCEK 4: <i>Haemophilus aphrophilus</i> / <i>paraphrophilus</i> , <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> , <i>Cardiobacterium hominis</i> , <i>Eikenella corrodens</i> et le genre <i>Kingella</i>	3 % des EI Porte d'entrée dentaire et ORL Valves natives
	– <i>Bartonella spp</i>	3 % des EI B. <i>quintana</i> : patients en situation de précarité, pas de valvulopathie connue B. <i>henselae</i> : sujets immunocompétents, valvulopathie préexistante ; contact avec les chats
	– streptocoques déficients (renommés <i>Abiotrophia spp</i> , <i>Granulicatella spp</i>)	1 à 2 % des EI Porte d'entrée ORL Valves natives
	– <i>Brucella spp</i> (<i>B. melitensis</i> +++)	< 1 à 3 % des EI Contamination directe au contact d'animaux infectés ou indirecte (ingestion de produits laitiers contaminés ou inhalation de poussières de litière) Valvulopathie préexistante le plus souvent
Présence d'un mycète	– <i>Candida spp</i> , <i>Aspergillus spp</i>	1 à 5 % des EI doivent être suspectés lors d'endocardites postopératoires, sur prothèses cardiaques et chez des toxicomanes.
Présence d'un germe non cultivable sur milieu usuel	– <i>Coxiella burnetii</i>	3 à 5% des EI Zoonose valvulopathie préexistante / prothèse valvulaire
	– <i>Tropheryma whippelii</i> – <i>Legionella pneumophila</i> , – <i>Chlamydia spp</i> , – <i>Mycoplasma spp</i>	Exceptionnel- Valve native Rare –prothèse valvulaire

Figure 21 : Principales causes de la négativité des hémocultures lors d'endocardite, éléments d'épidémiologie. (35)

II. 4.a. Description des agents infectieux de l'endocardite infectieuse

Il est largement admis que le traitement dentaire est l'une des procédures à haut risque pour développer une endocardite infectieuse (15). Les traitements dentaires peuvent provoquer une bactériémie transitoire. On pense que les bactéries envahissent principalement les vaisseaux sanguins de la cavité buccale.

Il est rapporté que les bactéries Gram-positives telles que *Streptococcus viridans*, *Streptococcus bovis* et *Staphylococcus aureus* sont principalement des bactéries pathogènes pour l'endocardite infectieuse.

Cependant, les champignons et les organismes HACCEK tels que les espèces *Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* et *Kingella* sont des bactéries Gram négatives faiblement pathogènes qui sont également détectées par un examen d'hémoculture.

II.4. a. 1. Les bactéries Gram positives

Elles représentent la majorité des germes responsables d'endocardites infectieuses.

- ***Staphylococcus aureus* (dorés) :**

Elles sont les plus fréquentes. La porte d'entrée est le plus souvent cutanée.

- ***Streptocoques viridans* :**

Ces germes sont appelés *Streptococcus viridans* car ils donnent une hémolyse incomplète et verdâtre sur gélose sanguine.

Ce sont des germes peu virulents et responsables de la forme classique d'EI subaiguë ou maladie d'Osler.

Il existe six variétés : *Streptococcus sanguinis*, *pneumoniae*, *mitis*, *salivarius*, *mutans*, *milleri* et *déficient*.

Leur porte d'entrée est souvent bucco-dentaire et ils sont sensibles à la Pénicilline G.

- ***Streptocoques du groupe D* :**

Ils regroupent les *Entérocoques* (*faecalis*, *faecum*), *Streptococcus bovis* (surtout de type *gallolyticus*) et *faecalis*. Leur porte d'entrée est souvent digestive.

II.4.a. 2. Les bactéries Gram négatives

- **LES GERMES DU GROUPE HACCEK :**

Il s'agit de petits bacilles Gram-négatifs appartenant à 5 genres différents :

- *Hemophilus*,
- *Actinobacillus actinomycetemcomitans*,

- *Cardiobacterium hominis*,
- *Capnocytophaga spp*,
- *Eikenella corrodens*,
- *Kingella kingae*.

Ces germes appartiennent à la flore commensale bucco-dentaire et oropharyngée et ils sont caractérisés par la lenteur de leur croissance.

- LES CHAMPIGNONS :

Essentiellement *Candida albicans* (75%) et parfois *Aspergillus spp*. Les endocardites d'origine fongique sont rares mais graves. Elles surviennent préférentiellement dans les situations suivantes : terrain immunodéprimé, VIH, chirurgie cardiaque, toxicomanie, prothèse valvulaire...

- LES GERMES A DEVELOPPEMENT INTRA CELLULAIRE :

Ils sont représentés essentiellement par *Coxiella burnetii* et par *Bartonella spp*. Leur identification est difficile et nécessite des cultures et des sérologies spécifiques.

En cas d'échec de cette première approche, le diagnostic microbiologique de l'EI requiert une attention particulière de la part du microbiologiste, afin de mettre en œuvre des investigations plus poussées.

C'est dans cette situation que la pulpe dentaire pourrait être utilisée comme matériel biologique pour détecter l'ADN d'agents infectieux. En effet, il s'agit d'un tissu hautement spécialisé composée de vaisseaux sanguins qui communiquent avec d'autres parties du corps humain et permettent la colonisation de la pulpe dentaire par des agents infectieux et inversement la dissémination de pathogènes d'origine dentaire dans le reste de l'organisme. De nombreuses études ont montré que le canal dentaire est un réservoir de bactéries fréquemment impliqué dans les bactériémies.

Ainsi, il serait logique de penser que les pathogènes responsables de l'endocardite infectieuse peuvent être détectés dans la pulpe dentaire. L'identification rapide du pathogène responsable de l'endocardite infectieuse pourrait être fait via la pulpe dentaire et présenterait un grand intérêt pour les cas où les hémocultures sont négatives.

II.5. Lien vasculaire entre la pulpe dentaire et l'organe du cœur

Comment un germe cardiaque peut-il se retrouver dans la pulpe dentaire ?

Et inversement, comment un germe dentaire peut-il coloniser l'endocarde ?

II.5.1. De l'organe cardiaque vers l'organe dentaire...

Le sang oxygéné part du ventricule gauche pour rejoindre la valve aortique puis la crosse aortique qui est composée :

→ Du tronc artériel brachio-céphalique subdivisé en artère subclavière droite et en artère carotide commune droite

→ De l'artère carotide commune gauche qui est subdivisée en artère carotide interne et en artère carotide externe qui se redivise en 6 puis se termine en artère temporale superficielle et en artère maxillaire (responsable d'irriguer la dent)

→ De l'artère subclavière gauche.

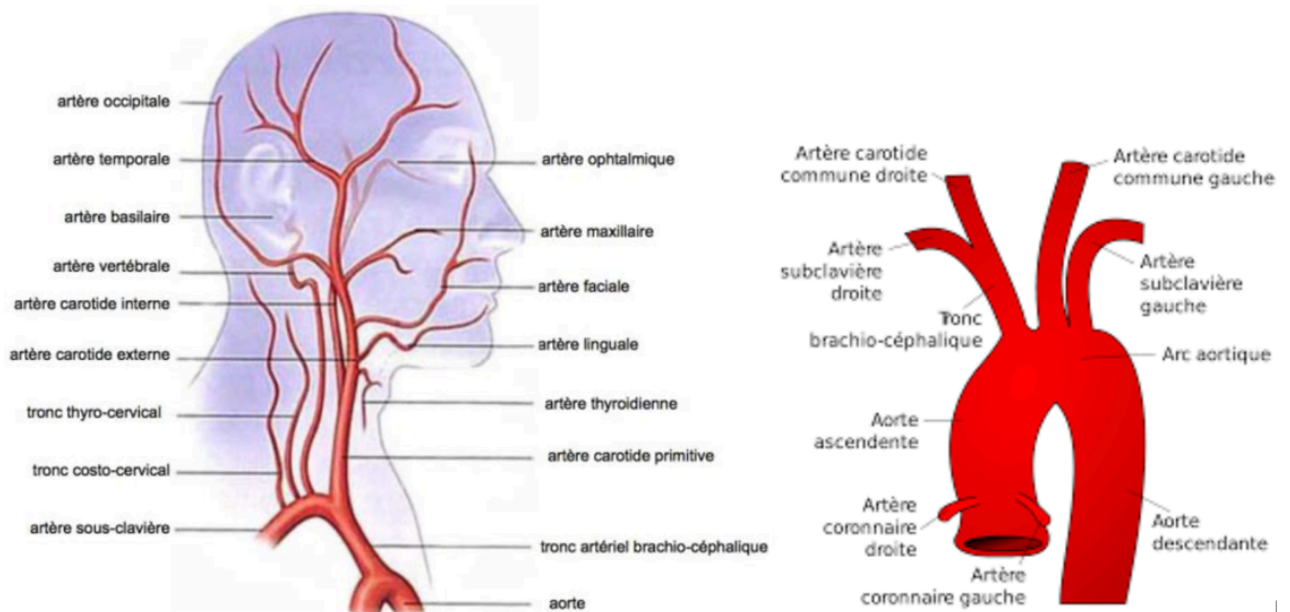


Figure 22 : Vascularisation artérielle de l'organe dentaire. (32)

II.5.2. De l'organe dentaire vers l'organe cardiaque ...

Le sang désoxygéné passe par les veines alvéolaires puis rejoint les veine maxillaire et temporale. Il rejoint ensuite la veine jugulaire externe qui se jette dans la veine subclavière et la veine jugulaire interne formant la veine cave supérieure qui rejoindra l'atrium droit du cœur.

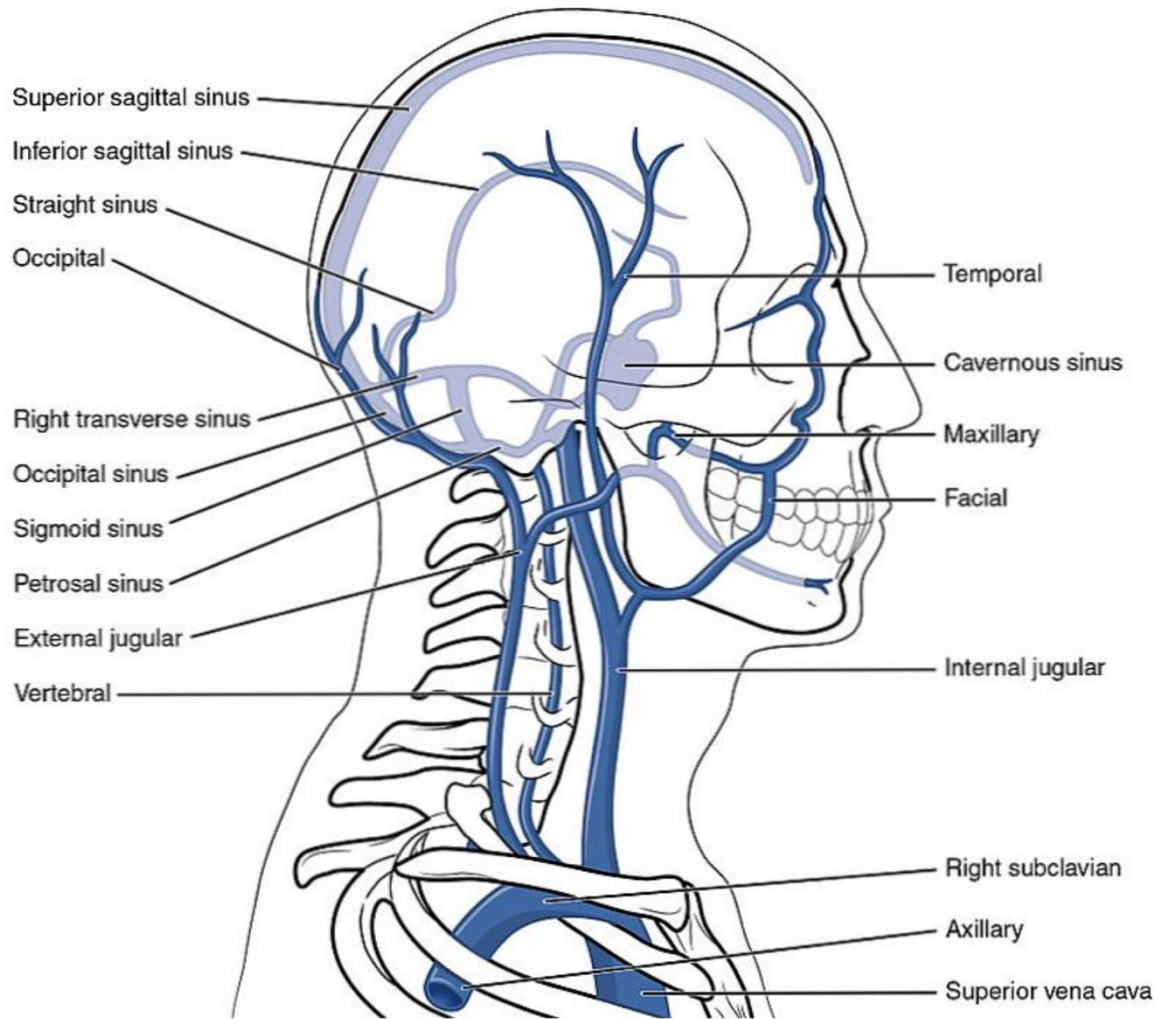


Figure 23 : Vascularisation veineuse de l'organe dentaire. (32)

Les vaisseaux occupent 15% du volume pulpaire et la pulpe est un organe très vascularisé.

Les artérioles provenant de l'artère dentaire entrent par les foraminas.

Elles cheminent dans la partie centrale de la pulpe radulaire, se divisent et donnent naissance à de nombreuses collatérales radiantes : les artérioles primaires et secondaires.

Les artérioles secondaires donnent naissance, en périphérie de la pulpe, aux précapillaires puis aux capillaires. Ces capillaires sont de type « fenêtrés » et sont à proximité des odontoblastes ce qui permet une meilleure diffusion des nutriments.

Ces capillaires artériels vont se connecter avec des capillaires veineux qui assurent le retour du sang. Le retour veineux se fait également par le foramen apical. Il est assuré par des veinules post-capillaires qui se regroupent pour former des veinules collectrices dans la partie centrale du canal radulaire.

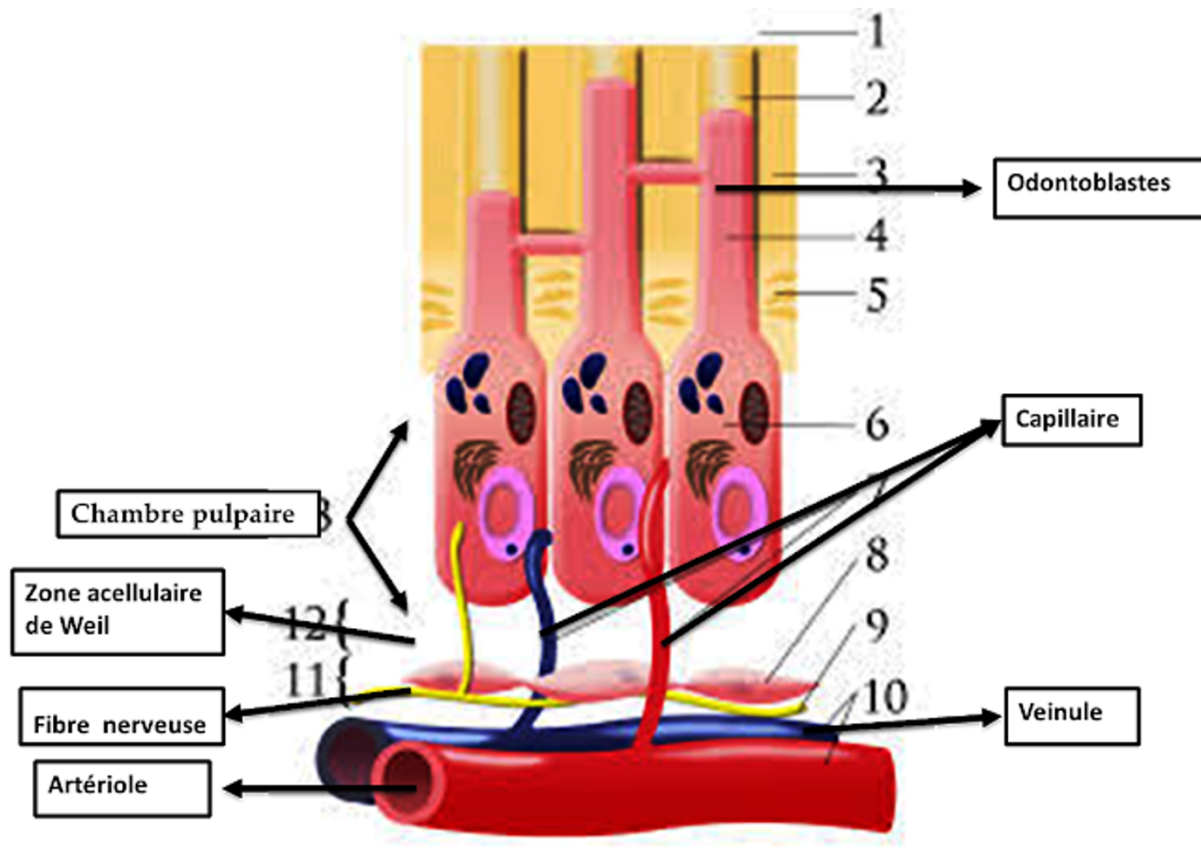


Figure 24 : Vascularisation et innervation de la dent. (30)

III. Analyse anatomopathologique de la pulpe dentaire chez un patient atteint d'EI

III.1. Matériels et Méthodes

III.1.a. Récupération des échantillons dentaires

Les patients diagnostiqués comme porteurs d'endocardite infectieuse au sein du service hospitalier de cardiologie du Pr Habib (Timone) à Marseille sont adressés au service de soins spécifiques odonto-stomatologique.

Le professeur Raskin (chef de service de l'unité des soins spécifiques) reçoit l'ensemble des patients atteints d'EI qui nécessitent un bilan global visant à éliminer tous les foyers infectieux dentaires avant une chirurgie cardiaque.

Par chance, étant de vacation « soins spécifiques » le lundi matin, je suivais l'ensemble des dossiers pour endocardite infectieuse provenant du Pr Habib.

La secrétaire du pôle me prévenait à chaque fois qu'un patient atteint d'endocardite infectieuse entrait dans le service d'odontologie (unité soins spécifiques).

Lors du bilan dentaire, nous devons réaliser un examen clinique minutieux accompagné d'une radiographie panoramique dentaire avec éventuelles radiographies rétro alvéolaires complémentaires. Une fois tous les éléments recueillis, il était impératif d'extraire les dents qui présentaient des foyers infectieux importants.

Un rendez-vous en chirurgie était ensuite programmé. Les échantillons dentaires récupérés après avulsion étaient conservés dans un pot stérile avec du sérum physiologique puis emmenés à l'IHU dans le but d'analyser et d'identifier les germes présents. Un technicien de laboratoire de l'IHU était chargé d'identifier par culture directe, par technique MALDI TOF et par PCR les germes présents dans les échantillons.

Après analyse, nous pouvions comparer les germes dentaire et cardiaque. Grâce à AXIGATE (plateforme informative médicale), nous avons accès au suivi du patient en cardiologie. Nous notions le germe responsable de l'endocardite infectieuse. L'objectif était d'observer si le germe responsable de l'endocardite infectieuse était présent dans l'échantillon dentaire.

III.1.b. Critères de sélection des échantillons

Après avoir recueilli le consentement éclairé du patient, les dents vitales présentant des foyers infectieux (origine parodontale ou autre), sont extraites suivant les recommandations HAS/AFSSAPS. Elles sont ensuite transmises à l'IHU dans le but d'analyser la pulpe dentaire. Comité éthique de l'IHU Méditerranée Infection : projet soumis le 29/05/2018.

Il est impératif que les patients soient atteints d'endocardite infectieuse (peu importe l'origine) et que la pulpe dentaire prélevée soit vitale dans notre étude.

Le choix de la vitalité pulpaire dans notre étude a pour objectif d'éliminer tous les germes faisant partie du microbiote endodontique qui pourrait être responsable d'une nécrose pulpaire et donc serait un biais dans notre étude expérimentale.

Par exemple, *Enterococcus faecalis* est un germe qui peut être responsable à la fois d'une nécrose dentaire mais aussi d'une endocardite infectieuse.

Si l'on retrouve *E. Faecalis* dans l'un de nos échantillons extraits à partir de dents vitales, on pourra affirmer que ce germe est responsable de l'EI et non d'une pathologie endodontique.

III.1.c. Préparation des échantillons dentaires

- Décontamination des échantillons

Sur un poste de sécurité microbiologique, mise en place de la dent extraite dans un échantillon rempli avec de la chlorexidine à 1% pendant 20 minutes afin d'éliminer l'ensemble des bactéries et les champignons : effet fongicide et bactéricide.

Nettoyage de l'échantillon avec de l'eau distillée et rinçage de la dent avec du DNASE/RNASE (ne contient ni ADN ni ARN) dans un autre tube de DML.

Sécher ensuite la dent avec une compresse stérile. (18)

- Extirpation de la pulpe dentaire

Dans une hotte chimique, préparation du matériel pour extraction de la pulpe :

- moteur + pièce à main + disque
- décolleur
- excavateur
- bistouri
- tubes DML éppendorf stériles.

Réalisation d'une coupe verticale à l'aide d'un disque afin d'avoir accès à l'ensemble de la pulpe dentaire.

Lorsque la dent est fracturée, il faut extirper la pulpe avec un excavateur et mettre en place trois fragments pulpaire dans un tube à DML rempli de DPBS (dulbecco's phosphate buffered saline) qui est un conservateur de cellules. Les pulpes dentaires extirpées sont ensuite stockées à 20°C avant l'extraction de protéines et de l'ADN (4).

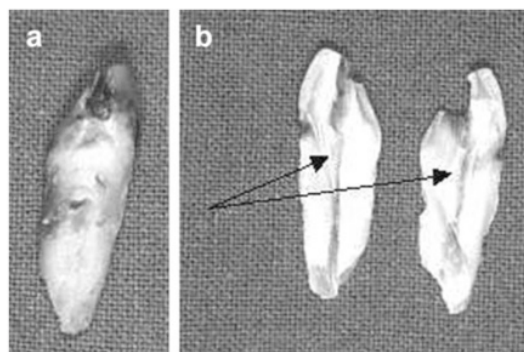


Figure 25 : Photographie d'une canine supérieure gauche où la pulpe dentaire a été extraite de la cavité pulpaire dentaire (flèches) puis déposée dans un tube stérile après une fracture longitudinale (4).

- Extraction des protéines de la pulpe dentaire et de l'ADN bactérien

Deux protocoles peuvent être utilisés :

PROTOCOLE PHENOL – CHLOROFORME (19)

Il s'agit d'un procédé d'extraction liquide-liquide utilisé pour isoler les acides nucléiques (ADN et ARN) en les séparant des protéines.

Les ADN peuvent être isolés avec un mélange contenant du phénol, du chloroforme et de l'alcool isoamylique.

L'extraction au phénol-chloroforme se base sur les différences de solubilité des molécules dans un mélange de deux solutions de densité différente : une solution aqueuse et une solution de phénol-chloroforme.

Les ADN sont des molécules chargées négativement en raison des groupements phosphate dans leur squelette. Ils sont insolubles dans les solvants organiques hydrophobes et solubles dans les solutions aqueuses hydrophiles. Par conséquent, après centrifugation, l'ADN (de par sa charge négative) va être plus soluble dans l'eau et donc rester dans la phase aqueuse.

Le phénol, plus dense que l'eau va se retrouver au fond du tube et les protéines vont être plus solubles dans le phénol.

Cette méthode douce permet de conserver l'intégrité des ADN et reste une méthode de choix pour isoler des ADN de grande taille.

Cette étape peut être réalisée plusieurs fois afin d'optimiser le rendement de l'extraction. A la fin, l'ADN va être précipité avec de l'éthanol, ou de l'isopropanol, puis être re-suspendu dans un tampon ou de l'eau stérile.

Cependant, les solvants organiques utilisés sont toxiques et le protocole est long. C'est pour cette raison qu'il existe une autre technique d'extraction des protéines et de l'ADN bactérien.

PROTOCOLE EZ1 ADVANCED EXTRACTION KIT (20) (21)

Cette purification de l'ADN est rapide et elle est de haute qualité. Le protocole se fait grâce à un kit « le kit de tissu ADN EZ1 » qui contient tous les réactifs et le matériel de laboratoire requis pour la purification automatisée de l'ADN à partir d'échantillons de tissus jusqu'à 40 milligrammes. Elle utilise la technologie des particules magnétiques. Les réactifs sont fournis

dans des cartouches de réactifs pré-remplis, ce qui garantit la rapidité et la facilité de chargement de l'instrument. Les protocoles de purification automatisés de l'ADN génomique sont réalisés à partir d'un large éventail de types d'échantillons fournis dans le manuel (cellules buccales, des cellules cultivées, du sang séché et des coupes de tissus inclus en paraffine).

Le protocole à suivre est le suivant :

Après préparation des échantillons (avec ou sans pré-lyse), il faut prélever 200 microlitres d'échantillon dans un tube à fond plat pour l'extraction ADN/ARN.

Le fragment de pulpe est mélangé avec de la poudre de verre et avec 200 microlitres de tampon G2 (réactif ADN polymérase). Il est ensuite agité en utilisant la préparation FAST à 400 tours par minute pendant une minute (méthode de détection rapide).

20 microlitres de protéinase K (25 milligrammes par millilitre) et 20 microlitres de phage T4 ont ensuite été ajoutés. Le phage T4 est un virus de la famille des *Myoviridae* qui s'attaque à *Escherichia coli*. L'ensemble est ensuite incubé à 56 degrés pendant une nuit sous agitation. 200 microlitres du mélange ont ensuite été élus dans un volume de 50 microlitres.

III.2. Les différentes techniques d'analyse de la pulpe dentaire

a. Culture directe

La culture directe se fait en aérobie.

Il s'agit d'une culture des germes sur gélose : COS gélose columbia : Gélose de colombie + 5% de sang de mouton. Ce milieu favorise la prolifération bactérienne. Il faut mettre en place les fragments pulpaire sur la gélose en veillant à bien les étaler à l'aide d'un râteau.

Ensuite, on devra mettre en place la gélose dans un incubateur pendant 24h à 48h (à une température de 37 degrés).

b. Culturomics

Dans cette technique, on varie les conditions (aérobie et anaérobie) ainsi que les milieux de culture (COS et YCFA).

Un fragment de pulpe a été broyé dans un tube contenant 30 µL de solution saline tamponnée au phosphate stérile (PBS), inoculé sur deux plaques d'agar COS, et incubé à 37 ° C sans et / ou avec 5 % CO₂ pendant 48 heures.

Une inoculation directe des pulpes sur COS gélose columbia (5% de liquide ruminal et 5% de sang de mouton) et sur gélose YCFA (Yeast Casitone Fatty Acids) a été réalisée.

Les pulpes dentaires ont été cultivées sur les milieux d'agar COS et YCFA à trois heures, six heures, neuf heures, 24 heures, trois jours, sept jours et 10 jours en utilisant des séries de dilution en cascade.

Les colonies ont ensuite été identifiées par ionisation (procédé MALDITOF).

c. MALDITOF ou analyse par « spectrométrie de masse » (22)

Les résultats obtenus peuvent faire l'objet d'un contrôle supplémentaire par spectrométrie de masse. Ils seront ensuite comparés à l'ensemble des bases de données nécessaires afin d'identifier la bactérie causale.

Dans cette étude, les colonies ont été identifiées par un procédé appelé MALDITOF (matrix assisted laser désorption ionisation) après 48h d'incubation. Il s'agit d'une technique d'ionisation par désorption laser associée à une matrice par spectrométrie de masse à temps de vol (MALDI TOF MS).

La technique MALDI TOF nécessite un instrument sophistiqué appelé le « spectromètre de masse ».

La spectrométrie de masse peut servir à déterminer la masse moléculaire d'une protéine, à identifier une protéine nouvellement découverte, ainsi qu'à identifier rapidement une souche bactérienne au même titre que le fait la PCR.

Le spectromètre de masse type MALDI TOF est composé d'une source d'ions, d'un accélérateur, d'un analyseur et d'un détecteur d'ions. Enfin, un ordinateur permettra de traiter le signal obtenu.

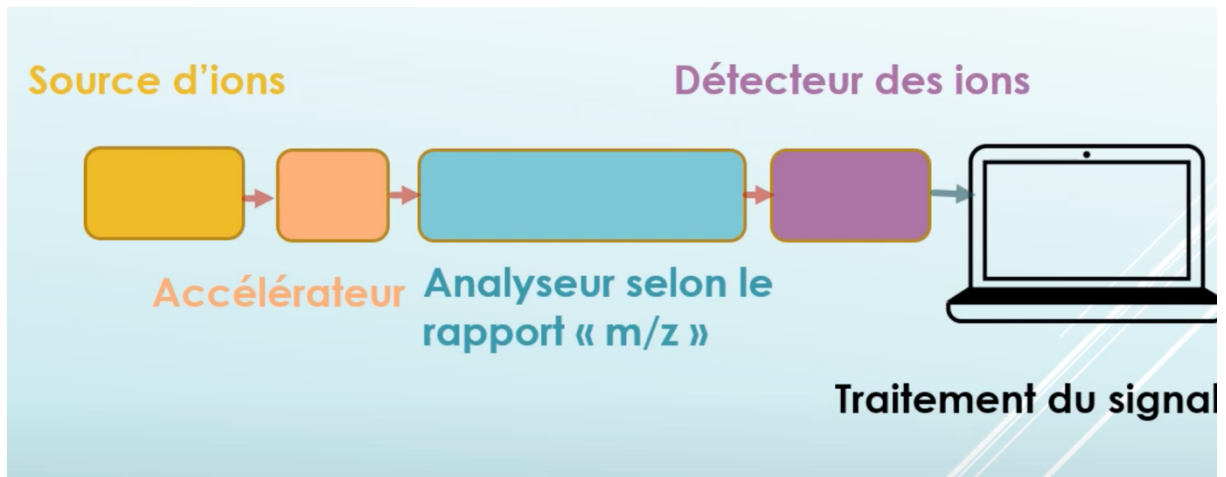


Figure 26 : Les composants de l'appareil de type MALDI TOF. (38)

Tout d'abord, on récupère avec une anse un fragment de chaque colonie qui a proliféré sur la gélose et on le dépose sur la plaque MALDI TOF (2 spots minimum par souche).

Il est nécessaire de mélanger l'échantillon à une matrice. Elle permet de protéger les biomolécules présentes sur la plaque des rayons qui vont être émis.

Le mélange échantillon + matrice est déposé dans un petit puit sur une plaque métallique à l'aide d'une micropipette.

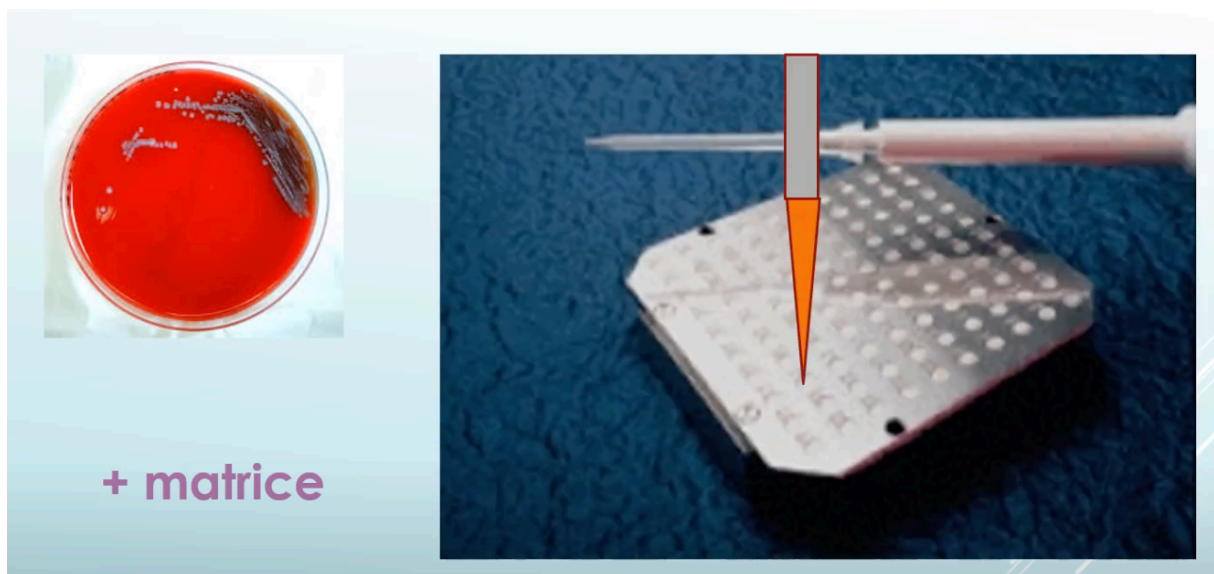


Figure 27 : Préparation de l'échantillon à analyser. (38)

Une fois le spectromètre de masse mis en marche, l'échantillon et la matrice vont recevoir un faisceau laser puissant. Cela provoque un échauffement de l'échantillon permettant la « sublimation », c'est-à-dire la transformation de l'échantillon d'une forme solide en une forme gazeuse. Cet échauffement crée des chocs entre les molécules de l'échantillon et la

matrice et cela provoque alors le passage de protons de la matrice vers la molécule à analyser (l'échantillon). Il y a donc une ionisation de la molécule à analyser par acquisition de protons H^+ .

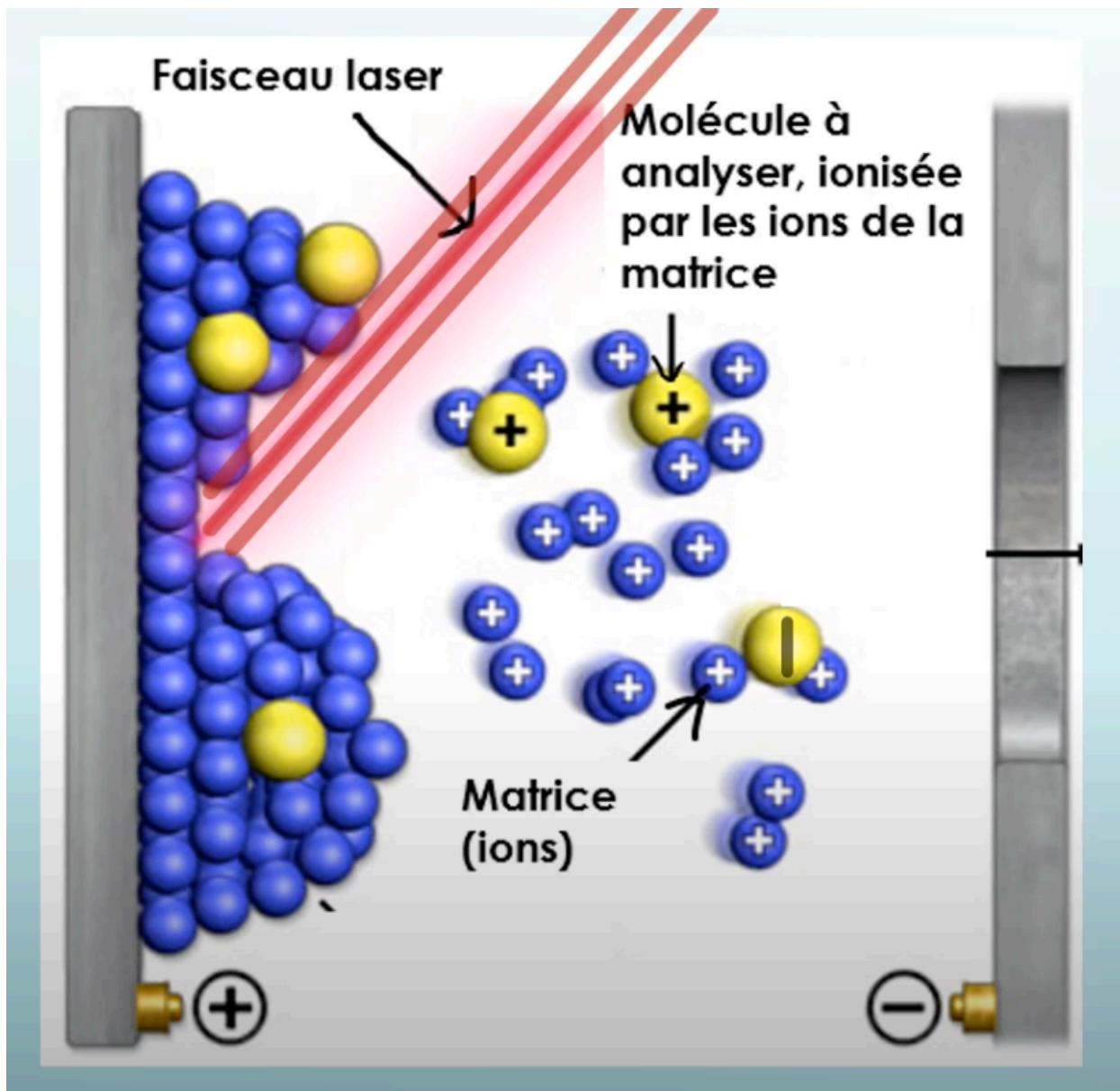


Figure 28 : Ionisation de l'échantillon par émission d'un faisceau laser. (38)

Une fois ionisées, les molécules chargées positivement sortent de la source. Elles entrent alors dans une zone appelée accélérateur où elles sont attirées par une grille chargée négativement. Elles acquièrent donc une vitesse, on dit qu'elles sont « accélérées ». Cette vitesse est d'autant plus élevée que leur masse est petite et que leur charge est élevée. Après avoir traversé l'accélérateur, les molécules entrent maintenant dans un analyseur. Dans cette zone il n'y a pas de champ électrique. Il s'agit d'une zone vide qui a une distance longue. Les molécules

vont donc traverser cette zone sans frottement. Ce tube s'appelle le « tube de vol » et, en fonction du temps que mettent les molécules à la traverser, on déterminera le temps de vol de ces dernières. À la fin de l'analyseur, se trouve un détecteur à ions qui détecte les charges positives qui arrivent. On connectera ensuite le détecteur à un analyseur pour obtenir un spectre de masse (via un ordinateur). En fonction de l'emplacement des ions sur le détecteur, on va pouvoir en déduire un certain rapport entre leur masse et leur charge et cela va nous permettre de les placer sur un graphique et d'obtenir le spectre de masse.

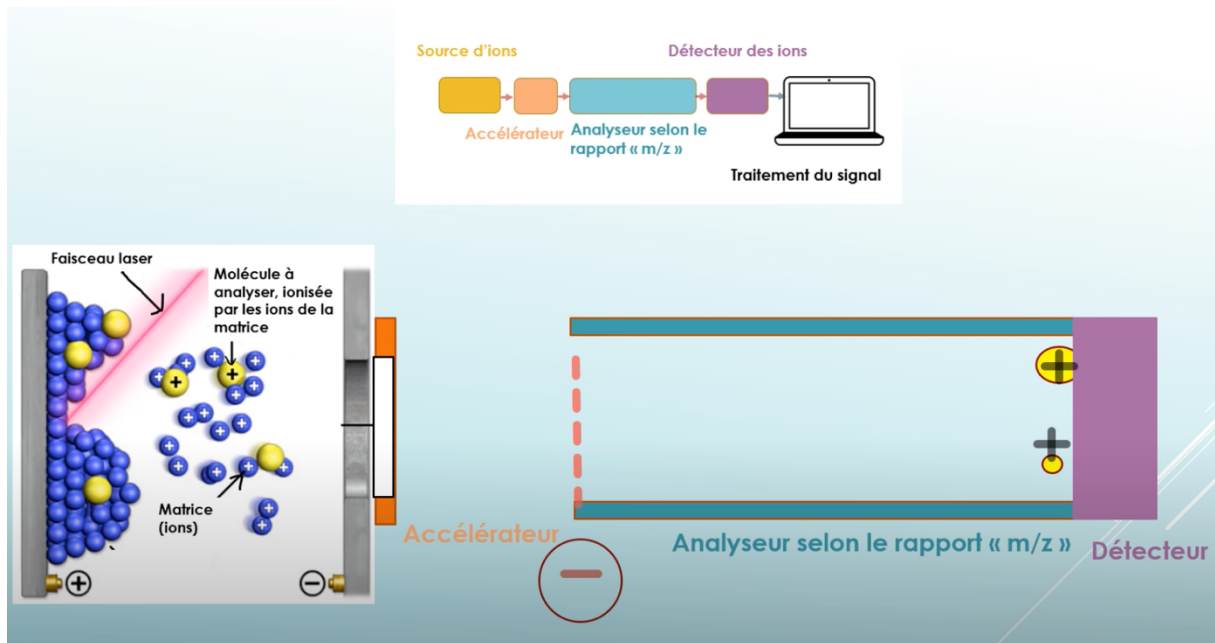


Figure 29 : Traversée des molécules du « tube de vol ». (38)

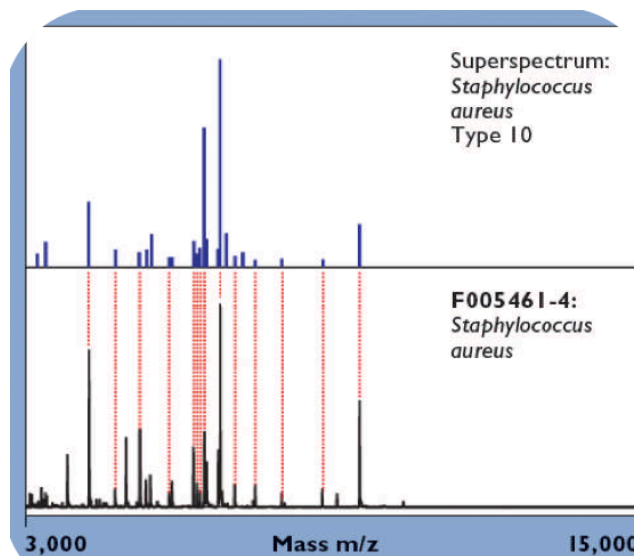


Figure 30 : Spectre de masse du Staphylococcus aureus obtenu : comparaison du spectre obtenu avec les spectres de la base de données. (39)

Chaque protéine est composée de plusieurs peptides. Chacun des peptides (de l'échantillon) est représenté sur le spectre par un lot de pics. Grâce à ce lot de pics, on peut déterminer la masse moléculaire de tous les peptides. Une fois que l'on a la masse moléculaire de tous les peptides composant la protéine, on va comparer ces masses moléculaires avec une base de données. Chaque protéine est identifiée par un lot de masse moléculaire donnée.

La valeur la plus élevée que l'on obtient sur l'axe des abscisses nous donne la masse molaire de la substance qui est analysée.

On exploite ce spectre à l'aide d'un spectrotech, c'est-à-dire une collection de spectres de masse de différentes substances connues qui est enregistrée dans un fichier informatique. Si on a la chance d'avoir affaire à une molécule connue, le logiciel informatique va chercher dans la base de données le spectre de masse correspondant à celui de l'échantillon. En faisant la superposition du spectre de l'échantillon avec celui de la référence, et si la superposition est idéale, alors le logiciel nous dira de quelle bactérie il s'agit. Les résultats de l'analyse par spectrométrie de masse sont donnés par un graphique représenté sur deux axes avec, en abscisse : $m(\text{masse})/z(\text{charge})$ et en ordonnée l'abondance en %.

Dans notre étude, le profil protéique trouvé par la machine va ensuite être comparé avec les bases de données que l'on a choisies au début dans nos réglages (la bactérie que l'on cherche !). On obtient ensuite les résultats sous forme de tableau.

La machine va identifier exactement la souche présente sur la plaque MALDI TOF.

Couleur verte = présence certaine (score de ≥ 2)

Couleur rouge = absence certaine (score entre 0 et 1.69)

Couleur jaune = on ne sait pas (score entre 1.70 et 1.99)

VALEUR	DESCRIPTION	SYMBOLES	COULEUR
2.00-3.00	Identification avec une haute confiance	(+++)	VERT
1.70-1.99	Identification avec une faible confiance	(+)	JAUNE
0-1.69	Aucune identification possible	(-)	ROUGE

Figure 31 : Tableau de valeurs avec correspondance des scores.

Nom de l'échantillon	ID de l'échantillon	Organisme (meilleur candidat)	Score Valeur	Organisme (second candidat)	Score Valeur
A1 (+++)(A)	A1 (standard)	Bifidobacterium dentium	2.35	Bifidobacterium dentium	2.33
A2 (+++)(A)	A2 (standard)	Bifidobacterium dentium	2.33	Bifidobacterium dentium	2.19
A3 (+)(B)	A3 (standard)	Prevotella nigrescens	1.89	Prevotella nigrescens	1.85
A4 (+++)(A)	A4 (standard)	Prevotella nigrescens	2.02	Prevotella nigrescens	1.98
A5 (+++)(A)	A5 (standard)	Neisseria bacilliformis	2.00	Neisseria bacilliformis	1.96
A6 (+++)(A)	A6 (standard)	Neisseria bacilliformis	2.21	Neisseria bacilliformis	2.22

Nom de l'échantillon	ID de l'échantillon	Organisme (meilleur candidat)	Score Valeur	Organisme (second candidat)	Score Valeur
B1 (+++)(A)	B1 (standard)	Prevotella nigrescens	2.01	Prevotella nigrescens	1.98
B2 (+++)(A)	B2 (standard)	Prevotella nigrescens	2.00	Prevotella nigrescens	1.97
B3 (+++)(A)	B3 (standard)	Capnocytophaga ochracea	2.41	Capnocytophaga ochracea	2.39
B4 (+++)(A)	B4 (standard)	Capnocytophaga ochracea	2.43	Capnocytophaga ochracea	2.38
B5 (+++)(A)	B5 (standard)	Capnocytophaga ochracea	2.42	Capnocytophaga ochracea	2.42
B6 (+++)(A)	B6 (standard)	Capnocytophaga ochracea	2.40	Capnocytophaga ochracea	2.38
C1 (+++)(A)	C1 (standard)	Parvimonas micra	2.16	Parvimonas micra	2.00
C2 (+++)(A)	C2 (standard)	Parvimonas micra	2.22	Parvimonas micra	2.13
C3 (+++)(A)	C3 (standard)	Prevotella denticola	2.21	Prevotella denticola	2.16
C4 (+++)(A)	C4 (standard)	Prevotella denticola	2.04	Prevotella denticola	2.01
C5 (+++)(A)	C5 (standard)	Staphylococcus hominis	2.51	Staphylococcus hominis	2.34
C6 (+++)(A)	C6 (standard)	Staphylococcus hominis	2.34	Staphylococcus hominis	2.27
D1 (+++)(A)	D1 (standard)	Bifidobacterium longum	2.08	Bifidobacterium longum	2.02
D2 (+++)(A)	D2 (standard)	Bifidobacterium longum	2.21	Bifidobacterium longum	2.24
D3 (+)(B)	D3 (standard)	Fusobacterium nucleatum	1.97	Fusobacterium nucleatum	1.97
D4 (+++)(A)	D4 (standard)	Fusobacterium nucleatum	2.04	Fusobacterium nucleatum	2.02

D5 (+++)(A)	D5 (standard)	Staphylococcus hominis	2.37	Staphylococcus hominis	2.39
D6 (+++)(A)	D6 (standard)	Staphylococcus hominis	2.45	Staphylococcus hominis	2.40
E1 (+++)(A)	E1 (standard)	Fusobacterium nucleatum	2.32	Fusobacterium nucleatum	2.43
E2 (+++)(A)	E2 (standard)	Fusobacterium nucleatum	2.34	Fusobacterium nucleatum	2.08
E3 (+++)(A)	E3 (standard)	Bacteroides pyogenes	2.16	Bacteroides pyogenes	2.16
E4 (+++)(A)	E4 (standard)	Bacteroides pyogenes	2.17	Bacteroides pyogenes	2.13
E5 (+)(B)	E5 (standard)	Capnocytophaga sputigena	1.90	Capnocytophaga sp	1.84
E6 (+++)(A)	E6 (standard)	Capnocytophaga leadbetteri	2.04	Capnocytophaga sp	1.96
F1 (+++)(A)	F1 (standard)	Capnocytophaga ochracea	2.28	Capnocytophaga ochracea	2.23
F2 (+++)(A)	F2 (standard)	Capnocytophaga ochracea	2.17	Capnocytophaga ochracea	2.33
F3 (+)(B)	F3 (standard)	Actinomyces bouchedurhonensis	1.75	Actinomyces bouchedurhonensis	1.75
F4 (+)(B)	F4 (standard)	Actinomyces odontolyticus	1.83	Actinomyces bouchedurhonensis	1.78
F5 (-)(C)	F5 (standard)	Aucune identification possible	1.44	Aucune identification possible	1.44
F6 (-)(C)	F6 (standard)	Aucune identification possible	1.34	Aucune identification possible	1.44
G1 (+++)(A)	G1 (standard)	Prevotella buccae	2.13	Prevotella buccae	2.13
G2 (+++)(A)	G2 (standard)	Prevotella buccae	2.25	Prevotella buccae	2.14
G3 (+++)(B)	G3 (standard)	Veillonella parvula	2.36	Veillonella dispar	2.33
G4 (+++)(B)	G4 (standard)	Veillonella dispar	2.37	Veillonella parvula	2.32
H1 (-)(C)	H1 (standard)	Aucune identification possible	1.25	Aucune identification possible	1.22
H2 (-)(C)	H2 (standard)	Aucune identification possible	1.33	Aucune identification possible	1.31
H3 (-)(C)	H3 (standard)	Aucune identification possible	1.48	Aucune identification possible	1.38
H4 (-)(C)	H4 (standard)	Aucune identification possible	1.30	Aucune identification possible	1.28

Figure 32 : Résultats obtenus par technique MALDITOF sur un de nos échantillons dentaires.

Les lignes en rouge correspondent au contrôle de la matrice.

d. Amplification et analyse de séquences par PCR

La PCR (polymerase chain reaction) est une technique d'analyse du génome par réaction de polymérase en chaîne. Elle permet de détecter la présence de séquence d'ADN spécifique (PCR qualitative) ainsi que d'obtenir une multiplication exponentielle (PCR quantitative) de la séquence d'ADN cible (la durée d'un cycle est de l'ordre d'une minute).

La séquence de la cible moléculaire et les séquences des amorces utilisées sont à définir selon la bactérie à détecter (cf résultat de l'hémoculture réalisée au sein du service de cardiologie de la Timone).

Dans cette étude, le séquençage de l'ADN est ciblé en fonction de la bactérie responsable de l'endocardite infectieuse.

Après extraction des protéines, des amplifications par PCR sont réalisées (40,41).

Pour faire une PCR, il faut le mélange réactionnel suivant :

- L'ADN POLYMERASE qui est une enzyme capable de recopier une séquence d'acides nucléiques
- Un environnement tampon composé de MgCl₂ et MgSO₄ (sels de magnésium, le magnésium étant un cofacteur de l'activité enzymatique de l'ADN polymérase)
- Ajout des unités élémentaires de l'ADN qui correspondent au 4 types de désoxyribonucléotides (A : adénine, T : thymine, C : cytosine, G : guanine)
- Ajout de la matrice d'ADN recherchée
- Ajout des séquences complémentaires de la zone d'intérêt que l'on appelle « amorce complémentaire ».

Chaque cycle de PCR est constitué de 3 étapes :

-une dénaturation de l'ADN par chauffage pour séparer les deux brins qui le composent : un cycle de 50 ° C pendant deux minutes pour l'action UDG puis cinq minutes de dénaturation initiale à 95 ° C suivi de 40 cycles de dénaturation à 95 ° C pendant cinq secondes

-une hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée puis,

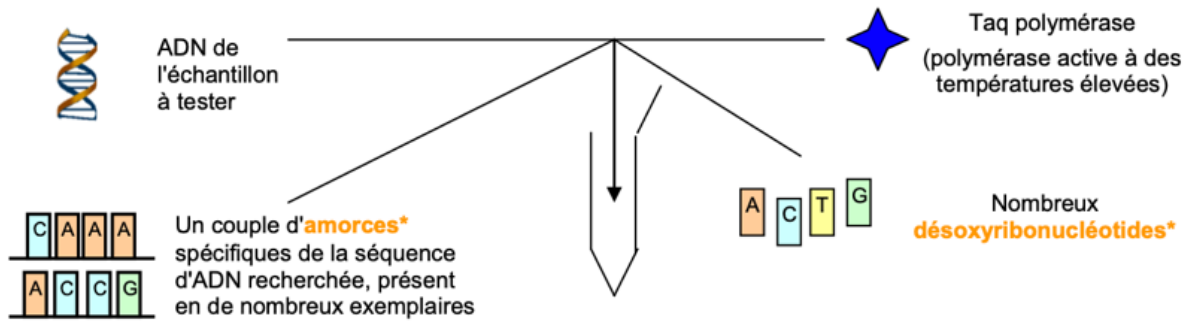
-une élongation grâce à l'action d'une ADN polymérase (30 secondes à 60 ° C).

La machine utilisée est un thermocycleur.



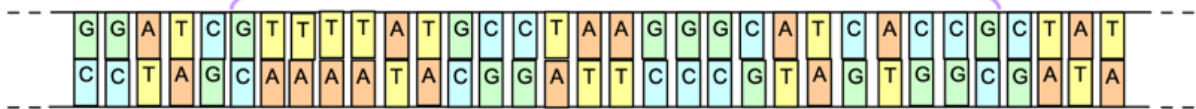
Figure 33 : Thermocycleur.

A droite, le thermocycleur contient les tubes d'échantillon à analyser. (23)



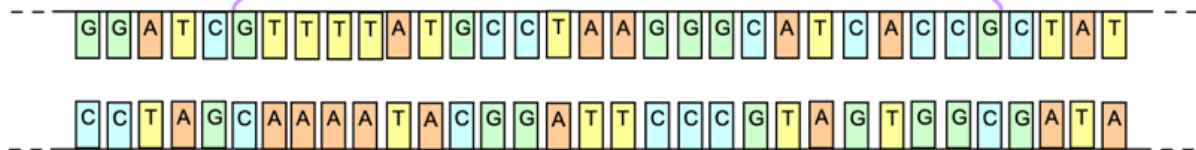
1^{er} cycle

séquence recherchée, à amplifier



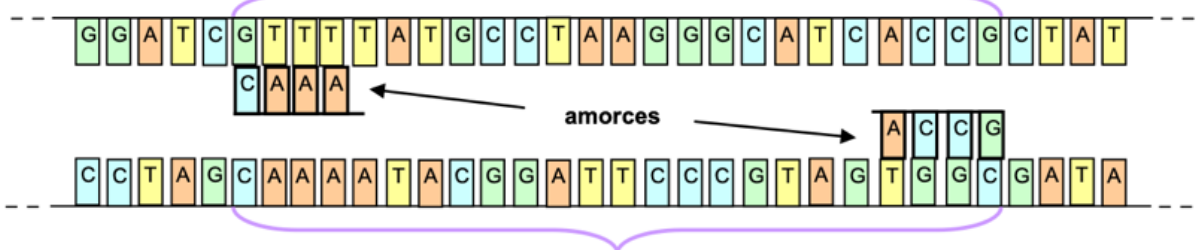
Etape I :
Dénaturation de l'ADN
 => séparation des 2 brins

Chauffage (95°C)



Etape II :
Hybridation des amorces

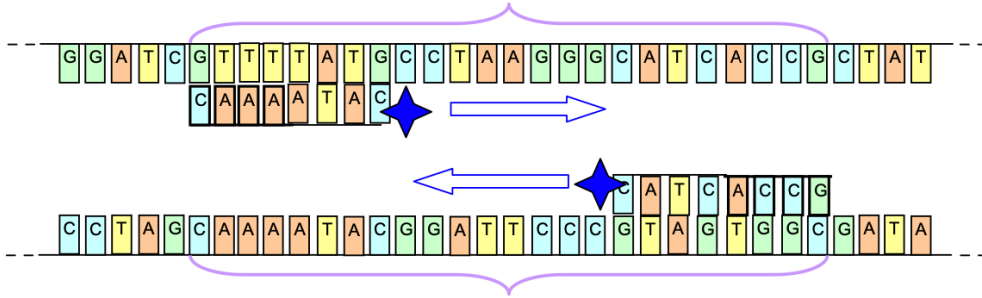
Diminution de la température
 (entre 40 et 65°C, en fonction de la longueur et de la séquence des amorces)



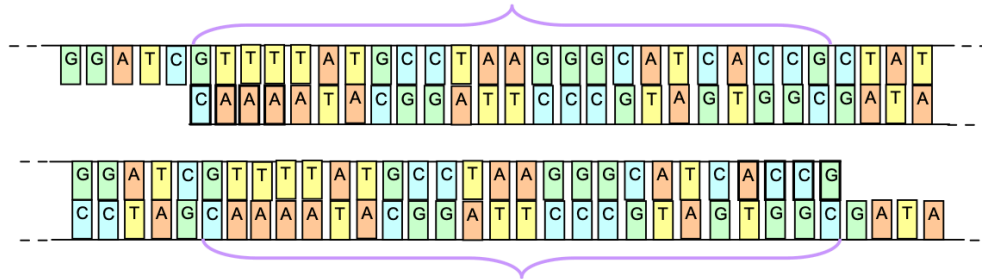
Etape III :
Elongation des brins d'ADN grâce à la **Taq polymérase** à partir des deux amorces



Hausse de la température
 (72°C : **température optimale** pour l'action de la Taq polymérase)



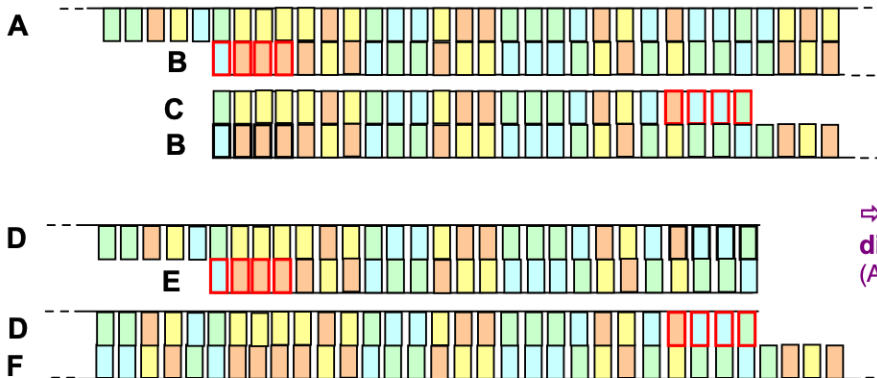
Résultat du 1^{er} cycle



Résultats du 2nd cycle
 (après les étapes I, II et III)



Remarque : le couple d'amorces du 2nd cycle est identique à celui du 1^{er}. Il est représenté de couleur différente pour faciliter la lecture du schéma



⇒ 6 brins d'ADN différents obtenus (A, B, C, D, E et F)

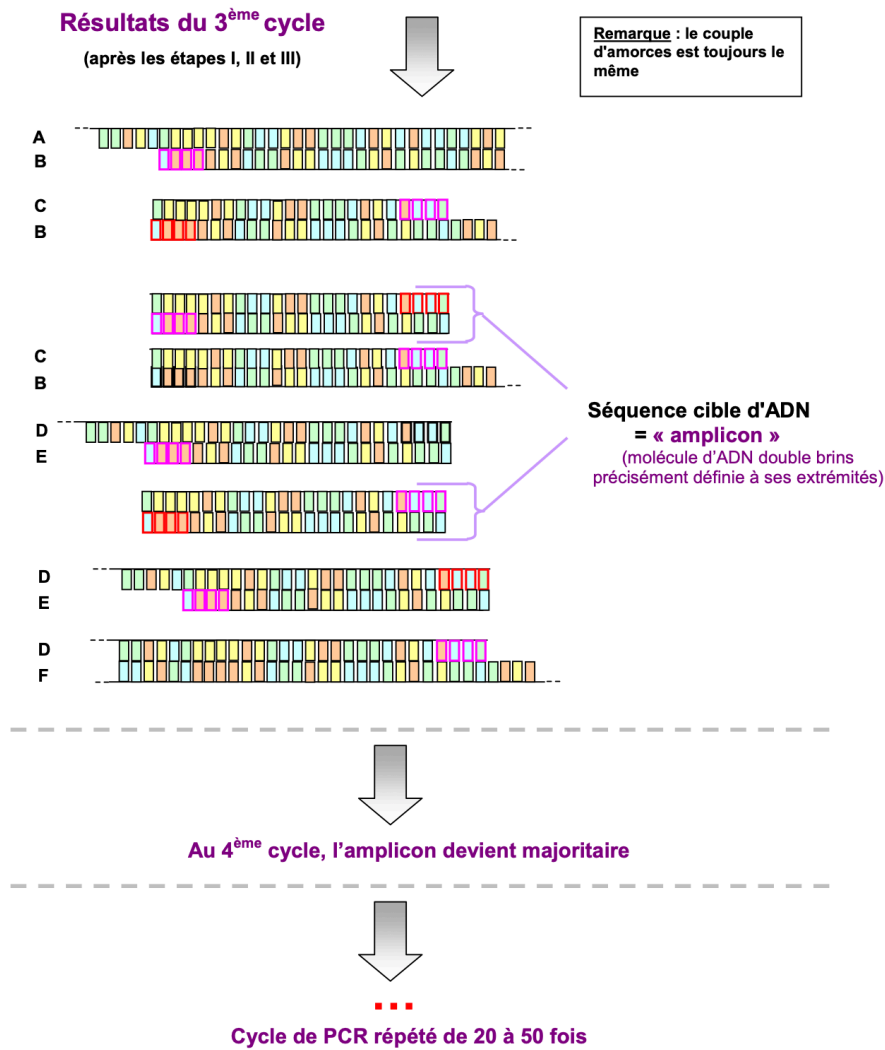


Figure 34 : Schéma récapitulatif des étapes de la PCR. (40)

Il est nécessaire de réaliser une PCR en temps réel. Il s'agit d'une méthode quantitative de l'ADN en temps réel qui va utiliser une sonde fluorescente permettant la quantification et la caractérisation de l'amplicon formé en fonction du temps.

Le principe de la PCR en temps réel repose sur la possibilité de suivre la quantité d'ADN présente dans la réaction à tout instant et non à la fin de la PCR (PCR en point final). n cycles de PCR permettent en théorie de produire 2^n copies de la séquence ciblée (amplicon). Il est ainsi possible d'obtenir plus d'un million de copies de la séquence d'ADN recherchée en une vingtaine de cycles.

On utilise ensuite des intercalants (sondes fluorescentes) qui sont des composés qui fluorescent seulement lorsque l'ADN double brin est présent. Ces sondes ne fluorescent qu'une fois fixées à l'ADN recherché.

En fin de chaque cycle d'élongation, on mesure la fluorescence et on construit une courbe qui représente le logarithme de la fluorescence en fonction du nombre de cycles. La fluorescence émise est directement proportionnelle à la quantité de copies initiales générée pendant la réaction PCR.

Le point d'intersection de la courbe PCR avec la ligne seuil (c'est-à-dire la ligne au-dessus de laquelle la variation de fluorescence suit une loi exponentielle) nous donne un point particulier qui correspond à la quantité de matériel initial d'ADN cible. Ainsi, cela nous permet de "doser" la matrice originale (ex : bactérie responsable de l'endocardite infectieuse). En synthèse, la mesure de la fluorescence permet de déterminer "en temps réel" si le fragment recherché (amplicon) est effectivement présent (et donc amplifié) sans avoir besoin de faire une électrophorèse par exemple.

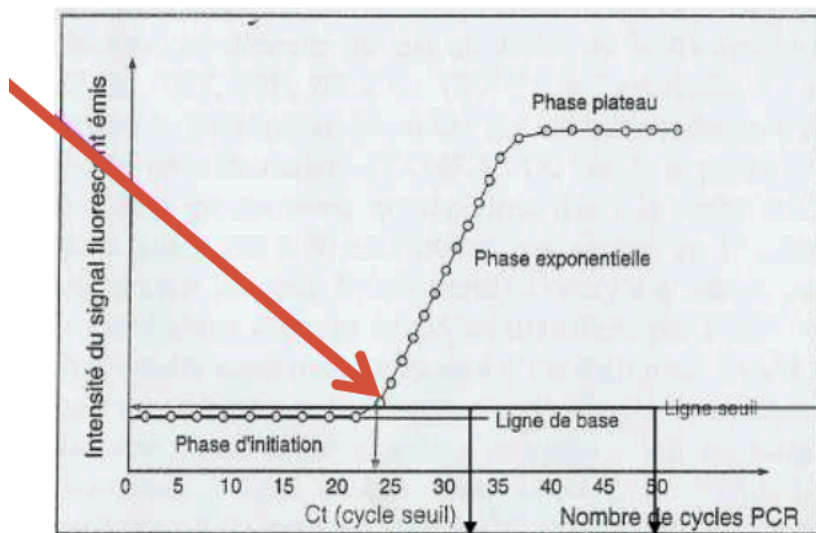


Figure 35 : Courbe PCR en temps réel. (41)

La flèche montre le point d'intersection de la courbe PCR avec la ligne seuil qui est directement liée à la quantité de cible dans l'échantillon.

La ligne seuil est la ligne au-dessus de laquelle la variation de fluorescence suit une loi exponentielle.

IV. Résultats

Dans cette étude expérimentale, au total, 11 avulsions dentaires ont été réalisées sur 5 patients différents porteurs d'endocardite infectieuse.

1 patient sain est témoin dans cette étude.

PATIENT	DENT	GERME RESPONSABLE DE L'EI	ANTIBIOTHÉRAPIE	CULTURE DIRECTE	CULTUROMICS	PCR
Sain	18	aucun	aucun	NEGATIVE	NEGATIVE	<i>P. acnes</i>
Patient 1	35	<i>Staphylococcus aureus</i>	BACTRIM	<i>C. albicans</i>	NEGATIVE	NEGATIVE
Patient 1	24	<i>Staphylococcus aureus</i>	BACTRIM	<i>C. albicans</i>	NEGATIVE	<i>E. faecium</i>
Patient 1	36	<i>Staphylococcus aureus</i>	BACTRIM	<i>E. cloacae</i>	NEGATIVE	NEGATIVE
Patient 1	25	<i>Staphylococcus aureus</i>	BACTRIM	NEGATIVE	NEGATIVE	<i>S. aureus</i>
Patient 1	37	<i>Staphylococcus aureus</i>	BACTRIM	NÉGATIVE	NEGATIVE	<i>S. epidermidis</i>
						<i>B. circulans</i>
						<i>C. sporogenes</i>
						<i>P. acnes</i>
Patient 1	13	<i>Staphylococcus aureus</i>	BACTRIM	NEGATIVE	NEGATIVE	<i>E. Faecium</i>
						<i>B. Licheniformis</i>
Patient 2	14	<i>Staphylococcus aureus</i>	BACTRIM	<i>S. parasanguinis</i>	NEGATIVE	<i>S. aureus</i>
Patient 2	16	<i>Staphylococcus aureus</i>	BACTRIM	<i>S. parasanguinis</i>	NEGATIVE	<i>S. epidermidis</i>
Patient 3	18	<i>Enterococcus faecalis</i>	AMOXICILLINE/ROCEPHINE	<i>C. albicans</i>	NEGATIVE	<i>B. circulans</i>
Patient 4	13	<i>Streptococcus anginosus</i>	ROCEPHINE	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	NEGATIVE	NEGATIVE
				<i>S. capitis</i>		NEGATIVE
Patient 5	27	<i>Streptococcus sanguinis</i>	ROCEPHINE	<i>S. parasanguinis</i>	NEGATIVE	<i>B. faecis</i>
				<i>C. albicans</i>		
RESULTATS	N=11 échantillons dentaires		SYNTHESE -->	3 échantillons + au germe responsable de l'EI		

Figure 36 : Résultats et identification des bactéries trouvées par culture directe, culture rapide (culturomics) et PCR en temps réel d'un témoin négatif et d'autres patients atteints d'endocardite infectieuse.

Les patients surlignés en gras sont les patients où le germe de l'EI a été retrouvé dans la pulpe dentaire.

V. Discussion

Dans cette étude expérimentale, le germe responsable de l'endocardite infectieuse a été analysé et retrouvé dans la pulpe dentaire du patient n°1, n°2 et n°5 (3 patients sur 5 inclus). Plusieurs échantillons ont été récoltés. En effet, 5 échantillons dentaires pour le patient n°1; 2 échantillons dentaires pour le patient n°2 et 1 échantillon pour le patient n°5.

L'identification de ces germes a été réalisée par techniques PCR et MALDITOF décrites ci-dessus. L'extirpation de la pulpe dentaire puis l'extraction des protéines d'ADN des échantillons dentaires a permis de retrouver les germes qui étaient responsables de l'endocardite infectieuse dans la pulpe dentaire.

Ces résultats illustrent l'intérêt des investigations microbiennes de la pulpe dentaire.

Il s'agit du deuxième rapport de détection d'un pathogène bactériémique dans la pulpe dentaire, suite à l'observation similaire chez un patient atteint d'endocardite et bactériémie à *B. quintana*. (24) Ces observations cliniques peuvent être plus que simplement fortuites, car un modèle expérimental de cobaye de bactériémie à *C. burnetii* a également montré que l'agent pathogène était détectable dans la pulpe dentaire. (25)

Ces observations combinées suggèrent les hypothèses suivantes :

- La pulpe dentaire peut être un sanctuaire potentiel pour les pathogènes à diffusion hématogène.

- La pulpe dentaire peut être considérée comme une cartographie des infections passées du patient. Elle a la capacité de mémoriser toutes les infections du patient. En effet, une étude a montré que la pulpe dentaire serait un refuge durable (pendant des centaines d'années) de *Yersinia pestis* (agent responsable de la peste) et serait un matériau approprié à la détection moléculaire de bactéries.

Cette hypothèse a été confirmée par la récupération de séquences d'ADN spécifiques de *Y.pestis* à partir des pulpes dentaires de squelettes datant des XVIe et XVIIIe siècles soupçonnés d'être morts de la peste (26).

De même, le virus de l'hépatite C (VHC) a été retrouvé non seulement dans la pulpe dentaire de personnes récemment contaminées mais également dans celle des personnes ayant été infectées dans leur passé (27).

La durabilité de la pulpe dentaire, associée à sa stérilité naturelle, en fait un matériau approprié sur lequel baser de telles recherches (26).

Ces arguments sont très intéressants pour les endocardites infectieuses décapitées par une antibiothérapie préalable et lorsque les hémocultures sont négatives. On pourrait donc arriver à retrouver la trace du pathogène responsable d'endocardite infectieuse dans la pulpe malgré la prise d'antibiotique préalable.

- La pulpe dentaire peut être infectée lors de bactériémies diverses (exemples du VIH, du VHC...). Par exemple, cela a été démontré avec le virus du VIH-1, qui a été retrouvé dans les fibroblastes de la pulpe dentaire d'un patient atteint du SIDA (12).

Par ailleurs, dans une étude de Nomura, le *Streptocoque mutans*, impliqué dans l'endocardite infectieuse, a également été isolé à partir de pulpes dentaires infectées.

Le canal dentaire est donc un réservoir de bactéries fréquemment impliqué dans les bactériémies. (3)

- La clairance de l'ADN bactérien (correspond au temps nécessaire pour détruire les cellules infectées) est retardée dans la pulpe dentaire.

- Une autre suggestion issue de notre modèle expérimental est qu'un micro-organisme peut se répliquer dans la pulpe dentaire.

Le système microcirculatoire de la pulpe dentaire avec ses artérioles et ses veinules permet aux cellules infectées par la bactérie de pénétrer dans la pulpe à partir de la circulation sanguine. Des lymphocytes, des plasmocytes, des macrophages tissulaires ainsi que des fibroblastes sont présents dans le tissu pulpaire. Les fibroblastes ont été impliqués comme un réservoir majeur de la bactérie ou du virus recherché. (5)

Ces arguments nous font comprendre tout l'intérêt de cette technique de détection moléculaire d'agent bactérien via la pulpe dentaire.

Cependant, cette technique d'identification de germes a ses limites.

Premièrement, elle nécessite un protocole rigoureux et précis. Au début de cette étude, la discrimination des germes était difficile car de nombreux contaminants s'interposaient durant le transport allant du pôle odontologique à l'institut hospitalo-universitaire MEDITERRANEE INFECTION (IHU).

Par ailleurs, il était essentiel de limiter cette étude à des dents vitales car nous souhaitions détecter uniquement les germes responsables de l'endocardite infectieuse et non ceux responsables d'une pathologie pulpaire (en cas de nécrose ou parodontite apicale aiguë) afin d'éviter un biais supplémentaire dans l'étude.

De plus, l'analyse de la pulpe dentaire par culture directe, par PCR, et par technique MALDI TOF doit être obligatoirement réalisée immédiatement après l'extraction dentaire afin d'optimiser la conservation cellulaire.

Le temps de manipulation de ces techniques est très important. Plusieurs jours de culture sont nécessaires afin d'obtenir un résultat fiable. Cette technique n'est donc pas recommandée si le patient est au stade de septicémie sévère.

Il faut également retenir que l'endocardite infectieuse est une pathologie complexe plurifactorielle qui implique une variété importante de germes. Cette variabilité de germes complique l'identification et le bon diagnostic microbiologique. La manipulation des échantillons doit être très minutieuse lors du protocole de mise en culture et les bases de données informatiques doivent être les plus riches possibles afin de pouvoir diagnostiquer un grand nombre de germes (les séquences des germes connus pré enregistrées dans les machines doivent être nombreuses et complètes car il faudra comparer la bactérie retrouvée dans notre échantillon avec la base de données informatique).

Cette donnée est à prendre en compte si l'on veut prouver l'efficacité et la reproductibilité de cette technique.

Enfin, la difficulté de trouver les échantillons dentaires est grande. D'une part parce que les patients ne présentent pas toujours l'indication d'extraction dentaire. D'autre part, parce que les praticiens ont tendance à ne pas conserver les dents extraites après une chirurgie.

VI. CONCLUSION

En conclusion, nous préconisons d'utiliser des dents extraites pour rechercher des pathogènes car les investigations microbiologiques de la pulpe dentaire peuvent offrir des diagnostics difficiles à réaliser ; notamment dans la situation particulière de la recherche de germes responsables d'endocardite infectieuse avec hémocultures négatives.

Les investigations basées sur la PCR, et la technique MALDI TOF ont permis de retrouver le germe responsable de l'endocardite infectieuse et donc, d'établir un diagnostic microbiologique avec un traitement efficace à posteriori.

La pulpe dentaire est une cible intéressante dans la recherche de l'étiologie des maladies septicémiques, comme l'endocardite infectieuse.

Cependant, la complexité de trouver de nombreux échantillons et la complexité des techniques d'analyse de laboratoire compliquent ce diagnostic microbiologique.

Le protocole d'identification des germes (PCR et MALDI TOF) sur pulpe dentaire est à parfaire et des études complémentaires sont nécessaires pour établir un protocole précis, fiable, rapide et efficace.

Par ailleurs, je souhaiterais simplement exprimer tout l'intérêt et donc l'extrême motivation que j'ai ressentie lors de la réalisation de cette étude expérimentale.

En effet, elle m'a permis de côtoyer modestement le monde des laboratoires, de la recherche de la médecine et de pouvoir ainsi faire le lien entre tous ces acteurs. De plus, elle m'a montré toute l'importance de l'organe dentaire sur la physiologie générale et ; en cas de dysfonctionnement, sur son implication dans de nombreuses pathologies (cardiaques et nombreuses autres).

J'ai bien conscience que la taille de l'échantillonnage de cette étude n'est pas suffisante pour être significative et pour pouvoir affirmer que la technique d'identification de germes d'endocardite infectieuse via la pulpe dentaire est certaine.

Cependant, je pense que l'on peut modestement considérer ce travail comme une ébauche au sujet qui demande à être confirmé par le biais d'un échantillonnage plus grand (et donc plus significatif), d'un protocole plus fiable et élaboré ainsi que d'une coordination plus importante entre cardiologues et chirurgiens-dentistes.

VI. BIBLIOGRAPHIE

- (1) Firstenberg S. (1995) Advanced Concepts in Endocarditis. IntechOpen. Chapitre 4:59-70.
- (2) Prpić-Mehićić G, Marsan T, Miletić I, Buntak-Kobler D. (1998) Infective endocarditis caused by *Veillonella* of dental origin. Eur Journal of cardiology. 22 Suppl:39-43.
- (3) Nomura R, Ogaya Y, Nakano K. (2016) Contribution of the Collagen-Binding Proteins of *Streptococcus mutans* to Bacterial Colonization of Inflamed Dental Pulp. J Am Dent Assoc. 11(7):e0159613.
- (4) Aboudharam G, Fournier PE, Drancourt M, Raoult D, Foucault C, Brouqui P. (2004) Molecular detection of *Bartonella quintana* DNA in the dental pulp of a homeless patient. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 23(12):920–922.
- (5) Goldberg M. (2014) The Dental Pulp : Biology, Pathology, and Regenerative Therapies. Springer. Chapitre 1:13-35.
- (6) Simon S, Cooper P, Machtou P, Berdal A, A.J Smith. (2008) Biologie pulpaire : comprendre pour appliquer au quotidien. Revue Odont Stomat. 37:209-235.
- (7) Piette É, Goldberg M. (2001) La dent normale et pathologique. De Boeck Université. Chapitre 1:6-36.
- (8) Simon S, Pertot WJ, Machtou P. (2015) JPIO Endodontie. Editions Cdp. Chapitres 1 et 2:14-79.
- (9) Gronthos S, Mankani M, Brahim J, Robey PG, Shi S. (2000) Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. Microb Pathog. 97(25):13625-30.
- (10) Zhang J, Kawashima N, Suda H, Takano Y, Azuma M. (2006) The existence of CD11c+ sentinel and F4/80+ interstitial dendritic cells in dental pulp and their dynamics and functional properties. Mod Res Dent. 18(9):1375-84.

- (11) Aboudharam G, Lascola B, Raoult D, Drancourt M. (2000) Detection of *Coxiella burnetii* DNA in dental pulp during experimental bacteremia. *Microb Pathog.* 28(4):249-254.
- (12) Glick M, Trope M, Pliskin ME. (1989) Detection of HIV in the dental pulp of a patient with AIDS. *J Am Dent Assoc.* 119(5):649-650.
- (13) C.T. Hanks, Chairman. (2000) The Extracellular Matrix of the Dental Pulp and Dentin. *J Am Dent Assoc.* 64 Spec No:523-9.
- (14) Blanchard V, Pagis B, Richaud R, Moronval F, Lutinier R, et al. (2020) Infective endocarditis in French Polynesia: Epidemiology, treatments and outcomes. *Arch Cardiovasc Dis.* 113(4):252-262.
- (15) Habib G et al. (2018) ECN PILLY Maladies Infectieuses et Tropicales. 5^{ème} édition. UE6 N°149 : « Endocardite infectieuse ». Ouvrage du collège des universitaires de Maladies infectieuses et Tropicales. Alinéa Plus. Chapitre 5:75-82.
- (16) J Cahill T, Prendergast B. (2016) Infective endocarditis. *Lancet*; 387 :882-93.
- (17) Tattevin P, Watt G, Revest M, Arvieux C, Fournier P-E. (2015) Les endocardites à hémocultures négatives : mise au point. *Med Mal Infect.* 45(1-2):1-8.
- (18) Oumarou Hama H, Gouriet F, Catherine JH, Habib G, Raskin A, Hadj Said M, Lan R, Aboudharam G, Drancourt M and Terrer E. (2020) Detection of *Staphylococcus aureus* in the Pulp of an Endocarditis Patient. *Mod Res Dent.* 5(2):486-489.
- (19) Barnett R, Larson G. (2012) A Phenol–Chloroform Protocol for Extracting DNA from Ancient Samples. *Methods in Molecular Biology*, 840:13-19.
- (20) Bayer B, Rolf B, Keil W, Eisenmenger W. (2005) Application of the BioRobot EZ1 in a forensic laboratory. *Legal Medicine, ELSEVIER* 7(3):164-168.
- (21) Barbaro A, Cormaci P, La Marca A. (2019) DNA extraction from soil by EZ1 advanced XL. *ELSEVIER, Forensic Sci Int.* 299:161-167.

- (22) Seng P, Drancourt M, Gouriet F, La Scola B, Fournier PE, Rolain JM, and Raoult D. (2009) Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis*. 49(4):543-51.
- (23) Lorenz TC. (2012) Polymerase Chain Reaction : Basic Protocol Plus Troubleshooting and Optimization Strategies. *Journal of visualized experiments*. (63), e3998, doi:10.3791/3998.
- (24) Aboudharam G, Fournier PE, Drancourt M, Raoult D, Foucault C, Brouqui P. (2004) Molecular detection of *Bartonella quintana* DNA in the dental pulp. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 23(12):920–922.
- (25) Aboudharam G, Lascola B, Raoult D, Drancourt M. (2000) Detection of *Coxiella burnetii* DNA in dental pulp during experimental bacteremia. *Microb Pathog*. 28(4):249-254.
- (26) Drancourt M, Aboudharam G, Signolit M, Dutourt O, Raoult D. (1998) Detection of 400-year-old *Yersinia pestis* DNA in human dental pulp : An approach to the diagnosis of ancient septicemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 95(21):12637-12640.
- (27) Siravenha L, Quintão Siravenha L, Di Paula Madeira L, Aldemir B, Filho O, Fernando L, Machado A, Martins Feitosa R, Rosário Vallinoto A, Ishak M, Ishak R. (2016) Detection of HCV Persistent Infections in the Dental Pulp: A Novel Approach for the Detection of Past and Ancient Infections. *Plos ONE*. 11(10) :e0165272. doi:10.1371/journal.pone.0165272.
- (28) Modena KC da S, Casas-Apayco LC, Atta MT, Costa CA de S, Hebling J, Sipert CR, et al. (2009) Cytotoxicity and biocompatibility of direct and indirect pulp capping materials. *J Appl Oral Sci*. 17(6):544-54.
- (29) M. Goldberg. (2008) Histologie du complexe dentinopulpaire. EMC - Stomatol. Chapitre 1 et 2:1- 34.
- (30) « Histologie de la pulpe dentaire ». Denticclub.com. (2018) Web. Janvier 2021. Disponible sur : <http://denticclub.blogspot.com/2018/08/histologie-de-la-pulpe-dentaire.html>

(31) Hamilton N, Attwell D, Hall C. (2010) Pericyte-mediated regulation of capillary diameter: a component of neurovascular coupling in health and disease. *Front. Neuroenergetics*. 17(6):54-53.

(32) « Anatomie des vaisseaux sanguins ». Slideplayer.fr. (2017) Web. Février 2021.

Disponible sur : <https://slideplayer.fr/slide/13968487/>

(33) « Généralités des maladies cardiaques ». Santesurlenet.com. (2016) Web. Décembre 2020. Disponible sur : <https://www.sante-sur-le-net.com/maladies/cardiologie/generalites-coeur/>

(34) Elvire, Mervoyer. « Les bases de la cardiologie ». Campus.cerimes.fr. (2020) Web. Octobre 2020. Disponible sur : <http://campus.cerimes.fr/semiologie-cardiologique/enseignement/cardiologie/site/html/1.html>

(35) « Le cas particulier des endocardites ». Microbiologiemedicale.fr. (2019) Web. 2021. Disponible sur : <https://microbiologiemedicale.fr/diagnostic-laboratoire-endocardites-hemoculture/>

(36) Daubert JC, Wolf E. (2016) Collège des Enseignants de Cardiologie et Maladies Vasculaires. Item 80 : Endocardite infectieuse. Campus Cardiologie et maladies vasculaires. Université médicale virtuelle francophone. Unf3s.

(37) Cours commun de Résidanat 2020. Sujet 25 : L'endocardite infectieuse. Disponible sur : <https://www.medecinesfax.org/useruploads/files/25%20endocardite%20infectieuse.pdf>.

Validation n° : 0825202035. Sujet 25 : 1-45.

(38) Régine, Lebrun. Plateforme protéomique de l'institut de microbiologie de la Méditerranée. « La spectrométrie de masse : Une technique d'étude structurale des protéines ». Sciences.univ-amu.fr. (2013) Web. 2021. Disponible sur : https://sciences.univ-amu.fr/files/cours12_20fevrier2013_r_lebrun.pdf

(39) Frédéric, Laurent. « Staphylococcus aureus : nouveaux outils d'optimisation du diagnostic et de la prise en charge des patients ». Collègebvh.org. ACNBH. (2012) Web. 2021. Disponible sur :

https://collegebvh.org/system/files/fichiers/document/fichiers/m_10_s_aureus_nouveaux_outils_laurent.pdf.

(40) « Principe de l'amplification par PCR ». Bibliomer.com. (2009) Web. Septembre 2020.

Disponible sur :

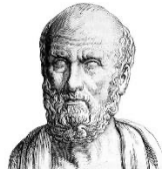
http://bibliomer.ifremer.fr/documents/fiches/fiche_ensavoirplus_lien_PCR_vf.pdf.

(41) « Real-time PCR : understanding Ct ». Thermofisherscientific.com. (2016) Web. 2021.

Disponible sur :

<https://www.thermofisher.com/content/dam/LifeTech/Documents/PDFs/PG1503-PJ9169-CO019879-Re-brand-Real-Time-PCR-Understanding-Ct-Value-Americas-FHR.pdf>.

(42) Isoshima D, Yamashiro K, Matsunaga K, Shinobe M, Nakanishi N, Nakanishi I, Omori K, Yamamoto T & Takashiba S. (2017) Assessment of pathogenesis of infective endocarditis by plasma IgG antibody titer test against periodontal bacteria. Clin Cas Reports. 5(10):1580–1586.



SERMENT MEDICAL

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

Je promets et je jure, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine Dentaire.

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

Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y 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.

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

J'informerai mes patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des connaissances pour forcer les consciences.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je

n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois déshonoré et méprisé de mes confrères si j'y manque.

AZOULAY Estelle – Détection de pathogènes responsables de l'endocardite infectieuse dans la pulpe dentaire.

Th. : Chir. dent. : Marseille : Aix –Marseille Université : 2021

Rubrique de classement : discipline odontologique de la thèse

Résumé :

L'endocardite infectieuse (EI) correspond à l'infection d'une ou plusieurs valves cardiaques par une bactérie ou par un champignon. Elle reste une pathologie fréquente et son traitement doit être adapté au pathogène impliqué. L'identification de l'agent étiologique, cruciale pour le diagnostic et le traitement de cette maladie, repose principalement sur les hémocultures aéro/anaérobies réalisées avant toute antibiothérapie. Cependant, elle échoue jusqu'à 30% des cas. Les principales raisons de cet échec sont une antibiothérapie préalable au prélèvement sanguin ou une endocardite causée par des germes de culture fastidieuse. C'est dans cette situation que la pulpe dentaire pourrait être utilisée comme matériel biologique pour détecter l'ADN d'agents infectieux. Dans cette étude expérimentale, nous allons récolter et étudier par des techniques microbiologiques (culture directe, culturomics, MALDI TOF, PCR) les dents extraites provenant de patients porteurs d'EI sur lesquels l'indication d'avulsion dentaire est posée. S'il existe une concordance entre le germe identifié sur les hémocultures et celui retrouvé au sein de l'échantillon dentaire, cela indiquera qu'une identification microbiologique du germe responsable de l'EI peut être réalisée via la pulpe dentaire et que cette dernière pourrait être un outil diagnostique déterminant dans l'enquête microbiologique au cours de l'EI.

Mots clés : Endocardite infectieuse (EI) - pulpe dentaire – bactériémie – cardiologie – diagnostic – microbiologie - MALDI TOF – PCR

AZOULAY Estelle – Detection of pathogens responsible for infectious endocarditis in the dental pulp.

Abstract :

Infectious endocarditis (IE) is the infection of one or more heart valves with a bacterium or fungus. It remains a frequent pathology and its treatment must be adapted to the pathogen involved. The identification of the etiological agent, which is crucial for the diagnosis and treatment of this disease, is based primarily on aerobic/anaerobic blood cultures performed prior to any antibiotic treatment. However, it fails in up to 30% of cases. The main reasons for this failure are antibiotic therapy prior to blood collection or endocarditis caused by fastidious culture germs.

It is in this situation that dental pulp could be used as biological material to detect the DNA of infectious agents.

In this experimental study, we will collect and study by microbiological techniques (direct culture, culturomics, MALDI TOF, PCR) teeth extracted from patients with IE on which the indication of dental avulsion is placed. If there is a concordance between the germ identified on the blood cultures and the one found in the dental sample, this will indicate that a microbiological identification of the germ responsible for the IE can be performed via the dental pulp and that the latter could be a determining diagnostic tool in the microbiological investigation during the IE.

Key words : Infective endocarditis (IE) - dental pulp - bacteremia - cardiology - diagnosis - microbiology - MALDI TOF - PCR