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

PROPRIETES ANTIMICROBIENNES DES SOLUTIONS UTILISEES POUR L'HYGIENE BUCCALE DES PERSONNES AGEES EN INSTITUTION

Année : 2017 Thèse n° 42-57-17-33

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Chirurgie Dentaire de Nice
Le 09/10/2017 Par

Monsieur Pierre BRUNO
Né le 3 mai 1989 à Grasse (France)

Pour obtenir le grade de :
DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE (Diplôme d'État)

Examinateurs :

Madame le Professeur	Laurence LUPI	Président du jury
Madame le Professeur	Isabelle PRECHEUR	Directeur de thèse
Madame le Docteur	Valérie POUYSSEGUR-ROUGIER	Assesseur
Madame le Docteur	Catherine PESCI-BARDON	Assesseur
Monsieur le Docteur	Philippe RICCARDI	Membre invité

SOMMAIRE

SOMMAIRE 3

1. INTRODUCTION 5

2. REVUE DE LITERATURE 6

2.1. Le biofilm oral 6
2.1.1. Biofilms et flores endogènes 6
2.1.2. Formation et composition du biofilm oral 7
2.1.3. Le biofilm oral compatible avec la santé bucco-dentaire 9

2.2. Les biofilms oraux pathogènes 9
2.2.1. Le biofilm cariogène 9
2.2.2. Le biofilm parodontogène 10
2.2.3. Le biofilm associé aux candidoses orales 10

2.3. Biofilm oral et vieillissement 11
2.3.1. Le développement du biofilm oral critique chez les personnes âgées 11
2.3.2. Particularité des soins de bouche chez les personnes âgées dépendantes 12

3. OBJECTIF DE L'ETUDE 13

4. MATERIEL ET METHODE 14

4.1. Enquête pour connaître les produits les plus utilisés 14

4.2. Solutions de rinçage buccal testées 15

4.3. Souches microbiennes testées 15

4.4. Protocole expérimental 18
4.4.1. Schéma de l'étude 18
4.4.2. Traitement des données numériques 18

4.5. Test in vitro d'inhibition de croissance en milieu solide 20

4.6. Test in vitro d'inhibition de croissance en milieu liquide 23

5. RESULTATS 26

5.1. Test in vitro d'inhibition de croissance en milieu solide 26

5.2. Test in vitro d'inhibition de croissance en milieu liquide 28
5.2.1. Analyse des résultats, par solution de rinçage (Tableau 6) 31
5.2.2. Analyse des résultats, par souche microbienne testée (Tableau 7) 33

6. DISCUSSION 36

6.1. Protocole d'étude et souches testées 36
6.1.1. Enquête préliminaire 36
6.1.2. Protocoles de culture en milieu solide et en milieu liquide 36
6.1.3. Souches microbiennes testées 37
6.1.4. Interprétation des résultats 37

6.2. Solutions de rinçage testées 38
6.2.1. Eau du robinet 38

6.2.2. Sérum physiologique 38
6.2.3. Bicarbonate de sodium 39
6.2.4. Parabènes à doses alimentaires 39
6.2.5. Eau de Vichy Saint-Yorre 40
6.2.6. Coca-Cola zéro 40
6.2.7. Bain de bouche à la chlorhexidine (Eludril) 41

7. CONCLUSION 42

8. BIBLIOGRAPHIE 43

9. LISTE DES TABLEAUX 46

10. LISTE DES FIGURES 47

11. ANNEXES 48

Annexe 1. Résultats du test d'inhibition de croissance en milieu solide 48

Annexe 2. Résultats du test d'inhibition de croissance en milieu liquide 54

1. **INTRODUCTION**

Le corps humain est colonisé naturellement par de nombreux micro-organismes, bactéries, virus, champignons et parasites, réunis sous le terme de microbiote ou flore microbienne endogène de l'organisme humain.
Les microbiotes du corps humain colonisent la peau, les muqueuses et le tube digestif, avec des microbiotes spécialisés pour chaque écosystème. Ce travail est centré sur le microbiote buccal.

La bouche est colonisée par une flore microbienne endogène, qui est nécessaire à la santé bucco-dentaire. La flore buccale peut être déséquilibrée, par exemple par un brossage des dents insuffisant, la consommation d'aliments et de boissons sucrés, le tabac, les drogues illicites ou de nombreux médicaments qui provoquent une sécheresse buccale. Dans ces circonstances, il y a une pullulation des bactéries et des champignons microscopiques qui constituent le biofilm oral sain et le biofilm peut héberger de nouvelles espèces pathogènes. La plupart des bactéries et des champignons qui colonisent la bouche à l'état de santé ou de maladie ne peuvent pas être cultivés au laboratoire. Mais il existe des flores associées aux caries, aux gingivites, aux parodontites et aux candidoses orales.

L'hygiène bucco-dentaire est donc la base de la santé bucco-dentaire, pour limiter la pullulation microbienne.

Les personnes âgées dépendantes ne peuvent plus se brosser les dents et nettoyer leurs prothèses dentaires amovibles. Leur hygiène bucco-dentaire doit être assurée par une tierce personne, soit un proche, soit une aide-soignant(e) ou une infirmière. Chez les personnes dépendantes, le brossage est souvent difficilement réalisable, et les personnes qui font les toilettes ont souvent recours à des solutions antimicrobiennes ou simplement à un rinçage buccal faute de temps ou de coopération du patient.

Cependant, le biofilm oral doit être respecté : il ne faut pas chercher à l'éradiquer ni le déséquilibrer avec des solutions antiseptiques, car cela provoque des inflammations et aggrave l'état buccal.

L'objectif de ce travail est d'étudier les propriétés antimicrobiennes des solutions de rinçage les plus souvent utilisées en institution, afin d'éviter les pratiques iatrogènes.

2. REVUE DE LITERATURE

2.1. Le biofilm oral

2.1.1. Biofilms et flores endogènes

Un biofilm est une accumulation de micro-organismes, de différentes espèces, adhérant à une surface. Les cellules microbiennes se développent dans une matrice très hydratée, formée principalement des polyosides excrétés par des micro-organismes à certains moments de leur cycle cellulaire (1).
L'architecture du biofilm est complexe et l'organisation des différents micro-organismes ne se fait pas au hasard. Elle se fait en fonction de leur métabolisme et de leurs interactions permettant une coagrégation intermicrobienne. Le biofilm varie aussi en fonction des conditions physicochimiques de son environnement. Cette organisation permet à des micro-organismes spécifiques de s'adapter aux conditions environnementales et de coloniser tous les types de surfaces, y compris le corps humain (Figure 1) (2).

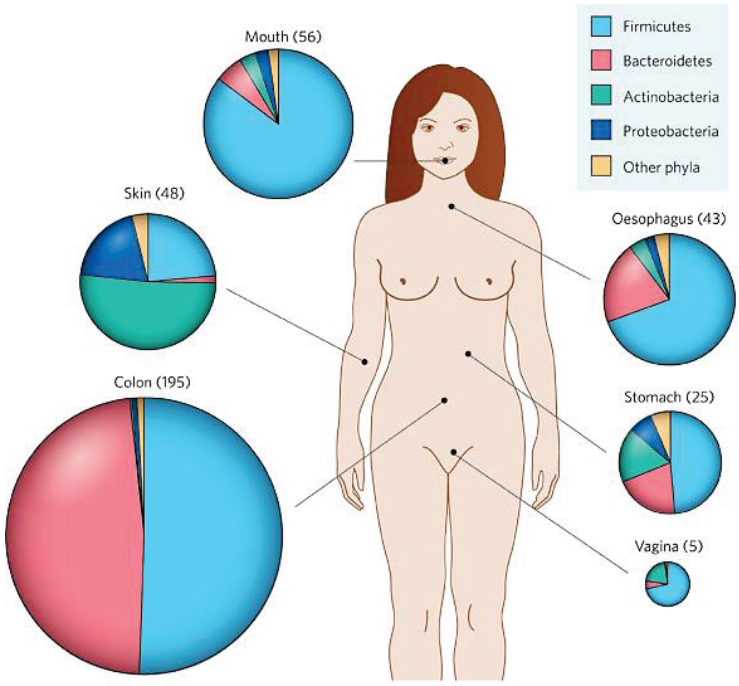


Figure 1. Répartition des phylums bactériens dans les écosystèmes endogènes humains (2)

Les flores endogènes sont des biofilms spécifiques qui colonisent toutes les surfaces du corps humain : ce sont les flores endogènes, qui constituent une première ligne de défense contre les micro-organismes extérieurs et sont nécessaires à l'état de santé (Figure 1) (1, 2). Tout déséquilibre des flores endogènes peut entraîner un état pathologique, soit par leur destruction, soit par leur pullulation. Les soins d'hygiène doivent donc respecter cet équilibre fragile : les produits cosmétiques pour l'hygiène quotidienne ne doivent pas contenir de principes actifs antiseptiques, en dehors des excipients utilisés comme conservateurs (3-5).

2.1.2. Formation et composition du biofilm oral

La bouche est caractérisée par des surfaces souples (muqueuses orales) et des surfaces dures (dents, tartre et biomatériaux utilisés en odontologie conservatrice et en prothèse). L'objectif principal de l'hygiène bucco-dentaire est d'éliminer le biofilm oral, appelé plaque dentaire lorsqu'il se développe sur les dents et sur les autres surfaces dures de la bouche.

La plaque dentaire est un agrégat mou et blanchâtre qui se dépose en quelques heures sur les surfaces dentaires (naturelles, obturées ou prothétiques), en l'absence d'un brossage efficace (1, 3,5). Un biofilm spécifique se dépose aussi en quelques heures les muqueuses kératinisées de la gencive attachée et de la langue. Ces biofilms varient en qualité (composition microbienne) et en quantité d'un individu à l'autre. Un patient avec une hygiène bucco-dentaire correcte a en bouche 5 à 20 mg de plaque, alors qu'un patient sans hygiène bucco-dentaire en possède jusqu'à 10 fois plus. Ce dépôt bactérien apparaît dès l'éruption des dents et se développe surtout dans les régions inaccessibles au brossage telles que les sillons dentaires, les zones inter-dentaires et les espaces gingivo-dentaires (1, 5).

Le biofilm oral se compose essentiellement d'eau (80%) et de substances solides (20%), de nature inorganique et organique.
Les éléments solides inorganiques comprennent :

- Des protéines, des polysaccharides et des lipides, d'origine bactérienne et salivaire,
- Du calcium, des phosphates, du potassium, du sodium, du fluor et des oligo-éléments (1, 5).

Parmi les éléments solides organiques, on distingue :

- Des cellules épithéliales desquamées,
- Des cellules immunitaires, comme les leucocytes et les macrophages, ainsi que des microorganismes.

Seules quelques espèces de champignons et environ 700 espèces bactériennes peuvent être cultivées au laboratoire (1, 4, 5). Les méthodes de biologie moléculaire ont montré que des centaines de phylotypes de champignons microscopiques et des milliers de phylotypes de bactéries peuvent coloniser le biofilm oral (Tableau 1), ainsi que des archéabactéries, des parasites et des virus (6-9).

Domaine	Phylum	Genre	Domaine	Phylum	Genre
Archaea	Euryarchaeota	*Methanobrevibacter*	Bacteria	Firmicutes	*Mitsuokella*
Bacteria	Actino	*Actinobaculum*	(suite)	(suite)	*Mogibacterium*
	bacteria	*Actinomyces*			*Mycoplasma*
		Atopobium			*Paenibacillus*
		Bifidobacterium			*Parvimonas*
		Corynabacterium			*Peptococcus*
		Cryptobacterium			*Peptinophilus*
		Dermabacter			*Peptostreptococcus*
		Kocuria			*Pseudoramibacter*
		Microbacterium			*Schwartzia*
		Mycobacterium			*Selenomonas*
		Olsenella			*Shuttleworthia*
		Parascardovia			*Staphylococcus*
		Propionibacterium			*Streptococcus*
		Rothia			*Veillonella*
		Scardovia		Tenericutes	*Bulleidia*
		Slackia			*Solobacterium*
		Tropheryma			*Erysipelothrix*
		Bergeyella		Fusobacteria	*Fusobacterium*
	Bacteroidetes	*Capnocytophaga*			*Leptotrichia*
		Porphyromonas		SR1	*Uncultivated*
		Prevotella		Proteobacteria	*Actinobacillus*
		Tannerella			*Campylobacter*
		Chloroflexi			*Cardiobacterium*
	Chloroflexi	*Abiotrophia*			*Desulfobulbus*
	Firmicutes	*Anaerococcus*			*Desulfomicrobium*
		Anaeroglobus			*Desulfovirio*
		Caryophanon			*Eikenella*
		Catonella			*Haemophilus*
		Centipeda			*Kingella*
		Dialister			*Lautropia*
		Enterococcus			*Neisseria*
		Eubacterium			*Rastonia*
		Filifactor			*Rhodocyclus*
		Finegoldia			*Simonsiella*
		Gemella			*Suttonella*
		Granulicatella			*Treponema*
		Johnsonella			*Jonquetella*
		Lactobacillus			*Pyramidobacter*
		Leuconostoc		TM7	Uncultivated
		Megasphera			

Tableau 1. Principaux phylums et genres bactériens qui colonisent le biofilm oral (d'après AFSSAPS 2001 et Tibi J 2010)

L’organisation des bactéries orales en biofilm correspond à un mécanisme de survie. En effet, les bactéries vivant individuellement dans la salive sont constamment menacées par de nombreuses substances antibactériennes, alors que les colonies microbiennes complexes aérobies et anaérobies du biofilm dentaire vivent à l’abri, enchâssées dans une matrice intercellulaire de polymères microbiens et salivaires (1, 5). Ainsi, via de petites molécules « signal » diffusibles (molécules du quorum sensing), ces bactéries communiquent entre elles et induisent diverses compétences génétiques pouvant rendre leur environnement favorable à leur prolifération et ainsi augmenter leur résistance aux antibactériens (7, 8).

2.1.3. Le biofilm oral compatible avec la santé bucco-dentaire

Contrôlé par une hygiène bucco-dentaire efficace, ce type de biofilm s’accompagne d’une bonne santé dentaire et parodontale. Les principales bactéries cultivables sont des cocci et des bacilles Gram-positifs (*Streptococcus, Actinomyces*). Par exemple, la flore sulculaire d’un parodonte sain peut contenir *Streptococcus mitis, S. sanguis, Actinomyces naeslundii, A. viscosus, Lactobacillus acidophilus, L. casei, Capnocytophaga sp., Eikenella corrodens, Treponema sp., Campylobacter rectus, Fusobacterium nucleatum, Prevotella intermedia, Neisseria sp.* et *Veillonella sp*. Une fois installée, cette flore saine essentiellement anaérobie facultative. Elle fait obstacle à la colonisation du sulcus par les bactéries pathogènes (3).

La plaque mature est un écosystème complexe qui varie beaucoup d’un individu à l’autre. Elle diffère également chez le même individu, selon sa localisation en bouche et les conditions environnementales, telles que la présence d’antibactériens ou de sucres alimentaires (1, 4). La composition de la flore supra-gingivale, qui se fixe sur l’émail, est différente de la composition de la flore sous-gingivale, qui se fixe sur le cément dans le sillon gingivo-dentaire, l'épithélium sulculaire et prolifère librement dans le sulcus (bactéries mobiles) (1, 4).

2.2. Les biofilms oraux pathogènes

2.2.1. Le biofilm cariogène

Ce biofilm, généralement supra-gingival et adhérent à l’émail, est à l’origine des caries. Il est associé à une consommation élevée de saccharose, et contient des bactéries ayant un pouvoir cariogène élevé, telles que *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus viscosus* (3, 4). Certaines bactéries cultivables sont fréquemment isolées dans la flore des caries de l'émail, de la dentine et du cément : *Actinomyces naeslundii, A. viscosus, Lactobacillus acidophilus, L. casei, Streptococcus anginosus, S. mitis, S. mutans* (dont *S. sobrinus*), *S. salivarius, S. sanguinis, Actinomyces sp., Bifidobacterium sp., Eubacterium sp., Propionibacterium sp.* et *Rothia dentocariosa*, par exemple (3).

2.2.2. Le biofilm parodontogène

L'adhésion à la surface du cément de cette plaque sous-gingivale, est responsable des maladies parodontales. Ce sont des maladies d'origine infectieuse multifactorielles, caractérisées par des phénomènes inflammatoires et dégénératifs destructeurs du parodonte (1, 3).
Parmi elles, on distingue :
- les gingivites, qui correspondent à une inflammation gingivale (gencives rouges et tuméfiées, saignant au sondage),
- les parodontites, dans lesquelles on observe la formation de poches parodontales et une perte d'attache, ainsi qu'une destruction de l'os alvéolaire (ou alvéolyse) (1, 3).
Il existe plusieurs types de gingivites (chronique, hyperplasique, hypertrophique localisée ou épulis, ulcéro-nécrotique) et de parodontites (chronique de l'adulte, prépubertaire, juvénile localisée ou généralisée, à progression rapide, réfractaire) (3).

La principale cause des maladies parodontales est la plaque bactérienne (1, 3). En effet, après avoir colonisé le sillon gingivo-dentaire, elle précipite en tartre en interagissant avec la salive. L'irritation mécanique de la gencive due au tartre, associée aux différents produits métaboliques issus des bactéries parodontopathogènes (irritants directs, enzymes, endo et exotoxines), endommagent la gencive et provoquent une gingivite. Cette inflammation gingivale est réversible si des mesures d'hygiène bucco-dentaire sont prises pour éliminer la plaque. Sinon la gingivite, favorable à la prolifération des bactéries parodontopathogènes, s'aggrave en parodontite, qui conduit, si elle n'est pas traitée, à la mobilité puis à la perte des dents (1, 3). Différents facteurs (tabac, mauvaise hygiène bucco-dentaire, stress, médicaments, modifications hormonales) peuvent favoriser l'apparition d'une maladie parodontale en perturbant les défenses immunitaires de l'hôte (1, 3). Il existe aussi des prédispositions génétiques aux maladies parodontales (1).

Au fur et à mesure que la gingivite s'aggrave en parodontite, les poches parodontales deviennent de plus en plus profondes et leur flore passe d'une flore dominée par des espèces aéro-anaérobies facultatives à Gram positif à une flore dominée par des espèces anaérobies strictes à Gram négatif (3). Certaines bactéries cultivables sont fréquemment isolées dans les biofilms parodontopathogènes : *Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus, Prevotella intermedia, Treponema denticola, Fusobacterium nucleatum, Prevotella nigrescens, Peptostreptococcus micros, Campylobacter rectus et Eikenella corrodens*, par exemple (1, 3)

2.2.3. Le biofilm associé aux candidoses orales

Les biofilms fongiques oraux ont été moins étudiés que les biofilms bactériens. Le genre *Candida* est un colonisateur régulier de l'écosystème oral. *Candida albicans* est l'espèce qui est le plus souvent isolée dans la flore orale, et c'est aussi l'espèce qui est la plus facile à cultiver in vitro (4). Les autres espèces de *Candida* qui peuvent être isolées dans la flore orale sont *C. tropicalis, C. stellatoidea, C. pseudotropicalis, C. parapsilosis, C. guillermondii* et *C. krusei*. Les autres genres de champignons

microscopiques souvent identifiés dans la flore orale sont les genres *Pichia, Aspergillus* et *Fusarium* (10).

C. albicans fait souvent partie des flores orales endogènes à l'état de levures (forme arrondie), non virulentes. Quand les conditions lui deviennent favorables, *C. albicans* peut former des filaments : c'est la forme virulente et toxique, capable de libérer des toxines et des enzymes et d'envahir l'épithélium oral pour provoquer des candidoses orales (11). *C. albicans* sous forme de filaments a aussi la propriété de former des agrégats, entre filaments de *Candida* et avec les bactéries orales, en particulier avec *Fusobacterium nucleatum*. Cette propriété contribue à former les dépôts microbiens blancs et épais, caractéristiques de certaines formes de candidoses orales (1). Enfin*, C. albicans* peut être associé à *S. mutans* dans des lésions carieuses à progression rapide et augmenter le pouvoir cariogène *de S. mutans* (10).

2.3. Biofilm oral et vieillissement

2.3.1. Le développement du biofilm oral critique chez les personnes âgées

Le biofilm oral des personnes âgées peut évoluer vers un biofilm oral critique épais, visible à l'œil nu et qui devient récalcitrant à toutes les mesures d'hygiène bucco-dentaire. En effet, avec le vieillissement, l'hygiène bucco-dentaire peut être rendue moins efficace avec la diminution de la motricité (arthrose, accident vasculaire cérébral, maladie de Parkinson...), la baisse de la vision, le manque de motivation (dépression) ou les troubles cognitifs (12, 13). L'alcool et le tabac contribuent à dégrader et à vieillir prématurément la bouche (14). De plus, les personnes âgées ont souvent des pathologies chroniques et prennent des médicaments au long cours. La prise de quatre médicaments par jour ou plus augmente le risque de sécheresse buccale, qui déséquilibre le biofilm oral et favorise les candidoses orales, les gingivites et les caries dentaires. Certains médicaments comme les psychotropes et les médicaments atropiniques (anti-histaminiques H1, anti-parkinsoniens...) augmentent aussi directement le risque de sécheresse buccale (15). L'usage régulier de bains de bouche antiseptiques est aussi un facteur de risque indépendant de sécheresse buccale, car il déséquilibre le biofilm oral endogène (16).

Le biofilm oral critique des personnes âgées dépendantes peut recouvrir toutes les surfaces orales, y compris les muqueuses non kératinisées. Il peut contenir tous les microorganismes caractéristiques des flores des caries, des parodontites et des candidoses orales, ainsi que des bactéries digestives et respiratoires, telles que *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* (4). Le biofilm oral critique peut être inhalé par les personnes âgées qui font des fausses routes, et provoquer des pneumonies d'inhalation.
Les pneumonies d'inhalation sont la première cause de mortalité infectieuse chez les résidents des Etablissements d'Hébergement pour Personnes Agées Dépendantes (EHPAD) (12, 13).

2.3.2. Particularité des soins de bouche chez les personnes âgées dépendantes

Au 1er janvier 2017, la population de la France est de 67 millions de personnes (17). Une personne est considérée comme dépendante quand elle ne peut plus effectuer seule les gestes du quotidien, comme se laver, s'habiller, se nourrir ou se déplacer. La dépendance est une incapacité liée à l'âge, à la maladie ou à un accident. Selon l'Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques (INSEE), "*En France métropolitaine au 1er janvier 2012, il y avait 1,17 million de personnes âgées dépendantes, bénéficiaires de l'allocation personnalisée d'autonomie (APA), soit 7,8% des personnes âgées de 60 ans et plus. Au-delà de 75 ans, 9% des personnes vivent en EHPAD*" (17).

Les soins de bouche des personnes âgées dépendantes à domicile sont réalisés par un aidant ou un infirmier qui vient une ou deux fois par jour. A l'hôpital, les soins de bouche sont réalisés par l'infirmier ou l'aide-soignant. En EHPAD, les soins de bouche sont réalisés par l'aide-soignant. En l'absence de document validé par le Ministère de la santé, des documents de consensus rédigés par des experts sont accessibles librement sur internet. Ils sont en général rédigés par des équipes de soins palliatifs (18-20). Ces documents détaillent les protocoles d'hygiène à appliquer aux personnes âgées dépendantes en cas de bouche saine, sèche (xérostomie), sale, douloureuse, inflammatoire et/ou ulcérée, malodorante, mycosique, hémorragique et en cas d'hypersialorrhée (18-20).

Le brossage des dents avec une brosse à dents manuelle ou électrique peut être impossible, notamment chez les personnes âgées souffrant de troubles cognitifs (maladie d'Alzheimer ou autre) : refus d'ouvrir la bouche, morsure des soignants, somnolence, agitation ou manque de temps lié au manque d'effectifs dans les structures... (13). Les personnes qui réalisent les soins nettoient la bouche avec une compresse imprégnée d'eau ou de sérum physiologique, d'eau gazeuse ou de sodas sans sucre (effet détersif des bulles) ou encore de bicarbonate de sodium 1,4% (18-20). L'objectif de ces solutions de rinçage n'est pas de décontaminer la bouche au sens chirurgical du terme. Il est de contribuer au nettoyage mécanique de la bouche, pour réduire l'épaisseur de plaque et de biofilm visibles sur les dents et les muqueuses (aspect quantitatif) sans déséquilibrer la flore orale (aspect qualitatif).

Les bains de bouche antifongiques, souvent en préparation magistrale à base de fungizone, sont réservés aux candidoses orales. De même, les bains de bouche antiseptiques à base d'hypochlorite de sodium (Dakin), d'eau oxygénée (10% volume diluée au 1/5), d'hexétidine, de chlorhexidine (alcoolisés ou non) ou de triclosan sont réservés aux situations particulières de bouches infectées, mais pour une durée limitée en général de à 72 h à dix jours maximum (18-20).

3. **OBJECTIF DE L'ETUDE**

Une étude clinique observationnelle réalisée par l'équipe du laboratoire MICORALIS EA 7354 a montré que les bains de bouche antiseptiques, lorsqu'ils étaient utilisés en routine comme des produits d'hygiène buccale, étaient une cause indépendante de sécheresse buccale (16). Nous avons voulu savoir si, lorsqu'un brossage avec du dentifrice est impossible, les produits utilisés pour humidifier les compresses ou en simple rinçage buccal avaient un effet antimicrobien susceptible de déséquilibrer le biofilm oral.

L'objectif de cette étude était de tester in vitro les propriétés antimicrobiennes des solutions les plus fréquemment utilisées en EHPAD pour nettoyer la bouche des personnes âgées dépendantes, afin d'éviter les pratiques iatrogènes.

4. MATERIEL ET METHODE

4.1. Enquête pour connaître les produits les plus utilisés

Dans les EHPAD, les aides-soignants utilisent diverses solutions pour rincer la bouche des patients. Nous avons donc demandé dans deux institutions qui accueillent des personnes âgées dépendantes quels étaient les produits les plus couramment utilisés. Ces institutions étaient la Clinique plein ciel à Mougins (groupe Arnault Tzanck) et l'EHPAD La bastide des Cayrons à Vence (groupe ORPEA). Nous avons interrogé les infirmières et les aides-soignantes présentes un jour donné (64 personnes interrogées).

Lors d'un entretien non dirigé, nous avons écouté leurs doléances sur le déficit d'hygiène dentaire des résidents. Nous leur avons ensuite demandé quels produits elles utilisaient ou voyaient utiliser en rinçage buccal. Les six produits les plus utilisés étaient :
- 34,4 % (22/64) bains de bouche à la chlorhexidine,
- 23,4 % (15/64) bicarbonate de sodium,
- 18,8 % (12/64) sérum physiologique,
- 10,9 % (7/64) eau du robinet,
- 6,3 % (4/64) soda pétillant sans sucre (le plus souvent Coca-Cola sans sucre),
- 4,7 % (3/64) eau pétillante à forte teneur en bicarbonates,
- 1,6 % (1/64) solutions diverses.

D'après les personnes interrogées :
- la préférence va à une solution antiseptique à base de chlorhexidine,
- le bicarbonate est souvent considéré comme ayant une action antiseptique mais moins agressif,
- le sérum physiologique est utilisé car il a le mérité d'être stérile,
- l'eau est utilisée par facilité,
- le soda et l'eau pétillante auraient un effet bénéfique grâce aux bulles.

Nous avons donc testé ces six produits, en y ajoutant un marqueur interne, une solution contenant des parabènes à dose alimentaire (10). Ce marqueur interne développé au Laboratoire MICORALIS EA 7354 contient des parabènes à une concentration inférieure aux concentrations maximales autorisées dans les produits alimentaires (parahydroxybenzoate de méthyle : 0,0075% vs 0,18%; parahydroxybenzoate de propyle : 0,0075% vs 0,06%) (22).

4.2. Solutions de rinçage buccal testées

Les caractéristiques des solutions testées sont détaillées dans le Tableau 2.

4.3. Souches microbiennes testées

Nous avons utilisé une souche fongique (*C. albicans*) et dix souches bactériennes, dont les caractéristiques sont détaillées dans le Tableau 3. Toutes les expérimentations in vitro ont été réalisées au Laboratoire MICORALIS EA 7354, à la faculté de chirurgie-dentaire de Nice, et les souches ont été cultivées selon le protocole du laboratoire (21).

Solutions testées	Composition % poids ou volume pour 100 mL	Excipients	pH	Bulles
Eau du robinet	-	Eau du robinet	7,0	-
Sérum physiologique	Chlorure de sodium (NaCl) 0,85 %	Eau purifiée	7,0	-
Bicarbonate de sodium	Bicarbonate de sodium (NaHCO3) 1,4%	Eau du robinet	8,4	-
Eau Vichy Saint-Yorre®	-	En mg/L : calcium 90, magnésium 11, sodium 1708, potassium 110, sulfate 174, bicarbonates 4368, chlorures 322, fluorures 1 (résidu sec à 180°C : 4774)	6,6	+
Marqueur interne (parabènes)	Extrait de *Solidago virgaurea* 0,2%	Eau purifiée, glycérol, menthe et anis essence : solution alcoolique, glycérol, **parahydroxybenzoate de méthyle (0,0075%),** **parahydroxybenzoate de propyle (0,0075%)**	7,2	-
Coca-Cola zéro®	-	Eau gazéifiée, colorant (caramel : E150d), acidifiants : acide phosphorique et acide citrique, édulcorants : aspartame et acésulfame-K, extraits végétaux, caféine	2,9	+
Bain de bouche à la chlorhexidine (Eludril®)	**Chlorhexidine gluconate** 0,5% **Chlorbutanol hémihydrate** 0,5%	Docusate sodique, eau purifiée, **éthanol à 96%**, glycérol, lévomenthol, menthe essence : solution alcoolique, rouge cochenille A	6	-

*Tableau 2. Différentes solutions testées. L'eau du robinet est le contrôle positif (pas d'inhibition de croissance) et le bain de bouche à la chlorhexidine est le contrôle négatif (antiseptique oral inhibant la croissance microbienne). Le marqueur interne a été développé au Laboratoire MICROALIS EA 7354, pour tester des conservateurs, les parabènes, à une concentration inférieure aux concentrations maximales autorisées dans les produits alimentaires (parahydroxybenzoate de méthyle : 0,18%, parahydroxybenzoate de propyle : 0,06%). **En gras** : les molécules ayant un effet antimicrobien aux doses utilisées.*

Souches testées	Milieu de culture solide gélosé	Milieu de culture liquide	Caractéristiques	Conditions de culture	Durée d'incubation T1
Candida albicans[1] ATCC 10.231	Sabouraud	Yeast peptone extract	Levure	Aérobie	24 h
Staphylococcus aureus[1] CIP 53.154	Mueller-Hinton	Brain Heart Infusion	Cocci Gram+	Aérobie	24 h
Escherichia coli[1] CIP 54.127	Mueller-Hinton	Brain Heart Infusion	Bacille Gram-	Aérobie	24 h
Pseudomonas aeruginosa[1] CIP A22	Mueller-Hinton	Brain Heart Infusion	Bacille Gram-	Aérobie	24 h
Micrococcus luteus[2] CIP A270	Mueller-Hinton	Brain Heart Infusion	Cocci Gram+	Aérobie	24 h
Gemella haemolysans[2] CIP 101.126	Gélose au sang Columbia	Schaedler	Cocci Gram+	Aérobie	24 h
Streptococcus salivarius[2] CIP 102.505	Gélose au sang Columbia	Schaedler	Cocci Gram+	Aérobie	24 h
Rothia mucilaginosa[2] CIP 71.14	Gélose au sang Columbia	Schaedler	Cocci Gram+	Aérobie	24 h
Streptococcus mutans[2] CIP 103.220T	Gélose au sang Columbia	Schaedler	Cocci Gram+	Anaérobie	48 h
Fusobacterium nucleatum[2] CIP 101.130	Gélose au sang Columbia	Schaedler	Bacille Gram-	Anaérobie	48 h
Porphyromonas gingivalis[2] CIP 103.683	Gélose au sang Columbia	Schaedler	Bacille Gram-	Anaérobie	48 h

Tableau 3. Microorganismes utilisés pour l'expérimentation. [1] : quatre souches de référence recommandées par l'Agence Française de Normalisation (AFNOR) pour tester des produits antimicrobiens. [2] : sept souches de bactéries représentatives de l'écosystème oral.

4.4. Protocole expérimental

4.4.1. Schéma de l'étude

Cette étude avait pour objectif de rechercher les propriétés antimicrobiennes de six solutions de rinçage utilisées par les infirmiers et les aides-soignants pour les soins d'hygiène buccale des personnes âgées dépendantes, lorsque le brossage des dents avec une brosse à dent et du dentifrice est impossible. Les six solutions ont aussi été comparées à un marqueur interne développé au laboratoire, qui contient des conservateurs (parabènes) à dose alimentaire.

Les solutions ont été testées sur une souche fongique et sur dix souches bactériennes.
Nous avons réalisé :
- un test in vitro d'inhibition de croissance en milieu solide,
- un test in vitro d'inhibition de croissance en milieu liquide.

Toute les expériences ont été faites en triple, afin d'obtenir une signification statistique et de minimiser les différents biais comme une erreur de manipulation, une contamination externe ou une souche peu active, par exemple.

La Figure 2 résume ces manipulations, qui ont été réalisées avec chacune des 11 souches testées.

4.4.2. Traitement des données numériques

Il s'agit d'une étude observationnelle : les résultats numériques sont présentés sous forme descriptive. Nous n'avons pas cherché à comparer d'un point de vue statistique l'effet des différentes solutions de rinçage sur la croissance des 11 souches microbiennes testées, puisqu'aucun effet antibactérien n'est revendiqué pour ces solutions.

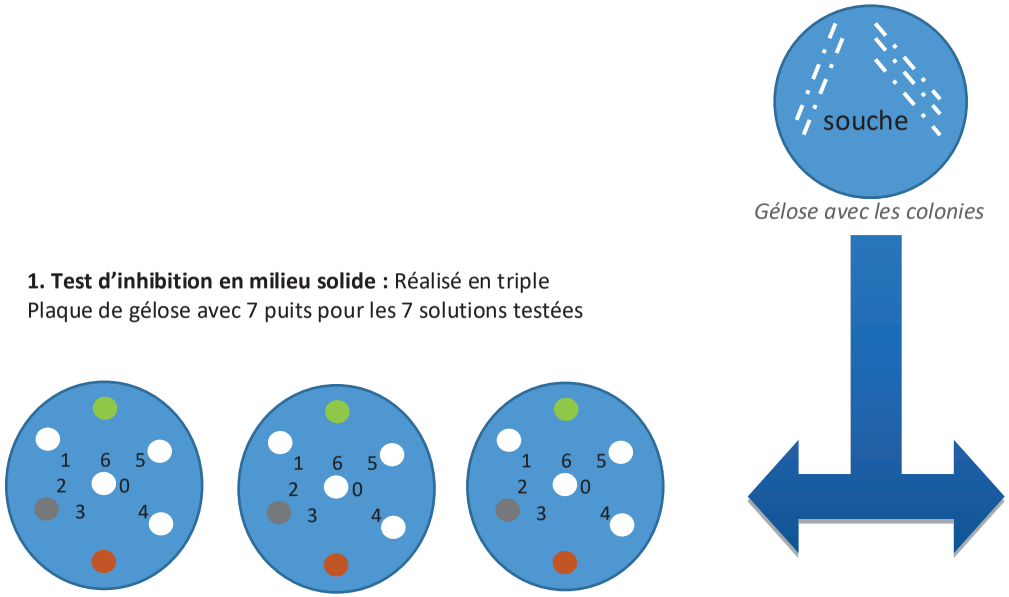


Figure 1. Schéma de l'étude. : Pour chaque souche testée, chaque test a été réalisé trois fois. 1) Pour le test en milieu solide, ensemencement de trois boîtes de Pétri, dont la gélose a ensuite été percée de sept puits pour recevoir 28 µL de chaque solution à tester. 2) Pour le test en milieu liquide : 1,6 mL de chaque solution à tester a été pipeté dans un tube à hémolyse, puis 0,4 mL de bouillon de culture a été ajouté dans chaque tube (en triple, soit 21 tubes hémolyse de 2 mL). Puis de chaque tube 1 mL a été pipeté pour être placé dans une cuve pour analyse au spectrophotomètre (pour la densité optique à T0) et 1 mL restant a été pipeté dans un tube Eppendorf pour incubation, avant seconde lecture des DO à T1.

4.5. Test in vitro d’inhibition de croissance en milieu solide

Pour un test d’inhibition de croissance en milieu solide, une suspension de la souche à tester est étalée à la surface d'un milieu de culture gélosé. Des puits sont ensuite creusés dans la gélose, les solutions à tester sont déposées dans les puits et la boîte est incubée dans une étuve. Les solutions de rinçage à tester diffusent dans la gélose selon un gradient de concentration et inhibent la croissance du microorganisme en fonction de leur activité antimicrobienne. Après le temps d'incubation T1 (Tableau 3), le rayon d'inhibition de croissance à partir du bord du puits est mesuré en mm. Les résultats des trois tests sont exprimés sous forme de rayon d'inhibition moyen (mesuré à partir du bord du puits) et écart type.

Jour J1

- Remettre en culture les souches sur milieu gélosé, à partir de 11 souches congelées au laboratoire (remise en culture 2 ou 3 jours avant pour les souches anaérobies).

Jour J2

- Préparer les inoculums : remettre en suspension des colonies isolées dans une ampoule de NaCl à 0,85 %, jusqu'à une concentration de 10^8 CFU (Colony Forming Unit) pour les dix inoculums bactériens et de 10^6 CFU pour l'inoculum fongique, par analogie avec la gamme de dilution de Mac Farland (Mac Farland 5).
- Ensemencer les boîtes de Pétri contenant les milieux gélosés par étalement, avec 1 mL d'inoculum. Préparer sept puits dans la gélose avec une paille stérile utilisée comme emporte-pièce. Déposer 28 µL de chaque solution à tester dans les puits. Incuber 24 h en aérobiose ou 48 h en anaérobiose, selon les souches (Figure 3).

Jour J3

- Mesurer les rayons d'inhibition en mm, pour les souches aérobies (Figure 4).

Jour J4

- Mesurer les rayons d'inhibition en mm, pour les souches anaérobies.

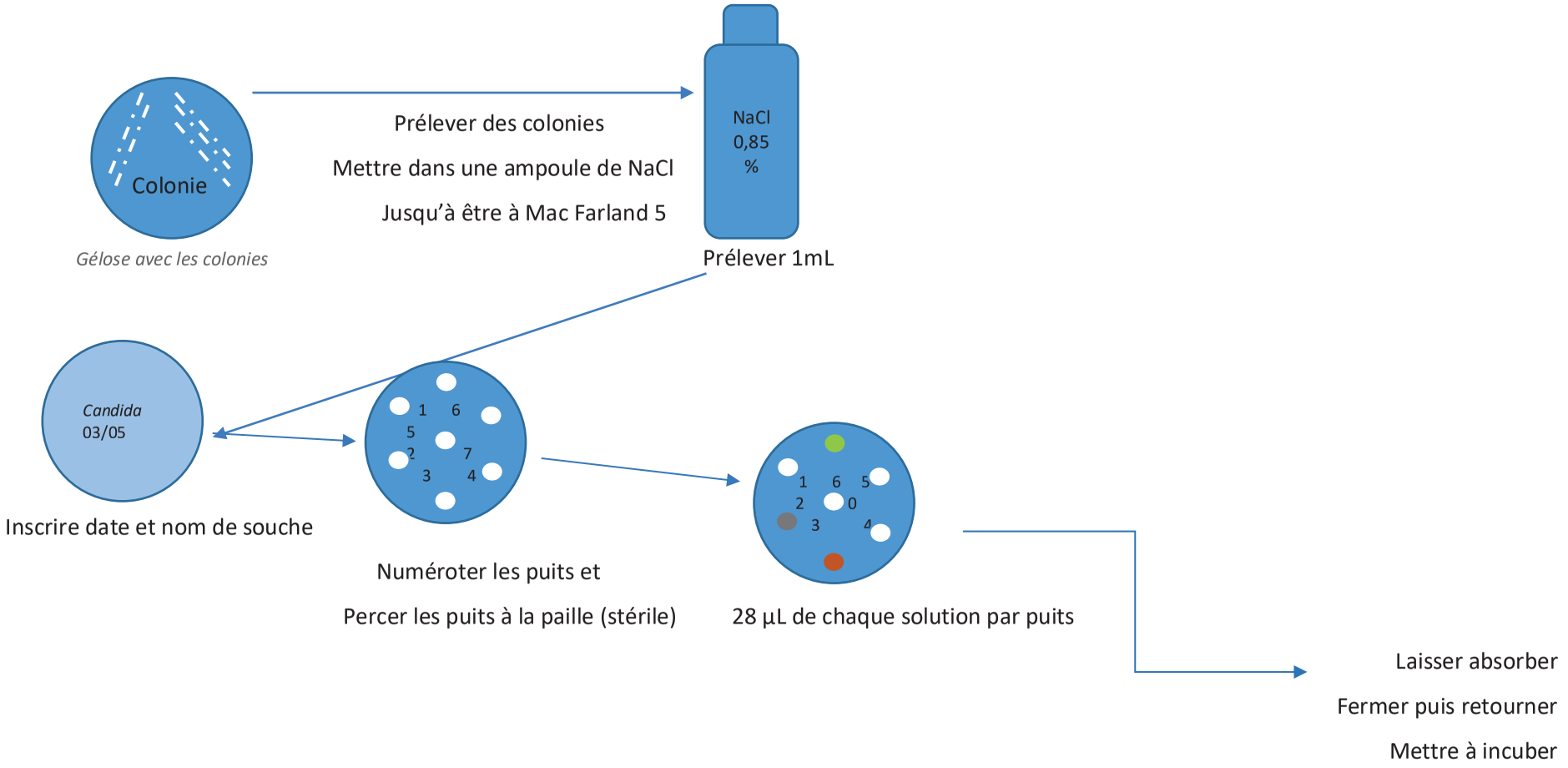


Figure 2. Schéma du test d'inhibition de croissance sur gélose



Figure 3. Lecture des résultats d'inhibition de croissance en milieu solide. Souche testée : Staphylococcus aureus. *Puits n° : 0) bain de bouche à la chlorhexidine Eludril, 1) eau, 2) sérum physiologique, 3) bicarbonate de sodium, 4) eau de Vichy Saint-Yorre, 5) marqueur interne (parabènes), 6) Coca-Cola zéro. Sur cette boîte, le rayon d'inhibition est de 4,5 mm pour le bain de bouche à la chlorhexidine (puits n°0) et de 0 mm pour tous les autres puits (pas d'inhibition de croissance)*

4.6. Test in vitro d'inhibition de croissance en milieu liquide

Pour le test d'inhibition de croissance en milieu liquide, une suspension de la souche à tester est déposée dans un tube Eppendorf en même temps que la solution de rinçage à tester. Le tube Eppendorf est incubé dans une étuve sous agitation. Après le temps d'incubation (Tableau 3), la densité optique (DO) du milieu de culture contenu dans les trois tubes Eppendorf est lue au spectrophotomètre. La moyenne et l'écart type de ces trois valeurs sont calculés. Les résultats sont ensuite exprimés en pourcentage en prenant l'eau du robinet comme référence (100% : aucun effet antimicrobien). Ainsi, plus le pourcentage est élevé, plus le produit de rinçage respecte la flore orale.

Jour J1

- Remettre en culture les souches sur milieu gélosé, à partir de 11 souches congelées au laboratoire (remise en culture 2 ou 3 jours avant pour les souches anaérobies).

Jour J2

- Préparer les inoculums : remettre en suspension des colonies isolées dans le milieu de culture liquide, jusqu'à une concentration de 10^8 CFU pour les dix inoculums bactériens et de 10^6 CFU pour l'inoculum fongique.
- Prélever 0,4 mL de l'inoculum. Compléter avec 3,6 mL de milieu de culture liquide dans un tube à hémolyse. Verser 0,4 mL du mélange milieu de culture/inoculum dans sept tubes à hémolyse puis compléter avec 1,6 mL de chacune des solutions de rinçage à tester.
- Placer pour chaque solution :
    - 1mL dans une cuve pour spectrophotomètre,
    - 1mL dans un tube Eppendorf à mettre à incuber.
- Lire les DO au spectrophotomètre à T0 : préparer les cuves témoins, avec la même concentration de produits de rinçage mais sans les microorganismes pour servir de référence au spectrophotomètre (25 µL NaCl + 225 µL du milieu + 1000 µL produit). Lire les DO à 650 nm.
- Incuber les tubes Eppendorf pendant 24 h pour les souches aérobies et 48 h pour les souches anaérobies (Figure 5).

Jour J3

- Photographier et faire une observation macroscopique de tubes Eppendorf à T1 (T24 h) pour les souches aérobies.
- Lire les DO à T1 (T24 h) pour les souches aérobies en les comparant avec les mêmes cuves témoins que pour les DO à T0.

Jour J4

- Photographier et faire une observation macroscopique de tubes Eppendorf à cT1 (T48 h) pour les souches anaérobies.
- Lire les DO à T1 (T48 h) pour les souches anaérobies en les comparant avec les mêmes cuves témoins que pour les DO à T0.

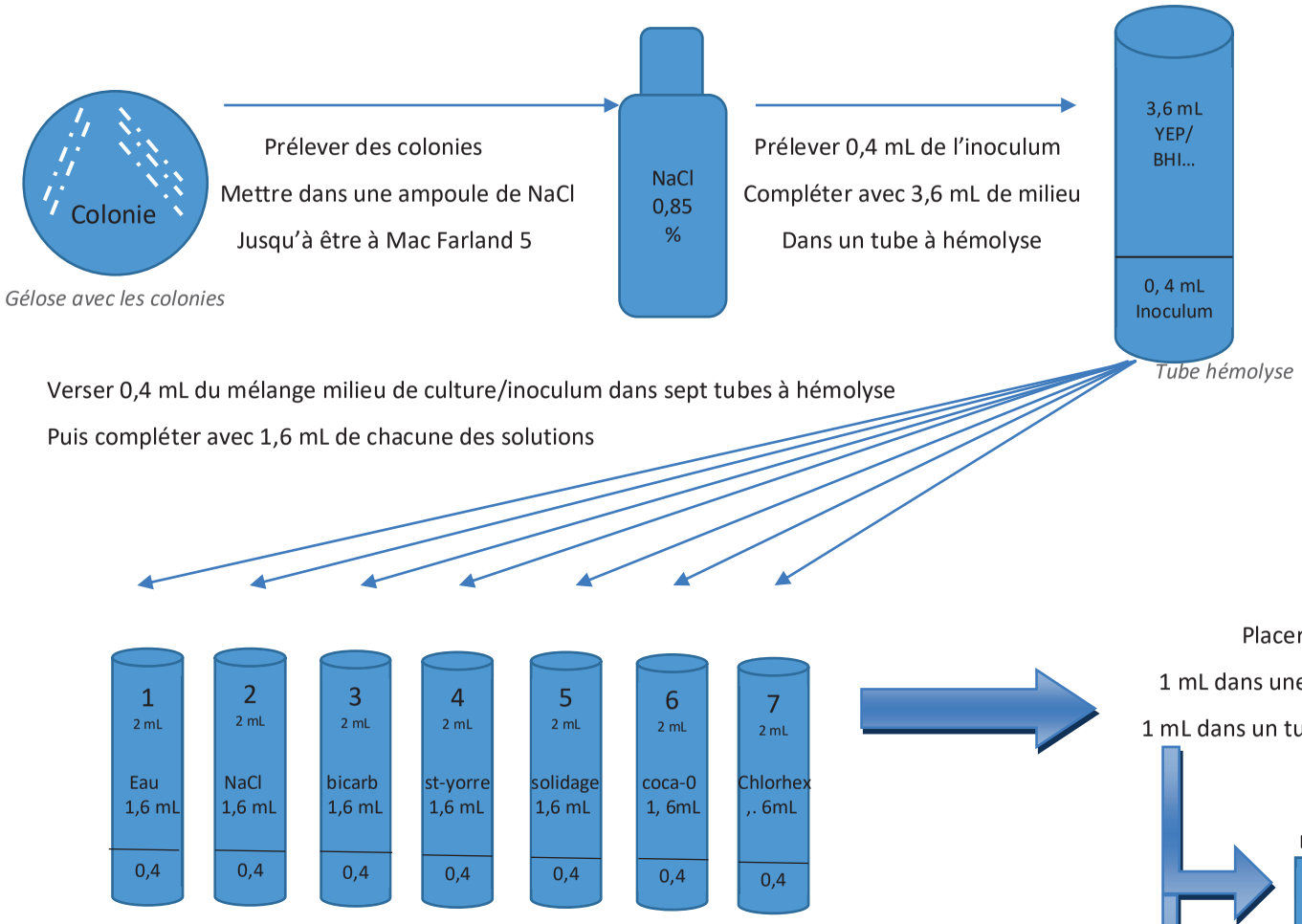


Figure 4. Schéma du test d'inhibition de croissance en milieu liquide

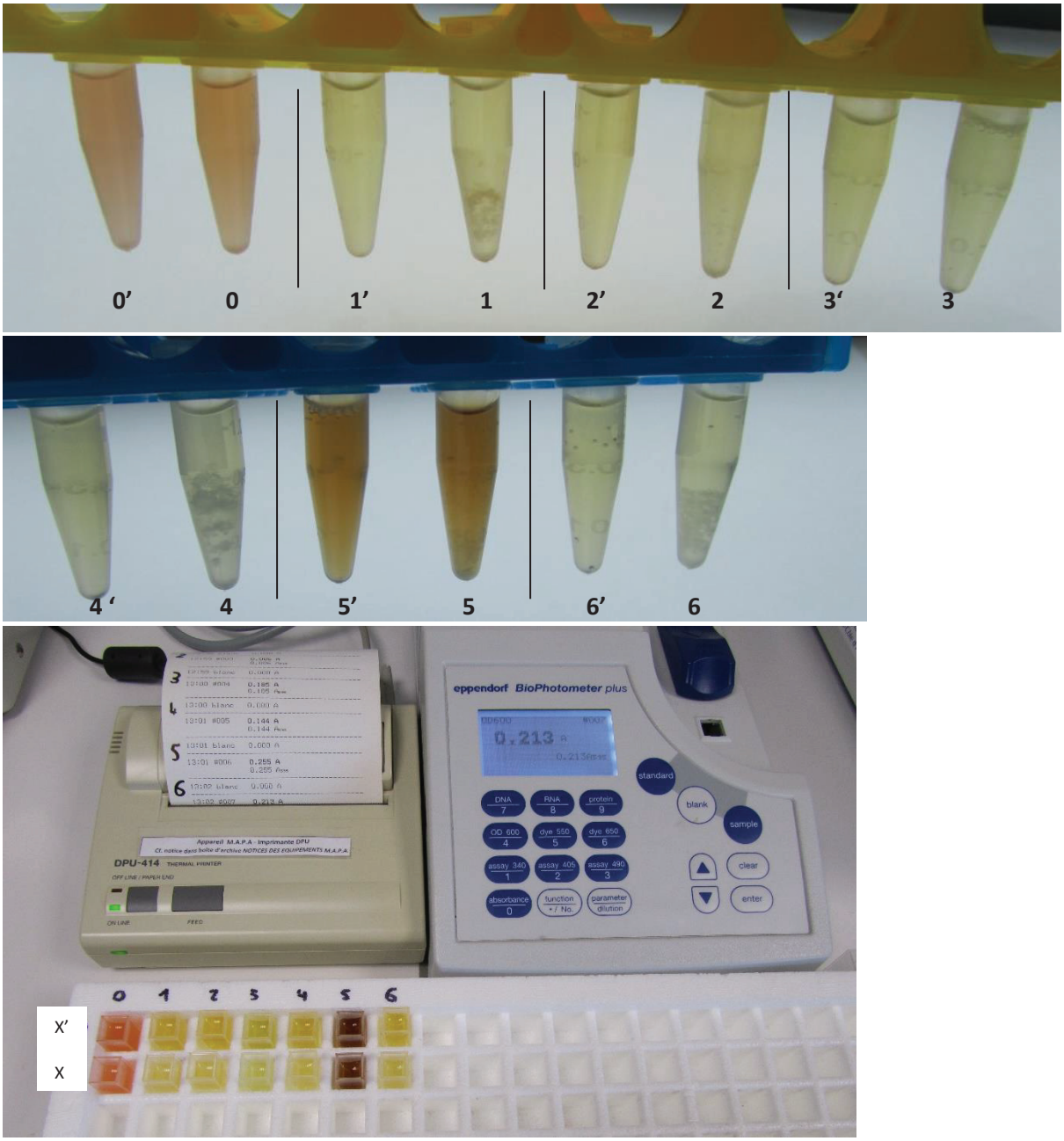


Figure 5. Lecture des résultats d'inhibition de croissance en milieu liquide. Souche testée : Candida albicans*. X’ = solution témoin sans micro-organisme et X = solution à T1, on peut déjà observer à l’œil nu dans ces tubes les dépôts dus à une croissance du microorganisme testé. Après avoir transvasé les solutions dans les cuves de densité optique on procède à la mesure du différentiel de densité optique entre X’ et X pour chaque solution.* 0) bain de bouche à la chlorhexidine Eludril, 1) sérum physiologique 2) Bicarbonate 3) marqueur interne (parabènes) 4) eau 5) Coca-Cola zéro 6) eau de Vichy Saint-Yorre

5. **RESULTATS**

5.1. Test in vitro d'inhibition de croissance en milieu solide

Les résultats du test d'inhibition de croissance en milieu solide sont détaillés en Annexe 1. Ils sont exprimés sous forme de rayon d'inhibition moyen et écart type, à partir du bord du puits et en mm.

Seules deux solutions de rinçage (Eludril et le bicarbonate de sodium) et les parabènes (marqueur interne) ont inhibé la croissance microbienne en milieu solide de tout ou partie des 11 souches testées (Tableau 4 et Figure 7).

L'eau du robinet, le sérum physiologique, l'eau de Vichy Saint-Yorre et le Coca-Cola zéro n'ont pas inhibé la croissance des 11 souches testées.

Le bain de bouche à la chlorhexidine a inhibé la croissance des 11 souches testées. Les souches les plus sensibles ont été, par ordre décroissant : *M. luteus* (3 mm)*, C. albicans* (2,3 mm)*, G. haemolysans* (1,3 mm), *S. aureus, E. coli, S. salivarius, R. mucilaginosa, F. nucleatum* et *P. gingivalis* (1 mm), et *P. aeruginosa* (0,7 mm).

Les parabènes à dose alimentaire (marqueur interne) ont inhibé la croissance de 5 souches sur les 11 souches testées. Les souches les plus sensibles ont été, par ordre décroissant : *S. aureus, M. luteus, R. mucilaginosa* et *S. mutans* (0,7 mm), *C. albicans* (0,3 mm).

Le bicarbonate de sodium a inhibé la croissance de 2 souches sur les 11 souches testées. Les deux souches sensibles ont été : *S. aureus* et *M. luteus* (0,3 mm).

Solutions de rinçage testées	**Rayon d'inhibition sur gélose (moyenne en mm sur 3 mesures et écart type)**										
	Candida albicans	***Staphylococcus aureus***	***Escherichia coli***	***Pseudomonas aeruginosa***	***Micrococcus luteus***	***Gemella haemolysans***	***Streptococcus salivarius***	***Rothia mucilaginosa***	***Streptococcus mutans***	***Fusobacterium nucleatum***	***Porphyromonas gingivalis***
Eau du robinet	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sérum physiologique	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bicarbonate de sodium	0	0,3 ± 0,6	0	0	0,3 ± 0,6	0	0	0	0	0	0
Marqueur interne (parabènes)	0,3 ± 0,3	0,7 ± 0,6	0	0	0,7 ± 0,6	0	0	0,7 ± 0,6	0,7 ± 0,6	0	0
Eau de Vichy Saint-Yorre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Coca-Cola zéro	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bain de bouche chlorhexidine (Eludril)	1,0 ± 0,0	2,3 ± 0,6	1,0 ± 0,0	0,7 ± 0,3	3,0 ± 1,0	1,3 ± 1,6	2,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0

Tableau 4. Rayon d'inhibition de 11 souches microbiennes pour les six solutions testées. Le bain de bouche à la chlorhexidine (Eludril) est un bain de bouche antiseptique, actif contre la souche de Candida albicans *(un champignon microscopique) et contre les dix souches bactériennes testées. Le marqueur interne inhibe légèrement la croissance en milieu solide de* C. albicans *et de quatre souches bactériennes :* Staphylococcus aureus, Micrococcus luteus, Rothia mucilaginosa *et* Streptococcus mutans*. Le bicarbonate de sodium inhibe légèrement la croissance en milieu solide de* S. aureus *et de* M. luteus.

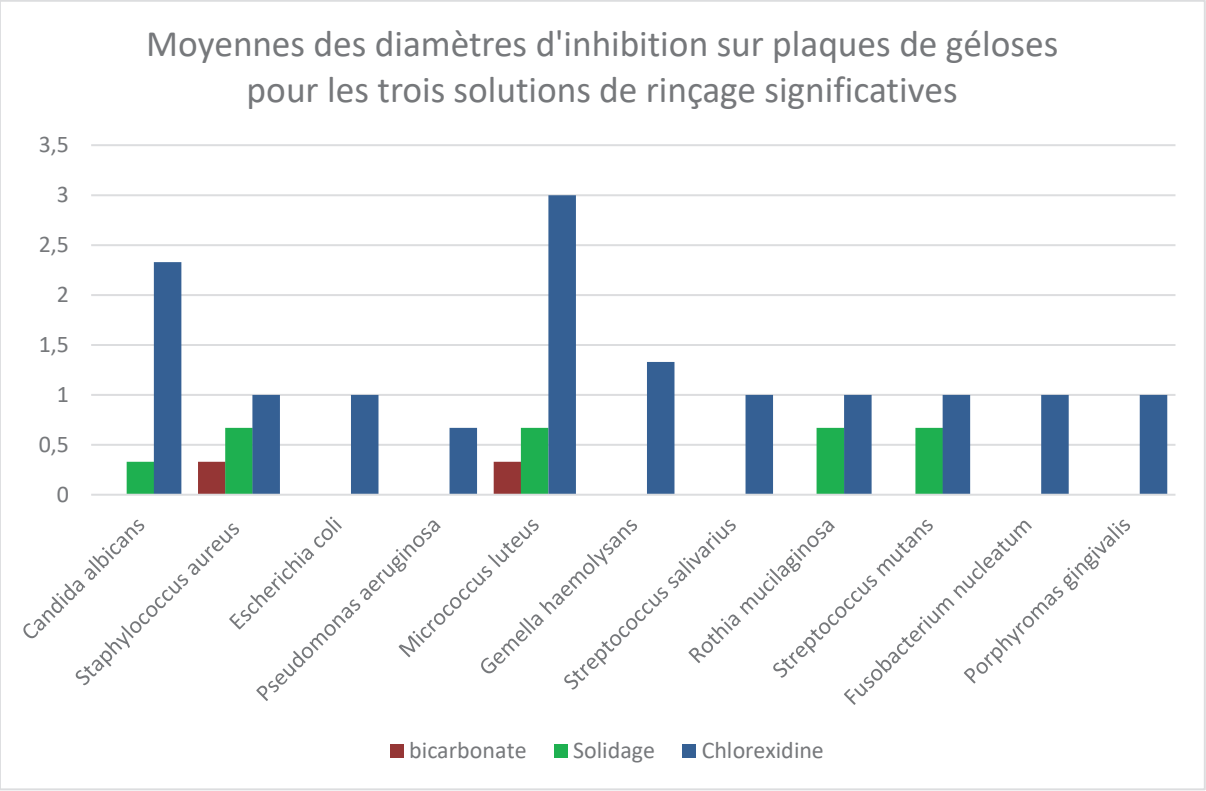


Figure 6. Moyennes des rayons d'inhibition sur gélose. Résultats mesurés pour les trois solutions de rinçage ayant la propriété d'inhiber la croissance microbienne.

5.2. Test in vitro d'inhibition de croissance en milieu liquide

Les résultats du test d'inhibition de croissance en milieu liquide sont détaillés en Annexe 2. Ils ont été mesurés en Densité optique (DO) à 650 nm et sont exprimés sous forme de DO moyenne avec l'écart type, pour les trois mesures de DO (Tableau 5). Les résultats sont ensuite exprimés en pourcentage de biomasse résiduelle en prenant l'eau du robinet comme référence (100% de la biomasse après 24 h / 48 h de culture en milieu liquide = aucun effet antimicrobien). Ainsi, plus le pourcentage de biomasse est élevé, mieux le produit de rinçage respecte la flore orale (Tableau 6).

Solutions de rinçage testées	Densité optique (DO) à 650 nm (moyenne sur 3 mesures et écart type)										
	Candida albicans	*Staphylococcus aureus*	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Micrococcus luteus*	*Gemella haemolysans*	*Streptococcus salivarius*	*Rothia mucilaginosa*	*Streptococcus mutans*	*Fusobacterium nucleatum*	*Porphyromonas gingivalis*
Eau du robinet	1,266 ± 0,095	0,902 ± 0,145	0,481 ± 0,152	1,596 ± 0,120	0,455 ± 0,030	0,836 ± 0,060	1,014 ± 0,208	1,251 ± 0,114	1,564 ± 0,070	1,635 ± 0,404	1,368 ± 0,294
Sérum physiologique	1,073 ± 0,223	0,870 ± 0,196	0,273 ± 0,095	0,523 ± 0,070	0,246 ± 0,020	0,723 ± 0,044	1,037 ± 0,210	0,848 ± 0,017	1,395 ± 0,257	1,640 ± 0,313	1,109 ± 0,316
Bicarbonate de sodium	0,974 ± 0,201	0,444 ± 0,147	0,545 ± 0,022	0,619 ± 0,122	0,437 ± 0,071	0,869 ± 0,086	0,747 ± 0,033	1,136 ± 0,040	0,222 ± 0,060	0,166 ± 0,555	0,415 ± 0,090
Marqueur interne (parabènes)	0,038 ± 0,035	0,566 ± 0,023	0,125 ± 0,009	0,503 ± 0,019	0,017 ± 0,020	0,227 ± 0,082	0,620 ± 0,199	0,060 ± 0,029	0,055 ± 0,060	0,223 ± 0,080	0,147 ± 0,164
Eau de Vichy Saint-Yorre	0,857 ± 0,103	0,470 ± 0,100	0,494 ± 0,115	0,775 ± 0,179	0,169 ± 0,059	1,191 ± 0,053	1,178 ± 0,103	1,219 ± 0,067	0,128 ± 0,085	0,372 ± 0,084	0,319 ± 0,221
Coca-Cola zéro	0,628 ± 0,104	0,819 ± 0,121	0,322 ± 0,053	0,653 ± 0,192	0,234 ± 0103	0,572 ± 0,0345	0,533 ± 0,128	0,593 ± 0,121	0,928 ± 0,379	0,935 ± 0,471	1,124 ± 0,264
Bain de bouche chlorhexidine (Eludril)	-0,002 ± 0,046	0,016 ± 0,004	0,023 ± 0,018	0,012 ± 0,009	0,041 ± 0,030	0,032 ± 0,023	0,000 ± 0,008	0,156 ± 0,037	0,022 ± 0,021	0,012 ± 0,054	-0,017 ± 0,027

Tableau 5. Mesure de la croissance microbienne dans les solutions de rinçage testées. Les résultats sont mesurés sous forme de Densité Optique (DO) à 650 nm et exprimés sous forme de DO moyenne avec l'écart type, pour les trois mesures de DO. Pour un microorganisme donné, plus les valeurs de DO sont élevées et moins la solution de rinçage inhibe la croissance microbienne. C'est l'objectif recherché pour une solution de rinçage destinée à l'hygiène quotidienne de la bouche : idéalement, la solution de rinçage doit limiter la pullulation microbienne sans déséquilibrer l'équilibre entre les espèces microbiennes du biofilm oral. Autrement dit, la solution de rinçage doit réduire quantitativement le biofilm oral sans altérer qualitativement sa composition.

Solutions de rinçage testées	**% de biomasse après 24 h / 48 h de culture en milieu liquide**										
	Candida albicans	***Staphylococcus aureus***	***Escherichia coli***	***Pseudomonas aeruginosa***	***Micrococcus luteus***	***Gemella haemolysans***	***Streptococcus salivarius***	***Rothia mucilaginosa***	***Streptococcus mutans***	***Fusobacterium nucleatum***	***Porphyromonas gingivalis***
Eau du robinet	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Sérum physiologique	84,8%	96,5%	56,8%	32,8%	54,1%	86,5%	102,3%	67,8%	89,2%	100,3%	81,1%
Bicarbonate de sodium	76,9%	49,2%	113,3%	38,8%	96,0%	103,9%	73,7%	90,8%	14,2%	10,2%	30,3%
Parabènes	3,0%	62,7%	26,0%	31,5%	3,7%	27,2%	61,1%	4,8%	3,5%	13,6%	10,7%
Eau de Vichy Saint-Yorre	67,7%	52,1%	102,7%	48,6%	37,1%	142,5%	116,2%	97,4%	8,2%	22,8%	23,3%
Coca-Cola zéro	49,6%	90,8%	66,9%	40,9%	51,4%	68,4%	52,6%	47,4%	59,3%	57,2%	82,2%
Bain de bouche chlorhexidine (Eludril)	-0,2%	1,8%	4,2%	0,8%	9,0%	3,8%	0,0%	12,5%	1,4%	0,7%	-1,2%

Tableau 6. Impact des solutions de rinçage sur 11 souches microbiennes testées . Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage de biomasse, en prenant pour référence l'eau du robinet (100% : biomasse obtenue après culture en milieu liquide, sans inhibition).

5.2.1. Analyse des résultats, par solution de rinçage (Tableau 6)

Hypothèse :

Pour interpréter les résultats du Tableau 6, nous posons également l'hypothèse que si la biomasse après 24 h / 48 h de culture en milieu liquide est :

≥ 90 % : la solution de rinçage ne détruit pas la biomasse (effet similaire à l'eau du robinet sur la souche testée).

≤ 60 % : la solution de rinçage risque de déséquilibrer le biofilm oral (effet antimicrobien sur la souche testée).

Biomasse résiduelle après 24 h / 48 h de culture en milieu liquide:

Sérum physiologique :

≥ 90 % : *S. salivarius* (102,3 %), *F. nucleatum* (100,3 %) et S*. aureus* (96,5 %).

≤ 60 % : *E. coli* (56,8 %), *M. luteus* (54,0 %) et *P. aeruginosa* (31,8 %).

Bicarbonate de sodium :

≥ 90 % : *E. coli* (113,3 %), *G. haemolysans* (103,9 %) et *R. mucilaginosa* (90,8 %).

≤ 60 % : *S. aureus* (49,2 %), *P. aeruginosa* (38,8 %), *P. gingivalis* (30,3 %), *S. mutans* (14,2 %) et *F. nucleatum* (10,2 %).

Parabènes (marqueur interne) :

≥ 90 % : aucune souche.

≤ 60 % : *P. aeruginosa* (31,5 %), *G. haemolysans* (27,2 %), *E. coli* (26,0 %), *F. nucleatum* (13,6 %), *P. gingivalis* (10,7 %), *R. mucilaginosa* (4,8 %), *M. luteus* (3,7 %), *S. mutans* (3,5 %) et *C. albicans* (3,0 %).

Eau de Vichy Saint-Yorre :

≥ 90 % : *G. haemolysans* (142,5 %), *S. salivarius* (116,2 %), *E. coli* (102,7 %) et *R. mucilaginosa* (97,4 %).

≤ 60 % : *S. aureus* (52,1 %), *P. aeruginosa* (48,6 %), *M. luteus* (37,1 %), *P. gingivalis* (23,3 %), *F. nucleatum* (22,8 %) et *S. mutans* (8,2 %).

Coca-Cola zéro :

≥ 90 % : *S. aureus* (90,8 %).

≤ 60 % : *S. mutans* (59,3 %), *F. nucleatum* (57,2 %), *S. salivarius* (52,6 %), *M. luteus* (51,4 %), *C. albicans* (49,6 %), *R. mucilaginosa* (47,4 %) et *P. aeruginosa* (40,9 %).

Chlorhexidine (Eludril) :

≥ 90 % : aucune souche.

≤ 60 % : inhibe *C. albicans* et les dix souches bactériennes testées (-1,2 % à 4,2 %); les deux espèces les moins sensibles ont été *M. luteus* (9,0 %) et *R. mucilaginosa* (12,5 %).

Ces résultats sont présentés sous forme de graphes dans la Figure 8.

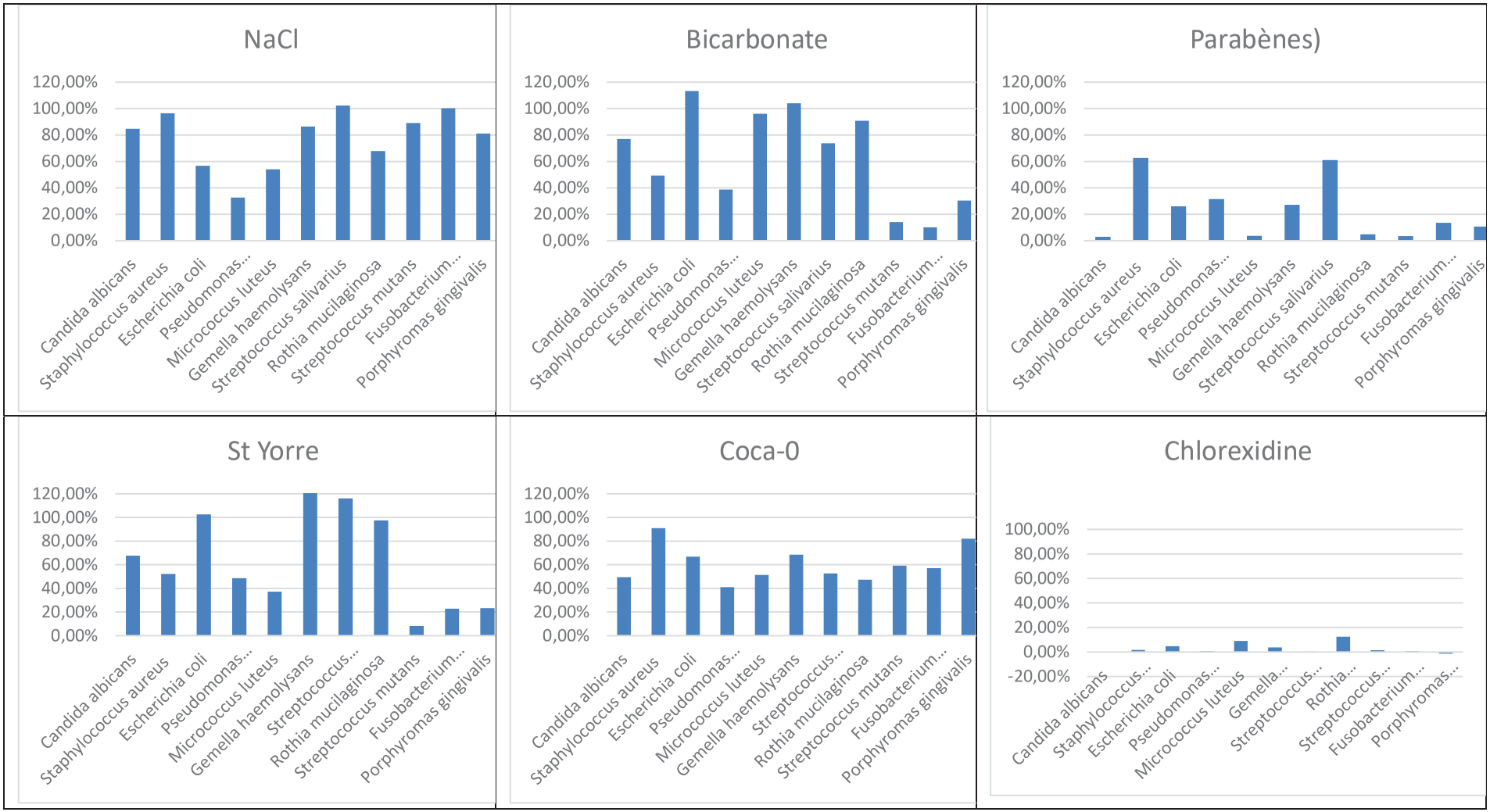


Figure 7. Impact des six solutions de rinçage testées sur 11 espèces microbiennes. Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage de biomasse résiduelle après 24 h / 48 h d'incubation en présence de la solution de rinçage testée, en prenant pour référence l'eau du robinet (100 % : croissance normale en milieu liquide, 100 % de biomasse formée, pas d'inhibition).

Dans ce test en milieu liquide, la figure 8 montre que chaque solution de rinçage a un profil inhibiteur spécifique, variable pour chaque souche testée. Le sérum physiologique a un effet légèrement inhibiteur, un peu plus marqué sur les deux espèces mobiles (*E. coli* et *P. aeruginosa*). Le bicarbonate de sodium et l'eau de Vichy Saint-Yorre qui est riche en bicarbonate, ainsi que les parabènes à une dose alimentaire très inférieure aux valeurs maximales autorisées dans l'alimentation (marqueur interne), inhibent les bactéries anaérobies strictes de la flore orale (*S. mutans, F. nucleatum* et *P. gingivalis*).

Le Coca-Cola zéro a aussi un effet antimicrobien en milieu liquide, plus régulier sur les différentes souches que l'eau de Vichy Saint-Yorre.

Enfin, les parabènes à dose alimentaire et surtout la chlorhexidine ont un effet inhibiteur marqué sur les 11 souches testées.

5.2.2. Analyse des résultats, par souche microbienne testée (Tableau 7)

Hypothèse :

Pour interpréter les résultats du Tableau 7, nous posons également l'hypothèse que si la biomasse après 24 h / 48 h de culture en milieu liquide est :

≥ 90 % : la solution de rinçage ne détruit pas la biomasse (effet similaire à l'eau du robinet sur la souche testée).

≤ 60 % : la solution de rinçage risque de déséquilibrer le biofilm oral (effet antimicrobien sur la souche testée).

Biomasse résiduelle après 24 h / 48 h de culture en milieu liquide:

Candida albicans :

≥ 90 % : eau du robinet (100 %).

≤ 60 % : Coca-Cola zéro (49,6 %), parabènes (3,0 %) et chlorhexidine (-0,2 %).

Staphylococcus aureus

≥ 90 % : eau du robinet (100 %), sérum physiologique (96,5 %) et Coca-Cola zéro (90,8 %).

≤ 60 % : eau de Vichy (62,7 %), bicarbonate (49,2 %) et chlorhexidine (1,8 %).

Escherichia coli :

≥ 90 % : bicarbonate (113,3 %), eau de Vichy (102,7 %) et eau du robinet (100 %).

≤ 60 % : sérum physiologique (56,8 %), parabènes (26,0 %) et chlorhexidine (4,2 %).

Pseudomonas aeruginosa :

≥ 90 % : eau du robinet (100 %).
≤ 60 % : eau de Vichy (48,6 %), Coca-Cola zéro (40,9 %), bicarbonate (38,8 %), sérum physiologique (32,8 %), parabènes (31,5 %) et chlorhexidine (0,8 %).

Micrococcus luteus :

≥ 90 % : eau du robinet (100 %) et bicarbonate (96 %).
≤ 60 % : sérum physiologique (54,1 %), Coca-Cola zéro (51,4 %), eau de Vichy (37,1 %), chlorhexidine (9,0 %) et parabènes (3,7 %).

Gemella haemolysans :

≥ 90 % : eau de Vichy (142,5 %), bicarbonate (103,9 %) et eau du robinet (100 %).
≤ 60 % : parabènes (27,2 %) et chlorhexidine (3,8 %).

Streptococcus salivarius :

≥ 90 % : eau de Vichy (116,2 %), sérum physiologique (102, 3%) et eau du robinet (100 %).
≤ 60 % : Coca-Cola zéro (52,6 %) et chlorhexidine (0 %).

Rothia mucilaginosa :

≥ 90 % : eau du robinet (100 %), eau de Vichy (97,4 %), bicarbonate (90,8 %).
≤ 60 % : Coca-Cola zéro (47,4 %), chlorhexidine (12,5 %) et parabènes (4,8 %).

Streptococcus mutans

≥ 90 % : eau du robinet (100 %).
≤ 60 % : Coca-Cola zéro (59,3 %), bicarbonate (14,2 %), eau de Vichy (8,2 %), parabènes (3,5 %) et chlorhexidine (1,4 %).

Fusobacterium nucleatum

≥ 90 % : sérum physiologique (100,3 %) et eau du robinet (100 %).
≤ 60 % : coca-Cola zéro (57,2 %), eau de Vichy (22,8 %), parabènes (13,6 %), bicarbonate (10,2 %) et chlorhexidine (0,7 %).

Porphyromonas gingivalis

≥ 90 % : eau du robinet (100 %).
≤ 60 % : bicarbonate (30,3 %), eau de Vichy (23,3 %), parabènes (10,7 %) et chlorhexidine (-1,2 %).

Candida albicans	*Staphylococcus aureus*	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Micrococcus luteus*	*Gemella haemolysans*	*Streptococcus salivarius*	*Rothia mucilaginosa*	*Streptococcus mutans*	*Fusobacterium nucleatum*	*Porphyromonas gingivalis*
Eau du robinet 100%	Eau du robinet 100%	Bicarbonate 113,3%	Eau du robinet 100%	Eau du robinet 100%	Eau de Vichy 142,5%	Eau de Vichy 116,2%	Eau du robinet 100%	Eau du robinet 100%	Sérum physiologique 100,3%	Eau du robinet 100%
Sérum physiologique 84,8%	Sérum physiologique 96,5%	Eau de Vichy 102,7%	Eau de Vichy 48,6%	Bicarbonate 96%	Bicarbonate 103,9%	Sérum physiologique 102,3%	Eau de Vichy 97,4%	Sérum physiologique 89,2%	Eau du robinet 100%	Coca-Cola zéro 82,2%
Bicarbonate 76,9%	Coca-Cola zéro 90,8%	Eau du robinet 100%	Coca-Cola zéro 40,9%	Sérum physiologique 54,1%	Eau du robinet 100%	Eau du robinet 100%	Bicarbonate 90,8%	Coca-Cola zéro 59,3%	Coca-Cola zéro 57,2%	Sérum physiologique 81,1%
Eau de Vichy 67,7%	Parabènes 62,7%	Coca-Cola zéro 66,9%	Bicarbonate 38,8%	Coca-Cola zéro 51,4%	Sérum physiologique 86,5%	Bicarbonate 73,7%	Sérum physiologique 67,8%	Bicarbonate 14,2%	Eau de Vichy 22,8%	Bicarbonate 30,3%
Coca-Cola zéro 49,6%	Eau de Vichy 52,1%	Sérum physiologique 56,8%	Sérum physiologique 32,8%	Eau de Vichy 37,1%	Coca-Cola zéro 68,4%	Parabènes 61,1%	Coca-Cola zéro 47,4%	Eau de Vichy 8,2%	Parabènes 13,6%	Eau de Vichy 23,3%
Parabènes 3,0%	Bicarbonate 49,2%	Parabènes 26,0%	Parabènes 31,5%	Chlorhexidine (Eludril) 9,0%	Parabènes 27,2%	Coca-Cola zéro 52,6%	Chlorhexidine (Eludril) 12,5%	Parabènes 3,5%	Bicarbonate 10,2%	Parabènes 10,7%
Chlorhexidine (Eludril) -0,2%	Chlorhexidine (Eludril) 1,8%	Chlorhexidine (Eludril) 4,2%	Chlorhexidine (Eludril) 0,8%	Parabènes 3,7%	Chlorhexidine (Eludril) 3,8%	Chlorhexidine (Eludril) 0,0%	Parabènes 4,8%	Chlorhexidine (Eludril) 1,4%	Chlorhexidine (Eludril) 0,7%	Chlorhexidine (Eludril) -1,2%

Tableau 7. Analyse de l'impact de six solutions de rinçage sur 11 souches microbiennes; étude en milieu liquide.

6. DISCUSSION

6.1. Protocole d'étude et souches testées

6.1.1. Enquête préliminaire

L'enquête pour connaître les produits les plus utilisés a porté sur 62 personnes et les produits cités sont les produits recommandés par les comités d'experts (18-20). Cependant, une enquête complémentaire dans un plus grand nombre d'EHPAD permettrait d'avoir des résultats plus représentatifs. A l'issue de cette nouvelle enquête, il serait possible de faire le point avec les équipes soignantes sur les protocoles d'hygiène orale dans l'EHPAD pour identifier d'éventuelles pratiques iatrogènes, comme par exemple l'usage inapproprié des bains de bouche antiseptiques à la chlorhexidine.

6.1.2. Protocoles de culture en milieu solide et en milieu liquide

Cette étude avait pour objectif de rechercher les propriétés antimicrobiennes des six solutions de rinçage les plus utilisées par les infirmiers et les aides-soignants pour les soins d'hygiène buccale en EHPAD. Nous avons aussi testé un marqueur interne développé au laboratoire, qui contient des conservateurs (parabènes) à dose alimentaire. Pour ces solutions nous avons réalisé un test d'inhibition de croissance en milieu solide et en milieu liquide.

Le test d'inhibition de croissance en milieu solide est une méthode utile pour faire un premier repérage avec des antiseptiques conventionnels. Cette première étude confirme qu'il ne faut pas utiliser les bains de bouche à la chlorhexidine dans les soins de bouche courant, à cause de leur effet inhibiteur puissant sur les microorganismes de l'écosystème oral. Cette méthode nous a aussi permis d'observer que les bactéries ayant une morphologie de bacilles Gram - semblaient moins sensibles à l'action des parabènes que les cocci Gram +. La flore orale endogène compatible avec la santé bucco-dentaire est dominée par des cocci Gram +. Il serait utile de réaliser des études complémentaires avec des produits alimentaires industriels, pour analyser l'impact des parabènes alimentaires sur l'écosystème oral. Ces produits sont aussi autorisés comme conservateurs dans les cosmétiques tels que les dentifrices et les solutions de rinçage antiplaque (22). Leur utilisation au long cours est peut-être elle aussi néfaste, surtout chez des personnes âgées et des malades polymédiqués, dont l'écosystème oral est exposé à un grand nombre de principes acitfs. Enfin, ce test sur milieu solide a montré que le bicarbonate de sodium pourrait déséquilibrer l'écosystème oral en inhibant la croissance de *M. luteus*, qui fait partie de la flore orale compatible avec la santé bucco-dentaire.

Le test d'inhibition de croissance en milieu liquide a été beaucoup sensible que le test en milieu solide. Il a permis de mettre en évidence des propriétés antimicrobiennes pour le sérum physiologique, l'eau de Vichy et le Coca-Cola zéro. Un autre résultat important de cette étude est le profil d'inhibition spécifique de ces trois solutions, qui ne contiennent pas de principe actif antiseptique, contre les 11 souches testées.

Il faudrait compléter ce travail avec des études sur microplaques de biofilms en formation et de biofilms préformés, ainsi que de biofilms mixtes *Candida*-bactéries qui sont plus représentatifs de la flore orale que les cultures mono-espèces (4). Des vidéos de biofilm prises au microscope permettraient d'observer l'effet mécanique détersif présumé du bicarbonate, de l'eau de Vichy et du Coca-Cola zéro, par la formation de bulles.

6.1.3. Souches microbiennes testées

Pour réaliser cette étude, nous avons utilisé une souche fongique (*C. albicans*) et dix souches bactériennes. Comme il s'agissait d'un travail sur les propriétés antiseptiques des solutions de rinçage, l'utilisation des quatre souches AFNOR était justifiée bien que *P. aeruginosa* ne fasse pas partie de la flore orale (1, 4). *C. albicans* peut être isolé dans tous les types de flore orale, y compris la flore compatible avec l'état de santé bucco-dentaire sous forme de levures. *S. aureus* ne fait pas partie de la flore endogène, mais il est souvent isolé dans les abcès dentaires, qui sont toujours polymicrobiens. *E. coli* ne fait pas partie de la flore endogène, mais il est souvent isolé dans la bouche des malades hospitalisés en réanimation et en soins palliatifs. D'autre part, *C. albicans, S. aureus* et *E. coli* sont souvent isolés dans le biofilm oral critique des personnes âgées dépendantes, ce qui justifie aussi leur utilisation dans cette étude sur les solutions de rinçage utilisées en EHPAD.

Parmi les résultats marquant des tests en milieu liquide :

- *P. aeruginosa* a été inhibé par toutes les solutions de rinçage testées : il n'y a pas d'explication à ce résultat.
- *M. luteus* a été inhibé par toutes les solutions de rinçage testées, sauf le bicarbonate (96% de biofilm résiduel) : il n'y a pas d'explication à ce résultat.
- *G. haemolysans* n'a été inhibé que par les antiseptiques (parabènes 27,2% et chlorhexidine 3,8%). Cette espèce qui fait partie des flores endogènes compatibles avec la santé bucco-dentaire serait donc peu sensible à l'action chimique des autres solutions de rinçage.

6.1.4. Interprétation des résultats

Cette étude était une étude observationnelle et les résultats numériques ont été présentés sous forme descriptive. Nous n'avons pas cherché à comparer d'un point de vue statistique l'effet des solutions testées. Comme les résultats obtenus montrent que chaque solution a un profil spécifique d'action sur la croissance des 11 souches microbiennes sélectionnées, il faudrait refaire une plus grande série avec trois tests en triple (triplicatas*)* pour faire une analyse statistique des données. Le

mode d'action au niveau moléculaire du sérum physiologique, du bicarbonate, de l'eau de Vichy et du Coca-Cola zéro reste à élucider, d'autant plus que ces solutions ne risquent pas d'induire de résistance dans la flore orale (11).

Pour interpréter les résultats des cultures en milieu liquide, nous avons posé l'hypothèse suivante. Si la biomasse après 24 h / 48 h de culture en milieu liquide est :

$\geq$ 90% : la solution de rinçage ne détruit pas la biomasse (effet similaire à l'eau du robinet sur la souche testée).

$\leq$ 60% : la solution de rinçage risque de déséquilibrer le biofilm oral (effet antimicrobien sur la souche testée).

Ce choix est arbitraire, car idéalement, la solution de rinçage doit limiter la pullulation microbienne sans modifier l'équilibre entre les espèces microbiennes du biofilm oral. Autrement dit, la solution de rinçage doit réduire quantitativement le biofilm oral sans altérer qualitativement sa composition. Des études complémentaires sur des biofilms en microplaques permettraient de valider ou de corriger ce choix arbitraire.

6.2. Solutions de rinçage testées

6.2.1. Eau du robinet

L'utilisation d'eau du robinet pour faire les rinçages de bouche a été citée par environ 11 % des infirmières et aides-soignantes interrogées. L'eau du robinet n'est pas stérile, mais cela n'a pas faussé les résultats dans les conditions expérimentales testées. En ce sens, l'eau du robinet peut être utilisée comme produit de rinçage car elle ne présente pas de risque de contamination.

L'eau du robinet est utile, pour un nettoyage mécanique avec une compresse ou un bâtonnet.

6.2.2. Sérum physiologique

Le sérum physiologique a été cité par environ 19 % des infirmières et aides-soignantes. Par commodité, nous avons utilisé un soluté contenant 0,85 % de NaCl à la place de sérum physiologique *stricto sensu* contenant 0,9 % de NaCl. Cette différence de concentration de NaCl de 0,05 % n'a pas eu d'impact sur les résultats observés (protocole Laboratoire MICORALIS EA 7354).

D'après nos résultats, le sérum physiologique qui est légèrement salé a un certain effet inhibiteur contre la flore orale, bien que certains auteurs le considèrent comme un placébo (24). De façon inattendue, le sérum physiologique a été relativement inhibiteur contre *E. coli* (56,8), *M. luteus* (54,0%) *et P. aeruginosa* (31,8%). Nous n'avons pas d'explication, mais *E. coli* et *P. aeruginosa* sont les seules espèces mobiles testées dans cette étude. Il faudrait faire des tests complémentaires sur

des espèces mobiles de la flore orale, car certaines espèces parodontogènes cultivables sont mobiles, comme par exemple les espèces du genre *Treponema* et certains *Bacteroides*.

Cette étude montre que le sérum physiologique peut être utile comme solution de rinçage de bouche car il peut contribuer à limiter la pullulation microbienne.

6.2.3. Bicarbonate de sodium

Le bicarbonate de sodium a été cité par environ 23% des infirmières et aides-soignantes. Ce travail confirme que le bicarbonate possède une légère action antiseptique et qu'il est beaucoup moins agressif que la chlorhexidine. Son action est très variable selon les souches testées, allant d'une absence inhibition (environ 100% de biomasse résiduelle pour *S. aureus, E. coli, M. luteus, G. haemolysans et R. mucilaginosa*) à une inhibition presque totale pour *S. mutans* et *F. nucleatum* (14,2 à 10,2% de biomasse résiduelle).

Cette étude montre que le bicarbonate de sodium est actif contre les trois souches anaérobies strictes testées (*P. gingivalis, S. mutans* et *F. nucleatum*) et possède un effet inhibiteur modéré contre *C. albicans* (76,9% de biomasse résiduelle). En effet, il est souvent présenté comme ayant un effet anti-*Candida* et dans notre étude il réduit la biomasse de *Candida* d'environ un quart. Ce travail doit être complété par des études in vitro centrées sur *C. albicans,* avec des biofilms de *Candida* en formation et des biofilms préformés, et sur des biofilms mixtes *Candida*-bactéries plus représentatifs de la flore orale (11). Il faudrait notamment recherche l'impact du bicarbonate de sodium sur la conversion levure-filament de *C. albicans,* car la forme filamenteuse est la forme virulente et toxique de *C. albicans* (21).

Une revue des traitement proposés pour prévenir les mucites chez les malades atteints de cancer n'a pas permis de conclure à la supériorité d'une solution de rinçage pour les soins d'hygiène, à l'exception de la chlorhexidine qu'il ne faut pas prescrire dans cette indication (26).

Nos résultats in vitro confirment cette analyse : le bicarbonate de sodium peut être utilisé pour des soins d'hygiène orale au quotidien, sans risquer de déséquilibrer la flore orale de façon importante ou ciblée.

6.2.4. Parabènes à doses alimentaires

Nous avons aussi testé dans cette étude une solution contenant des parabènes à faible dose. La solution testée contenait 0,0075% de parahydroxybenzoate de méthyle et 0,0075% de parahydroxybenzoate de propyle, alors que les doses maximales autorisées dans l'alimentation sont de 0,18% et 0,06%, respectivement pour ces deux molécules (22). A l'exception *de S. aureus* et de *S. salivarius*, qui avaient respectivement 62,7% et 61,1% de biomasse résiduelle, toutes les souches

bactériennes testées et la souche fongique de *C. albicans* avaient une biomasse résiduelle < 60% quand elles étaient cultivées en présence de parabènes à faible dose.

Cette étude montre qu'il n'est pas exclus que les parabènes aux doses alimentaires puissent déséquilibrer la flore orale. Le risque de déséquilibrer aussi l'écosystème digestif ne peut être écarté, parce que les parabènes peuvent être en contact prolongé dans l'intestin avec la flore digestive.

6.2.5. Eau de Vichy Saint-Yorre

L'utilisation d'une eau pétillante a été citée par environ 5 % des infirmières et aides-soignantes interrogées. Pour cette étude, nous avons choisi de l'eau de Vichy Saint-Yorre, qui est une eau pétillante à forte teneur en bicarbonates. Les cultures en milieu liquide montrent que l'eau de l'eau de Vichy possède un effet inhibiteur sur *S. aureus* et *P. aeruginosa* (52,1 % et 48,6 % de biomasse résiduelle), sans explication à ce résultat. L'eau de Vichy a aussi un pouvoir inhibiteur sur les trois souches de bactéries anaérobies strictes testées *P. gingivalis* (23,3 %), *F. nucleatum* (22,8 %) et *S. mutans* (8,2 %). L'effet est plus marqué sur *S. mutans.*

Ces propriétés des eaux pétillantes pourraient être utiles pour l'hygiène quotidienne des personnes dépendantes. En effet, parmi les bactéries cultivables, les bactéries anaérobies strictes sont caractéristiques des flores parodontogènes et *S. mutans* est une espèce cariogène majeure (1).

6.2.6. Coca-Cola zéro

L'utilisation d'un soda pétillant sans sucre a été citée par environ 6% des infirmières et aides-soignantes interrogées. A l'exception de *S. aureus* dont la biomasse résiduelle est de 90,8 %, le Coca-Cola zéro a inhibé la croissance microbienne de *C. albicans* (49,6 %) et de six souches bactériennes sur les dix souches testées : *S. mutans* (59,3 %), *F. nucleatum* (57,2 %), *S. salivarius* (52,6 %), *M. luteus* (51,4 %), *R. mucilaginosa* (47,4 %) et *P. aeruginosa* (40,9 %). Cet effet antimicrobien in vitro est probablement lié à son pH très acide de 2,9. Le Coca-Cola a peut-être d'autres propriétés antimicrobiennes intrinsèques, qui sont utilisée de façon empirique pour lutter contre la pullulation microbienne dans les épisodes de diarrhée. Les propriétés électrolytiques du Coca-Cola peuvent aussi intervenir pour réguler la fuite liquidienne. Cependant, le Coca-Cola ne remplace pas les solutés d'électrolytes dans la prise en charge médicale des diarrhées (27).

D'après cette étude in vitro, les sodas pétillants pourraient être utiles pour lutter contre la pullulation microbienne dans l'écosystème oral, surtout si leur goût plaît aux malades. Mais l'acidité du Coca-Cola en utilisation pluriquotidienne expose à un risque de caries dentaires, surtout chez les malades polymédiqués qui ont souvent une sécheresse buccale. Son utilisation devrait être réservée aux patients totalement édentés et aux patients en fin de vie, quand le risque cariogène ne pose plus de problème.

6.2.7. Bain de bouche à la chlorhexidine (Eludril)

Le bain de bouche à la chlorhexidine (Eludril) a été cité par environ 34 % des infirmières et aides-soignantes interrogées. Contrairement aux recommandations d'experts, il est utilisé une fois sur trois (35% des réponses) comme produit d'hygiène orale quotidienne au long cours, dans les deux établissements où nous avons enquêté. La monographie du Vidal précise pourtant que ce bain de bouche antiseptique est indiqué en « *traitement local d'appoint des affections de la cavité buccale et lors de soins post-opératoires en odonto-stomatologie* », et que « *la durée du traitement peut être de 2 semaines dans les inflammations gingivales et les parodontites. La durée de traitement ne pourra être prolongée au-delà de 2 semaines que sur avis médical* » (23). Une méta-analyse publiée en 2016 confirme l'utilité des bains de bouche à la chlorhexidine pour décontaminer la bouche, notamment en soins palliatifs pour diminuer le risque de pneumonie chez les malades sous assistance respiratoire (24). Son usage au long cours pour réaliser des soins d'hygiène orale au quotidien doit être proscrit.

Ce travail confirme que le bain de bouche à la chlorhexidine possède un effet antiseptique qui inhibe totalement ou presque la croissance de tous les germes testés en milieu liquide. Il est actif contre les quatre souches AFNOR de référence (*C. albicans, S. aureus, E. coli et P. aeruginosa)*, ainsi que contre les sept souches représentatives de la flore orale que nous avons testées.

D'autre part, des résistances acquises à la chlorhexidine ont été décrites chez des entérobactéries (*Klebsiella pneumoniae)*, ainsi que chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter sp.* Ces bactéries posent actuellement de gros problèmes de résistance en milieu hospitalier (25). L'usage inapproprié de bains de bouche à la chlorhexidine en EHPAD pourrait favoriser l'émergence et la diffusion de bactéries porteuses de résistance acquise à la chlorhexidine, avec un risque de résistance acquise associée, plasmidique ou autre, à des antibiotiques.

Au total, cette étude confirme que les bains de bouche à la chlorhexidine ne doivent pas être utilisés pour l'hygiène quotidienne des personnes âgées dépendantes, chez lesquelles il est impossible de nettoyer la bouche avec une brosse à dents et du dentifrice.

7. **CONCLUSION**

Les infirmiers et les aides-soignants utilisent des solutions de rinçage pour les soins d'hygiène buccale des personnes âgées dépendantes, lorsque le brossage des dents avec une brosse à dents et du dentifrice est impossible.

D'après 64 des infirmières et aides-soignantes interrogées, les solutions les plus utilisées sont :
- les bains de bouche antiseptiques à base de chlorhexidine (cités par 34 % des soignants),
- le bicarbonate de sodium, qui est souvent considéré comme ayant une action antiseptique mais moins agressif (23 %),
- le sérum physiologique, qui est utilisé car il est stérile (19 %),
- l'eau du robinet, qui est utilisée par facilité (11 %),
- les sodas (6 %) et les eaux pétillantes (5 %), qui auraient un effet bénéfique grâce aux bulles (effet mécanique détersif).

Cette étude in vitro avait pour objectif de rechercher les propriétés antimicrobiennes de ces six solutions de rinçage. Nous avons aussi testé un marqueur interne développé au laboratoire, qui contient des conservateurs (parabènes) à dose alimentaire.

Les six solutions ont été testées sur une souche fongique (*Candida albicans*) et sur dix souches bactériennes. Nous avons réalisé des tests d'inhibition de croissance en milieu solide et en milieu liquide. Ces tests devront être complétés par des tests sur des biofilms en formation et préformés.

L'eau du robinet est utile, pour un nettoyage mécanique avec une compresse ou un bâtonnet.

Le bicarbonate de sodium est souvent présenté comme ayant un effet anti-*Candida* et dans notre étudie il réduit la biomasse de *Candida* d'environ un quart.

Le Coca-Cola zéro a un pH très acide de 2,9 : son usage pluriquotidien doit être réservé aux patients totalement édentés et aux patients en fin de vie, quand le risque cariogène peut être négligé.

Les parabènes aux doses alimentaires pourraient déséquilibrer la flore orale et digestive.

Il faudrait communiquer auprès des personnes en charge des soins de bouche dans les EHPAD sur l'importance de ne pas utiliser de bain de bouche à la chlorhexidine pour l'hygiène quotidienne des résidents, car ils inhibent fortement les microorganismes nécessaires à la santé buccale.

Le sérum physiologique, le bicarbonate de sodium, l'eau pétillante (Vichy Saint-Yorre) et le soda pétillant sans sucre (Coca-Cola zéro) ont un profil antimicrobien léger mais spécifique des souches microbiennes testées.

En pratique, il faut choisir la solution de rinçage en fonction des préférences du patient. Il serait peut-être utile d'alterner chacune de ces solutions de rinçage pour mieux lutter contre la pullulation microbienne, sans déséquilibrer l'écosystème oral compatible avec la santé bucco-dentaire.

8. BIBLIOGRAPHIE

1. Chardin H, Bonnaure-Mallet M, Barsotti O - Microbiologie appliquée à l'odonto-stomatologie 31-39, Ed. Maloine, Paris 2006.

2. Dethlefsen L, McFall-Ngai M, Relman DA - An ecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease
Nature. 2007 Oct 18;449(7164):811-8.

3. AFSSAPS (2001). Prescription des antibiotiques en odontologie et stomatologie. Recommandations et argumentaire. Microbiologie des infections bucco-dentaires. http://www.urgences-serveur.fr/IMG/pdf/prescription_ab_sto_et_odonto_afssps_2001.pdf

4. Chevalier M, Ranque S, Prêcheur I. Oral fungal-bacterial biofilm models in vitro: a review. Medical Mycology-MM-2017-0051 Submitted.

5. Tibi J. Influence d'un bain de bouche sur la présence de bactéries cariogènes au sein du biofilm dentaire. Thèse chirurgie-dentaire, Université de Nancy-Lorraine, 8 février 2010. http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA_TD_2010_TIBI_JULIEN.pdf

6. Fox EP, Cowley ES, Nobile CJ, Hartooni N, Newman DK, Johnson AD. Anaerobic bacteria grow within Candida albicans biofilms and induce biofilm formation in suspension cultures. Current Biology 2014; 24:2411–2416.

7. Mukherjee PK, Chandra J, Retuerto M, Sikaroodi M, Brown RE, Jurevic R, Salata RA, Lederman MM, Gillevet PM, Ghannoum MA. Oral mycobiome analysis of HIV-infected patients: identification of Pichia as an antagonist of opportunistic fungi. PLoS Pathog. 2014; 10: e1003996.

8. Xu H, Dongari-Bagtzoglou A. Shaping the oral mycobiota: interactions of opportunistic fungi with oral bacteria and the host. Current Opinion in Microbiology 2015; 26: 65–70.

9. Vincent-Bugnas S, Vitale S, Mouline C, Charbit Y, Mahler P, Maryanski J, Prêcheur I, Hofman P, Doglio A. EBV infection is common in gingival epithelial cells of the periodontium and worsens during chronic periodontitis. PloS One 2013 dec 19;8(12):e80336.

10. Diaz PI, Xie Z, Sobue T, et al. Synergistic interaction between Candida albicans and commensal oral streptococci in a novel in vitro mucosal model. Infection & Immunity 2012;80:620-632.

11. Chevalier M, Rajendran R, Ranque S, Ramage G, Prêcheur I, Doglio A. Prevention of Candida albicans biofilm formation by Solidago virgaurea extract involves transcriptional blockade of adhesion-specific genes: from basic research to the proposal of new therapies. Journal of Medical Microbiology JMM-D-17-001000 In press.

12. Pouysségur V, Prêcheur I, Sabot JG. Maladies bucco-dentaires : cofacteurs de morbidité des personnes âgées. La Revue de Gériatrie 2016;41:17-31

13. Chevalier M, Prêcheur I. Lutte contre la dénutrition des personnes âgées dépendantes : nouvelles approches en odontologie. Gériatrie Psychologie et Neuropsychiatrie du Vieillissement 2015;13:22-30.

14. Pesci-Bardon C, Prêcheur I. L'alcool : une drogue licite aux conséquences bucco-dentaires non négligeables. Actualités Odonto-Stomatologiques 2013;262:1-9.

15. Prêcheur I, Bertin-Hugault F, Véra P, Pouysségur-Rougier V. Gérodontologie : effets indésirables bucco-dentaires des médicaments chez le sujet âgé. La Revue de Gériatrie 2013;38:65-73.

16. Chevalier M, Sakarovitch C, Prêcheur I, Lamure J, Pouysségur-Rougier V. Antiseptic mouthwashes could worsen xerostomia in patients taking polypharmacy. Acta Odontologica Scandinavica 2015;73:267-273.

17. Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques (INSEE). Bilan démographique 2016. https://www.insee.fr/fr/statistiques/1892086?sommaire=1912926

18. Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV). Soins palliatifs au quotidien. Soins de bouche 2008
http://www.chuv.ch/soins-palliatifs/palliative_flash_14_soins_de_bouche.pdf

19. Soins Palliatifs Alsace Nord (SPAN). Soins de bouche. 2009
file:///D:/Users/Isabelle%20Pr%C3%AAcheur/Downloads/SOINS%20de%20BOUCHE%20Aspan%20jul%2009.pdf

20. Association du Réseau de Santé de Proximité et d'Appui (ARESPA). Soins de bouche. Rôle infirmier. CHU de Besançon 2009
http://www.soinspalliatifs-fc.fr/pdf/telecharge/Plaq_Soins-de-bouche_2009.pdf

21. Chevalier M, Médioni E, Prêcheur I. Inhibition of Candida albicans yeast-hyphal transition and biofilm formation by Solidago virgaurea water extract. Journal of Medical Microbiology 2012;61:1016-1022.

22. European Commission. Scientific Committee on Consumer Safety. Opinion on Parabens. May 3rd 2013. http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_132.pdf

23. Dictionnaire Vidal des médicaments. Monographie Eludril 2017.
https://www.vidal.fr/Medicament/eludril-107218.htm

24. Hua F, Xie H, Worthington HV, Furness S, Zhang Q, Li C. Oral hygiene care for critically ill patients to prevent ventilator-associated pneumonia. Cochrane Database Systematic Reviews. 2016 Oct 25;10:CD008367.

5. Kampf G. Acquired resistance to chlorhexidine - is it time to establish an 'antiseptic stewardship' initiative? Journal of Hospital Infection 2016;94:213-227.

26. McGuire DB, Fulton JS, Park J, Brown CG, Correa ME, Eilers J, Elad S, Gibson F, Oberle-Edwards LK, Bowen J, Lalla RV; Mucositis Study Group of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer/International Society of Oral Oncology (MASCC/ISOO). Systematic review of basic oral care for the management of oral mucositis in cancer patients. Supportive Care Cancer 2013;21:3165-3177.

27. Sreeramareddy CT, Low YP, Forsberg BC. Slow progress in diarrhea case management in low and middle income countries: evidence from cross-sectional national surveys, 1985-2012.BMC Pediatrics 2017;17:83. doi: 10.1186/s12887-017-0836-6.

9. **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1. Principaux phylums et genres bactériens qui colonisent le biofilm oral ……. 8

Tableau 2 Différentes solutions testées……..16

Tableau 3. Microorganismes utilisés pour l'expérimentation ……. 17

Tableau 4. Rayon d'inhibition de 11 souches microbiennes pour les six solutions testées ……. 27

Tableau 5. Mesure de la croissance microbienne dans les solutions de rinçage testées 29

Tableau 6. Impact des solutions de rinçage sur 11 souches microbiennes testées …… 30

Tableau 7. Analyse de l'impact de six solutions de rinçage sur 11 souches microbiennes …….. 34

10. LISTE DES FIGURES

Figure 1. Répartition des phylums bactériens dans les écosystèmes endogènes humains ….. 6

Figure 2. Schéma de l'étude …….. 19

Figure 3. Schéma du test d'inhibition de croissance sur gélose…….. 21

Figure 4. Lecture des résultats d'inhibition de croissance en milieu solide…… 22

Figure 5. Schéma du test d'inhibition de croissance en milieu liquide…….. 24

Figure 6. Lecture des résultats d'inhibition de croissance en milieu liquide…… 25

Figure 7. Moyenne des rayons d'inhibition sur gélose…….. 28

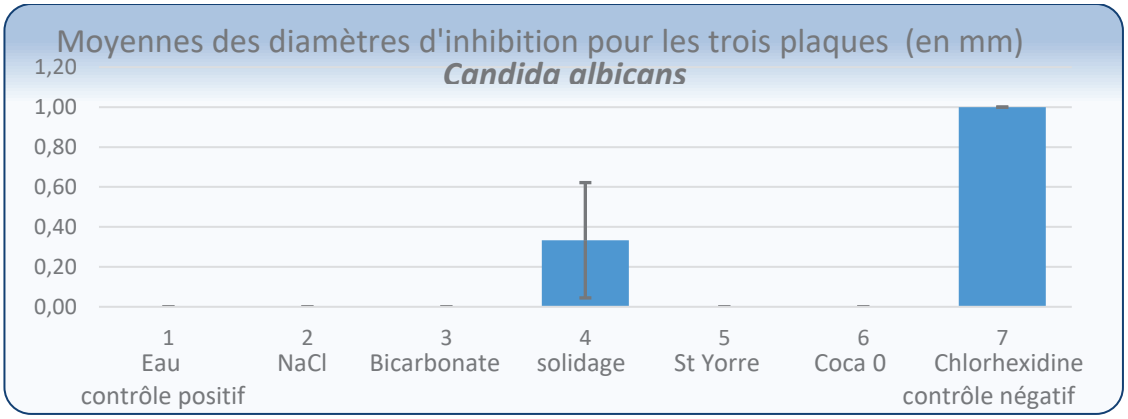
Figure 8. Impact des six solutions de rinçage testées sur 11 espèces microbiennes …… 32

11. ANNEXES

Annexe 1. Résultats du test d'inhibition de croissance en milieu solide

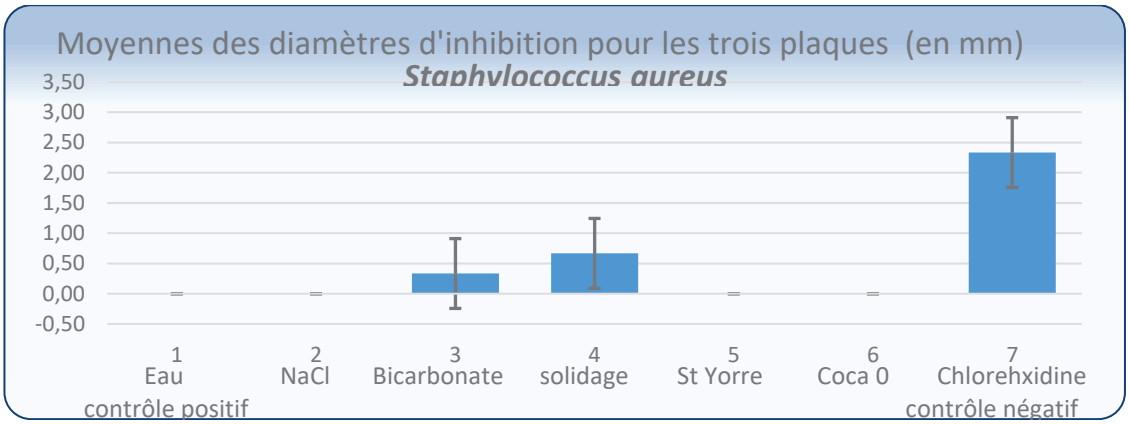
Candida albicans

	Diamètre d'inhibition (en mm)		
	Plaque 1	Plaque 2	Plaque 3
1-Eau (+)	0	0	0
2-NaCl	0	0	0
3-Bicarbonate	0	0	0
4-Solidage	0,5	0,5	0
5-St Yorre	0	0	0
6-Coca 0	0	0	0
7- Chlorhexidine (-)	1	1	1



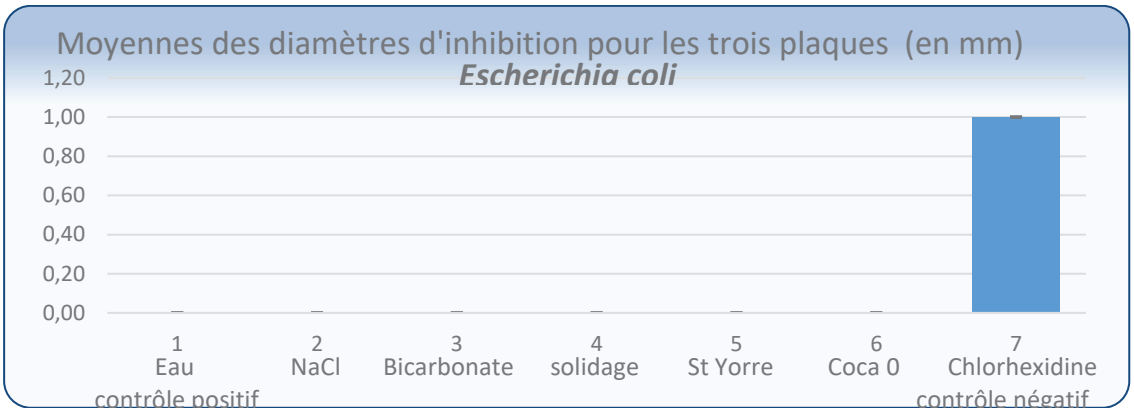
Staphylococcus aureus

	Diamètre d'inhibition (en mm)		
	Plaque 1	Plaque 2	Plaque 3
1-Eau (+)	0	0	0
2-NaCl	0	0	0
3-Bicarbonate	0	1	0
4-Solidage	1	0	1
5-St Yorre	0	0	0
6-Coca 0	0	0	0
7- Chlorhexidine (-)	2	3	2



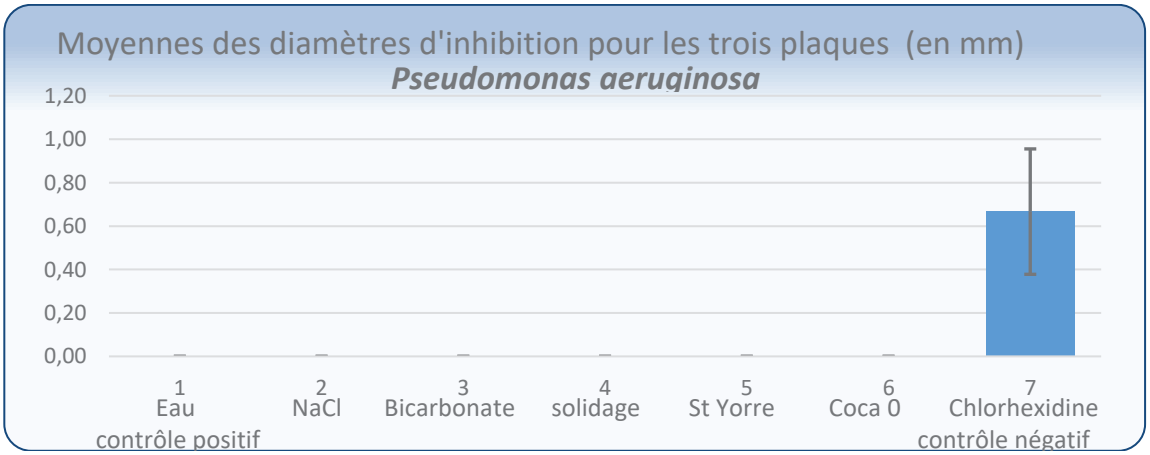
Escherichia coli

	Diamètre d'inhibition (en mm)		
	Plaque 1	Plaque 2	Plaque 3
1-Eau (+)	0	0	0
2-NaCl	0	0	0
3-Bicarbonate	0	0	0
4-Solidage	0	0	0
5-St Yorre	0	0	0
6-Coca 0	0	0	0
7- Chlorhexidine (-)	1	1	1



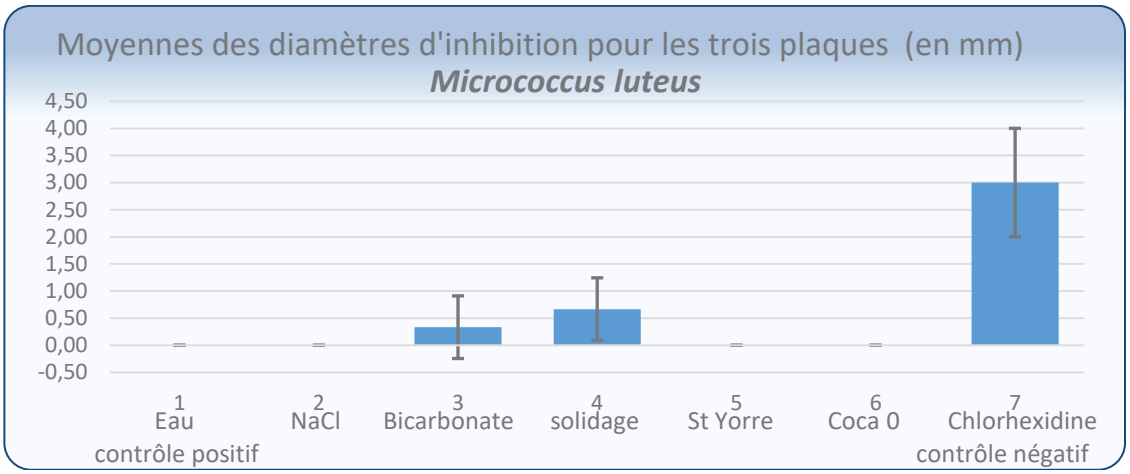
Pseudomonas aeruginosa

	Diamètre d'inhibition (en mm)		
	Plaque 1	Plaque 2	Plaque 3
1-Eau (+)	0	0	0
2-NaCl	0	0	0
3-Bicarbonate	0	0	0
4-Solidage	0	0	0
5-St Yorre	0	0	0
6-Coca 0	0	0	0
7- Chlorhexidine (-)	0,5	0,5	1



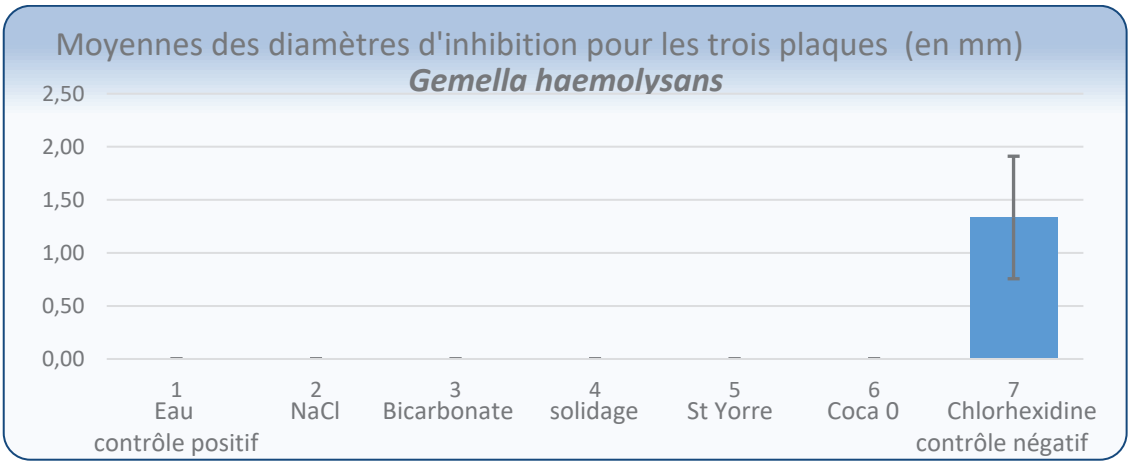
Micrococcus luteus

	Diamètre d'inhibition (en mm)		
	Plaque 1	Plaque 2	Plaque 3
1-Eau (+)	0	0	0
2-NaCl	0	0	0
3-Bicarbonate	1	0	0
4-Solidage	1	1	0
5-St Yorre	0	0	0
6-Coca 0	0	0	0
7- Chlorhexidine (-)	4	3	2



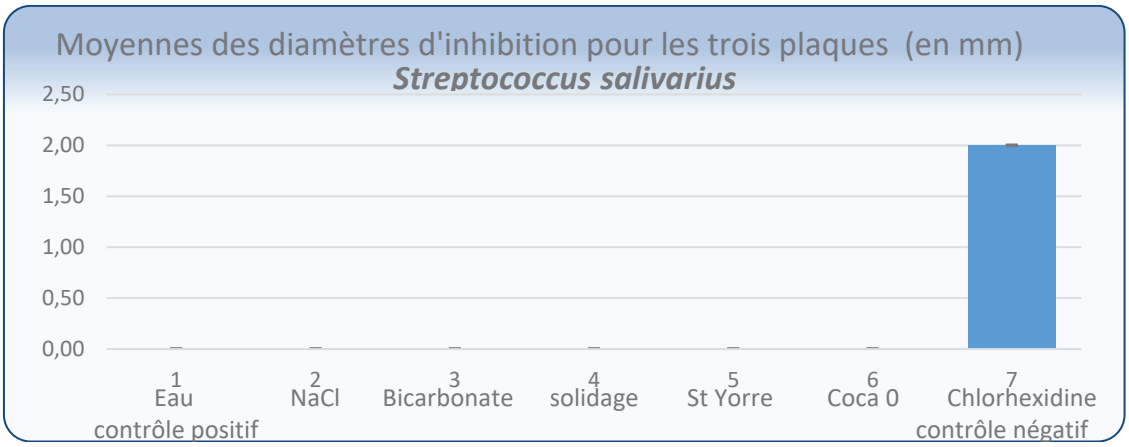
Gemella haemolysans

	Diamètre d'inhibition (en mm)		
	Plaque 1	Plaque 2	Plaque 3
1-Eau (+)	0	0	0
2-NaCl	0	0	0
3-Bicarbonate	0	0	0
4-Solidage	0	0	0
5-St Yorre	0	0	0
6-Coca 0	0	0	0
7- Chlorhexidine (-)	2	1	1



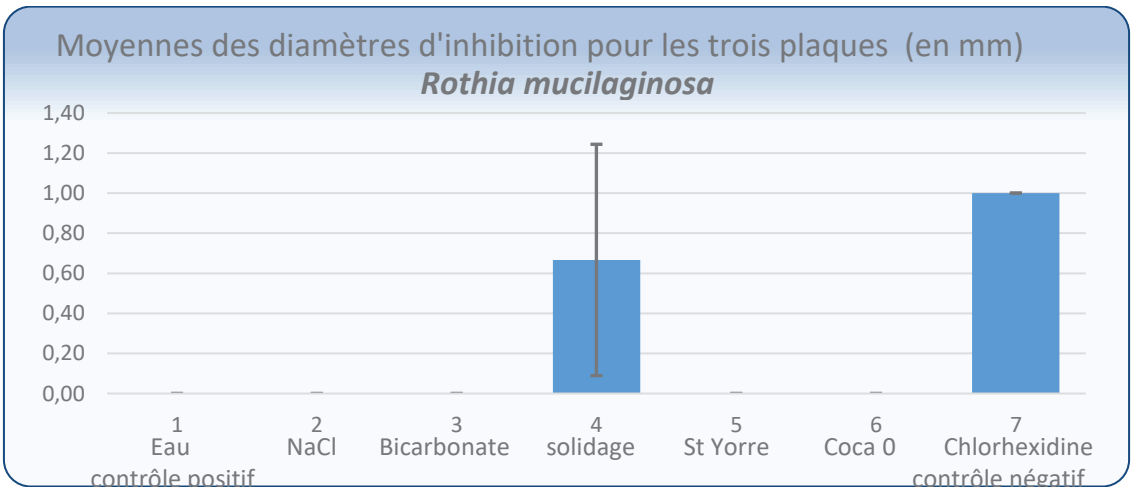
Streptococcus salivarius

	Diamètre d'inhibition (en mm)		
	Plaque 1	Plaque 2	Plaque 3
1-Eau (+)	0	0	0
2-NaCl	0	0	0
3-Bicarbonate	0	0	0
4-Solidage	0	0	0
5-St Yorre	0	0	0
6-Coca 0	0	0	0
7- Chlorhexidine (-)	2	2	2



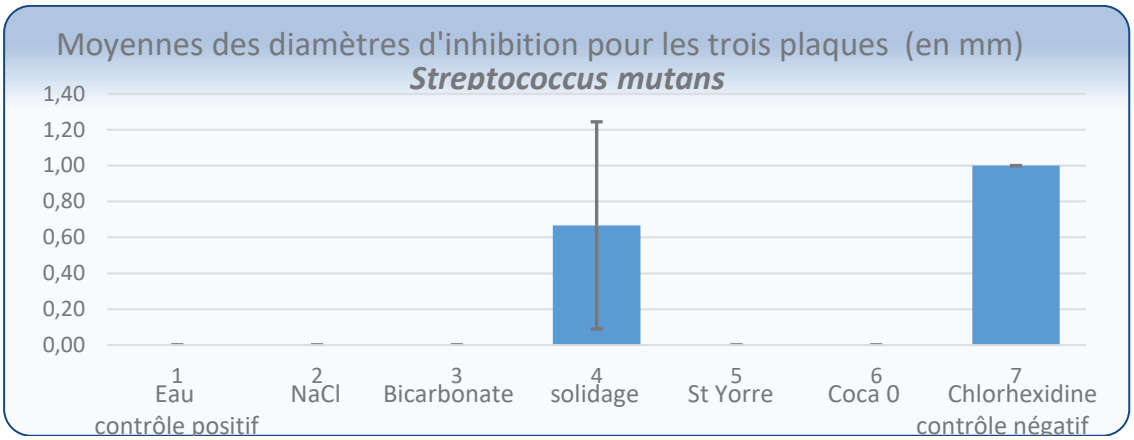
Rothia mucilaginosa

	Diamètre d'inhibition (en mm)		
	Plaque 1	Plaque 2	Plaque 3
1-Eau (+)	0	0	0
2-NaCl	0	0	0
3-Bicarbonate	0	0	0
4-Solidage	1	1	0
5-St Yorre	0	0	0
6-Coca 0	0	0	0
7- Chlorhexidine (-)	1	1	1



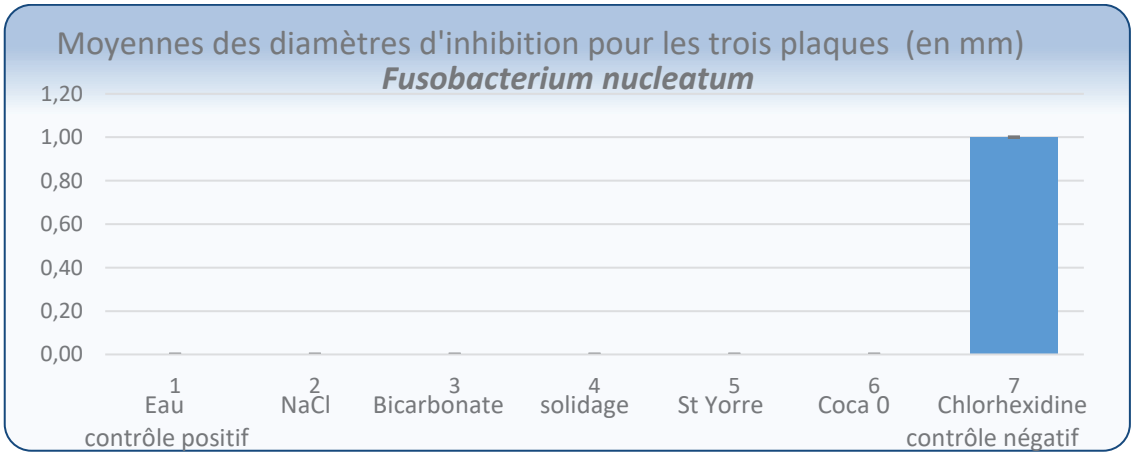
Streptococcus mutans

	Diamètre d'inhibition (en mm)		
	Plaque 1	Plaque 2	Plaque 3
1-Eau (+)	0	0	0
2-NaCl	0	0	0
3-Bicarbonate	0	0	0
4-Solidage	1	1	0
5-St Yorre	0	0	0
6-Coca 0	0	0	0
7- Chlorhexidine (-)	1	1	1



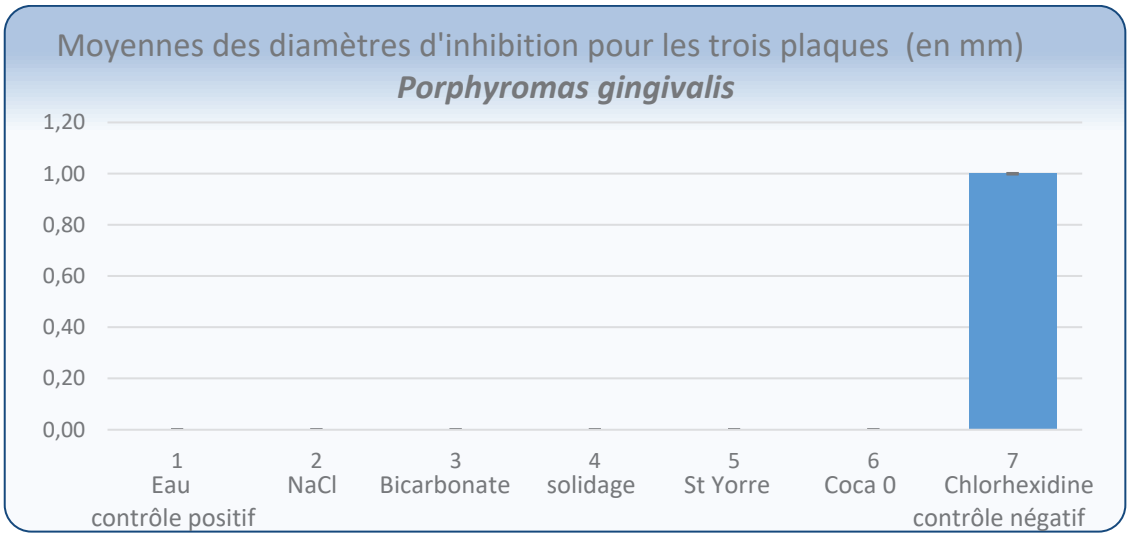
Fusobacterium nucleatum

	Diamètre d'inhibition (en mm)		
	Plaque 1	Plaque 2	Plaque 3
1-Eau (+)	0	0	0
2-NaCl	0	0	0
3-Bicarbonate	0	0	0
4-Solidage	0	0	0
5-St Yorre	0	0	0
6-Coca 0	0	0	0
7- Chlorhexidine (-)	1	1	1



Porphyromas gingivalis

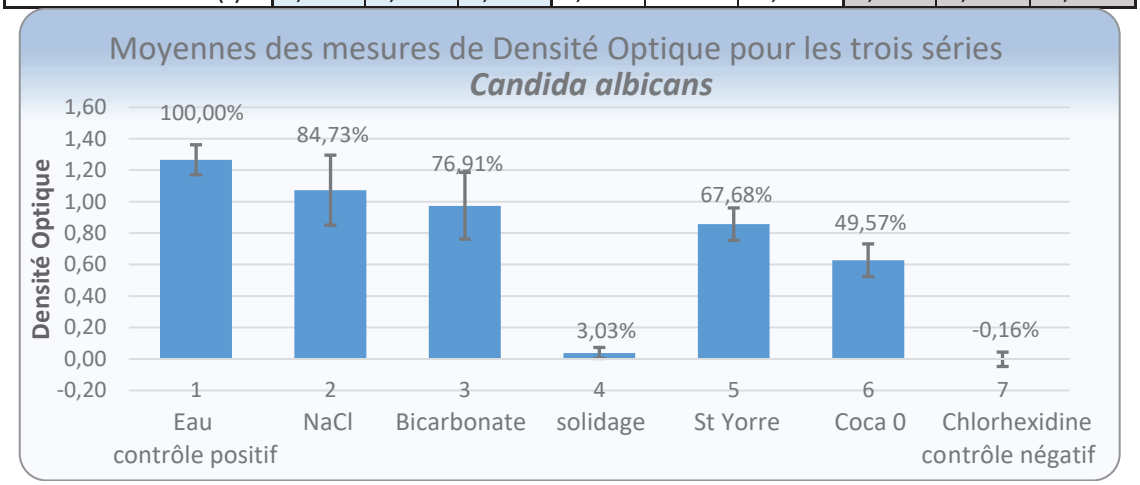
	Diamètre d'inhibition (en mm)		
	Plaque 1	Plaque 2	Plaque 3
1-Eau (+)	0	0	0
2-NaCl	0	0	0
3-Bicarbonate	0	0	0
4-Solidage	0	0	0
5-St Yorre	0	0	0
6-Coca 0	0	0	0
7- Chlorhexidine (-)	1	1	1



Annexe 2. Résultats du test d'inhibition de croissance en milieu liquide

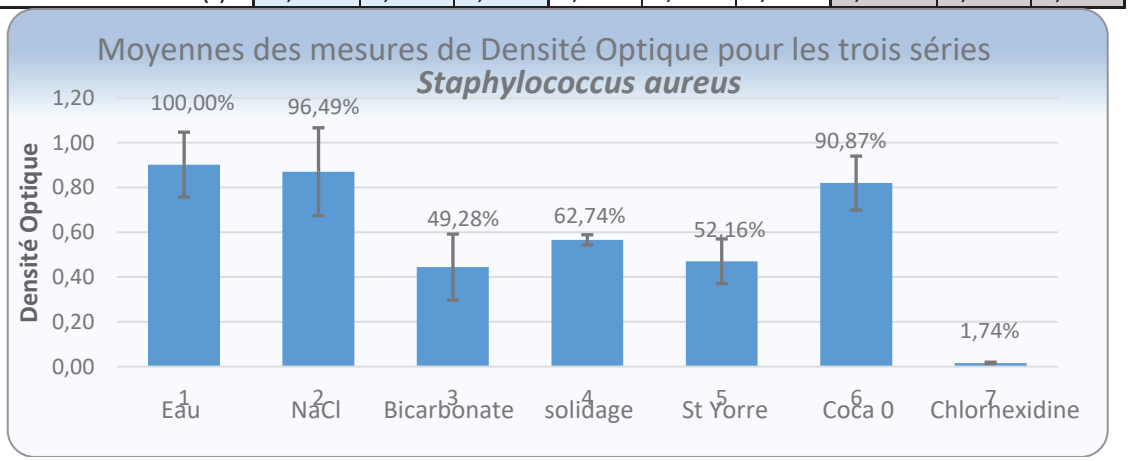
Candida albicans

	Densité optique (absorbance A)								
	Série 1			Série 2			Série 3		
	T0	T20	≠	T0	T20	≠	T0	T20	≠
1-Eau (+)	0,144	1,503	1,359	0,057	1,328	1,271	0,037	1,206	1,169
2-NaCl	0,018	1,285	1,267	0,05	0,88	0,83	0,03	1,152	1,122
3-Bicarbonate	0,006	0,766	0,76	0,137	1,115	0,978	0,151	1,335	1,184
4-Solidage	0,185	0,214	0,029	0,057	0,134	0,077	0,032	0,041	0,009
5-St Yorre	0,022	0,788	0,766	0,011	0,98	0,969	0,031	0,867	0,836
6-Coca 0	0,025	0,768	0,743	0,023	0,565	0,542	0,035	0,633	0,598
7- Chlorhexidine (-)	0,092	0,138	0,046	0,045	0	-0,045	0,03	0,023	-0,007



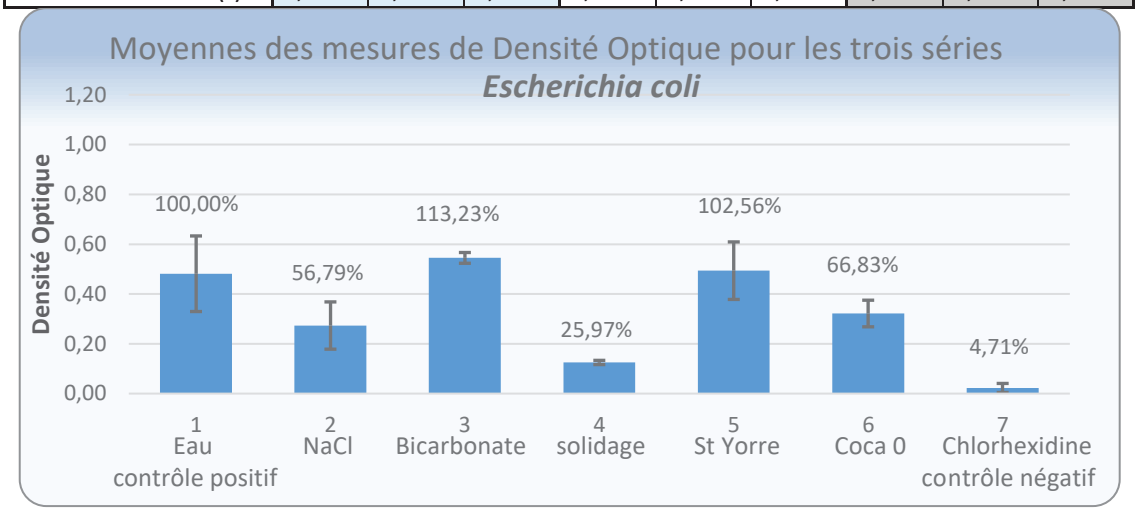
Staphylococcus aureus

	Densité optique (absorbance A)								
	Série 1			Série 2			Série 3		
	T0	T20	≠	T0	T20	≠	T0	T20	≠
1-Eau (+)	0,085	1,151	1,066	0,121	0,913	0,792	0,115	0,962	0,847
2-NaCl	0,014	1,106	1,092	0,128	0,926	0,798	0,134	0,854	0,72
3-Bicarbonate	0,02	0,453	0,433	0,118	0,715	0,597	0,123	0,426	0,303
4-Solidage	0,01	0,601	0,591	0,129	0,688	0,559	0,124	0,671	0,547
5-St Yorre	0,021	0,583	0,562	0,135	0,499	0,364	0,129	0,614	0,485
6-Coca 0	0,128	0,868	0,74	0,165	0,925	0,76	-0,206	0,752	0,958
7- Chlorhexidine (-)	-0,013	0,002	0,015	0,007	0,019	0,012	0,078	0,098	0,02



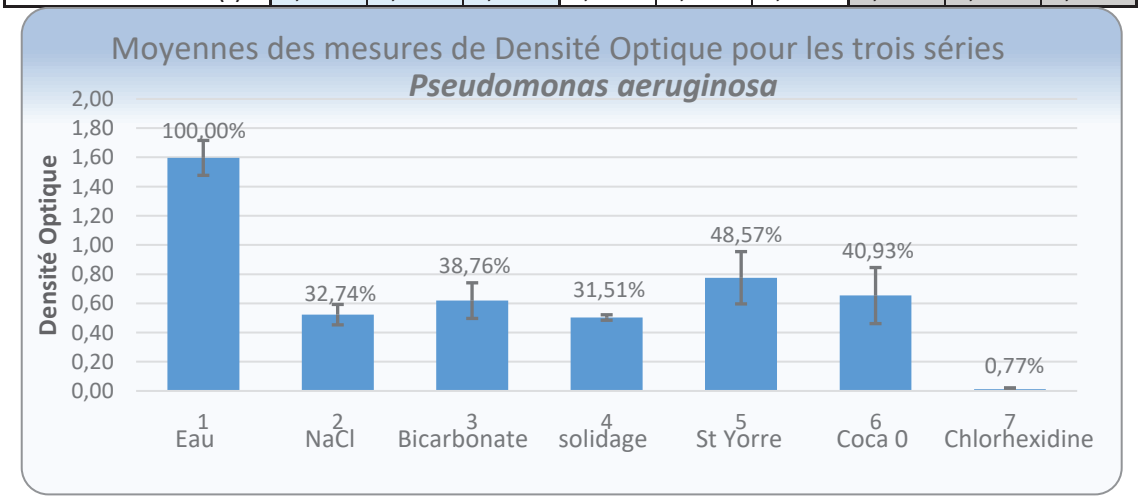
Escherichia coli

	Densité optique (absorbance A)								
	Série 1			Série 2			Série 3		
	T0	T20	≠	T0	T20	≠	T0	T20	≠
1-Eau (+)	0,053	0,671	0,618	0,103	0,421	0,318	0,062	0,57	0,508
2-NaCl	0,073	0,415	0,342	0,069	0,234	0,165	0,122	0,435	0,313
3-Bicarbonate	0,066	0,629	0,563	0,121	0,642	0,521	0,081	0,632	0,551
4-Solidage	0,06	0,184	0,124	0,095	0,212	0,117	0,066	0,2	0,134
5-St Yorre	0,128	0,529	0,401	0,075	0,698	0,623	0,081	0,538	0,457
6-Coca 0	0,101	0,411	0,31	0,143	0,523	0,38	0,1	0,375	0,275
7- Chlorhexidine (-)	0,017	0,025	0,008	0,066	0,083	0,017	0,049	0,092	0,043



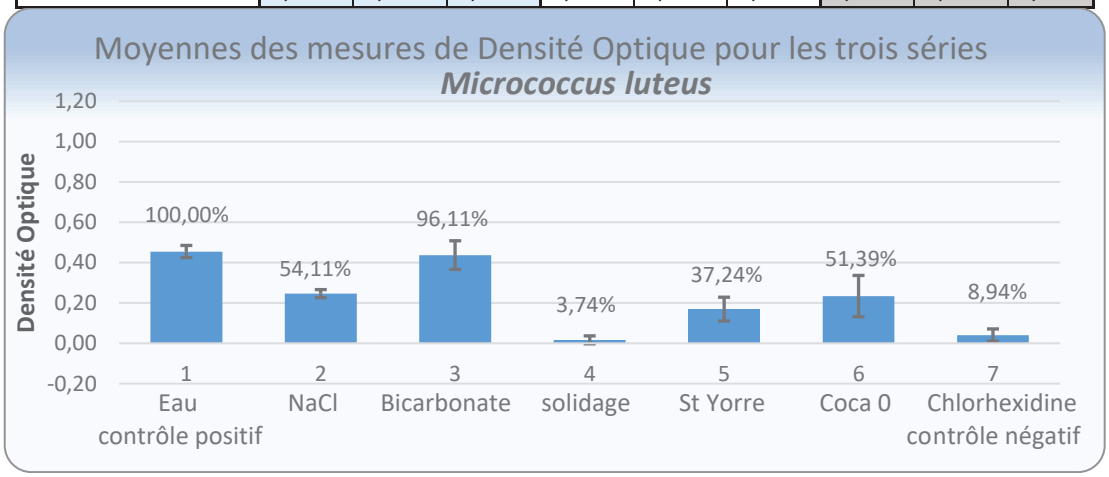
Pseudomonas aeruginosa

	Densité optique (absorbance A)								
	Série 1			Série 2			Série 3		
	T0	T20	≠	T0	T20	≠	T0	T20	≠
1-Eau (+)	0,055	1,573	1,518	0,035	1,769	1,734	0,048	1,585	1,537
2-NaCl	0,058	0,5	0,442	0,06	0,624	0,564	0,053	0,615	0,562
3-Bicarbonate	0,059	0,785	0,726	0,061	0,547	0,486	0,044	0,688	0,644
4-Solidage	0,066	0,563	0,497	0,061	0,585	0,524	0,076	0,564	0,488
5-St Yorre	0,076	0,742	0,666	0,049	0,727	0,678	0,057	1,039	0,982
6-Coca 0	0,074	0,755	0,681	0,07	0,519	0,449	0,057	0,887	0,83
7- Chlorhexidine (-)	0,021	0,023	0,002	0,026	0,045	0,019	0,026	0,042	0,016



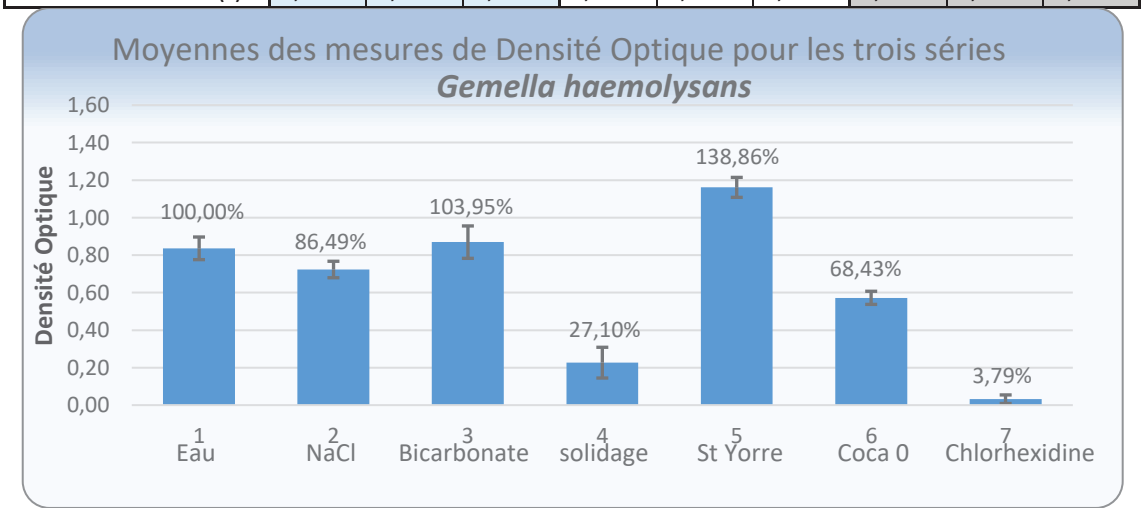
Micrococcus luteus

	Densité optique (absorbance A)								
	Série 1			Série 2			Série 3		
	T0	T20	≠	T0	T20	≠	T0	T20	≠
1-Eau (+)	0,194	0,662	0,468	0,168	0,588	0,42	0,191	0,667	0,476
2-NaCl	0,207	0,47	0,263	0,169	0,42	0,251	0,198	0,422	0,224
3-Bicarbonate	0,19	0,672	0,482	0,216	0,571	0,355	0,203	0,677	0,474
4-Solidage	0,112	0,147	0,035	0,168	0,188	0,02	0,123	0,119	0,004
5-St Yorre	0,217	0,341	0,124	0,153	0,301	0,148	0,194	0,43	0,236
6-Coca 0	0,205	0,322	0,117	0,163	0,473	0,31	0,195	0,469	0,274
7-Chlorhexidine	0,029	0,046	0,017	0,065	0,095	0,03	0,023	0,098	0,075



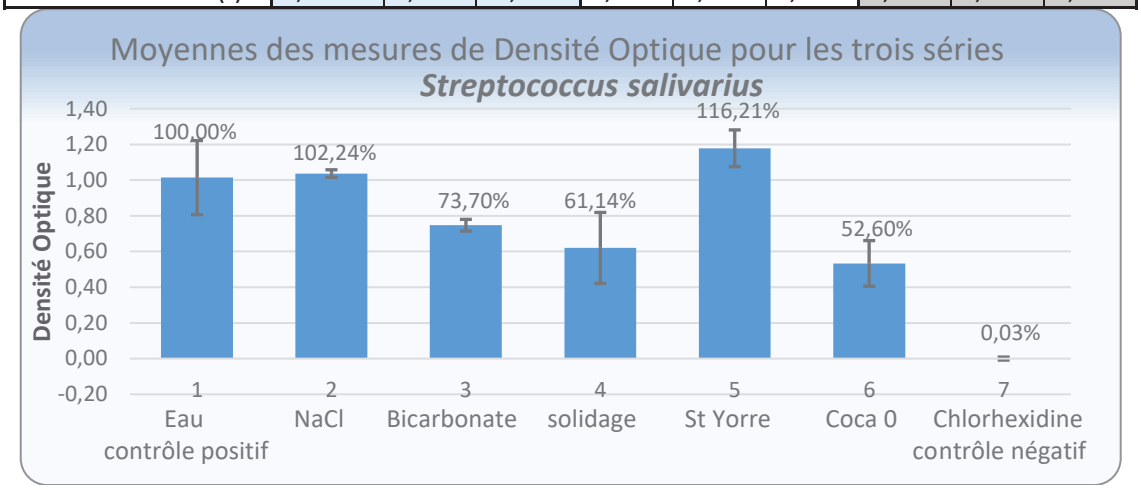
Gemella haemolysans

	Densité optique (absorbance A)								
	Série 1			Série 2			Série 3		
	T0	T20	≠	T0	T20	≠	T0	T20	≠
1-Eau (+)	0,039	0,84	0,801	0,055	0,857	0,802	0,031	0,937	0,906
2-NaCl	0,035	0,809	0,774	0,031	0,727	0,696	0,023	0,723	0,7
3-Bicarbonate	0,036	0,839	0,803	0,037	1,004	0,967	0,021	0,859	0,838
4-Solidage	0,036	0,357	0,321	0,051	0,224	0,173	0,035	0,221	0,186
5-St Yorre	0,029	1,206	1,177	0,029	1,234	1,205	0,017	1,119	1,102
6-Coca 0	0,066	0,678	0,612	0,082	0,641	0,559	0,077	0,623	0,546
7- Chlorhexidine (-)	0,172	0,224	0,052	0,184	0,22	0,036	0,199	0,206	0,007



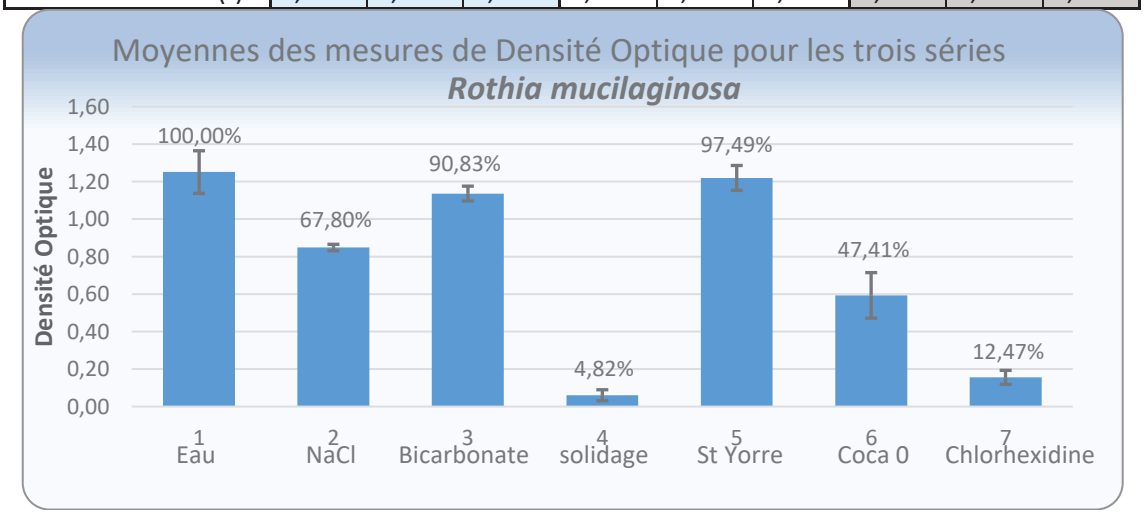
Streptococcus salivarius

	Densité optique (absorbance A)								
	Série 1			Série 2			Série 3		
	T0	T20	≠	T0	T20	≠	T0	T20	≠
1-Eau (+)	0,026	0,945	0,919	0,033	0,904	0,871	0,036	1,288	1,252
2-NaCl	0,017	1,076	1,059	0,024	1,041	1,017	0,044	1,078	1,034
3-Bicarbonate	0,041	0,819	0,778	0,034	0,747	0,713	0,051	0,802	0,751
4-Solidage	0,072	0,844	0,772	0,035	0,43	0,395	0,045	0,738	0,693
5-St Yorre	0,02	1,283	1,263	0,011	1,075	1,064	0,036	1,244	1,208
6-Coca 0	0,099	0,485	0,386	0,045	0,648	0,603	0,1	0,711	0,611
7- Chlorhexidine (-)	0,0252	0,016	-0,009	0,025	0,028	0,003	0,028	0,035	0,007



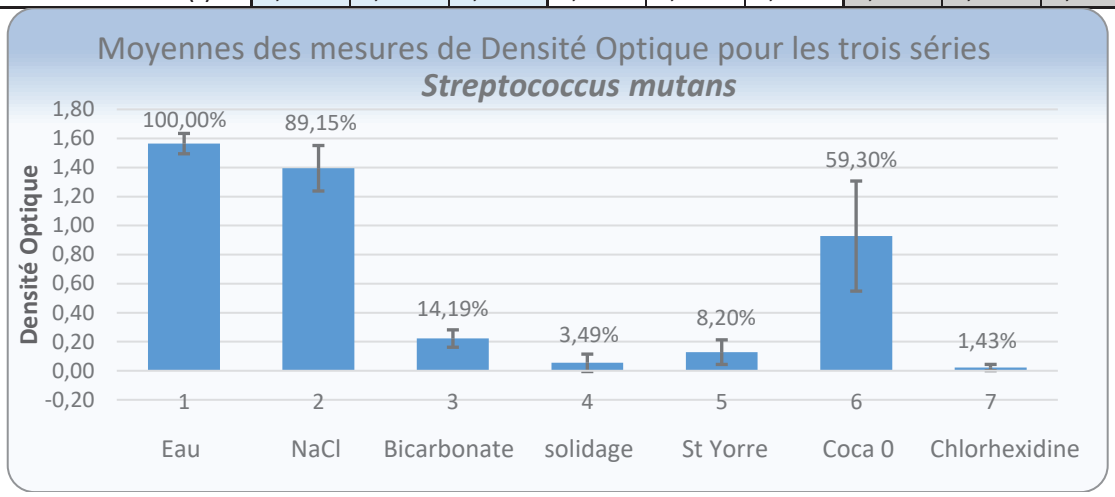
Rothia mucilaginosa

	Densité optique (absorbance A)								
	Série 1			Série 2			Série 3		
	T0	T20	≠	T0	T20	≠	T0	T20	≠
1-Eau (+)	0,05	1,207	1,157	0,038	1,415	1,377	0,059	1,277	1,218
2-NaCl	0,037	0,876	0,839	0,034	0,902	0,868	0,031	0,868	0,837
3-Bicarbonate	0,052	1,18	1,128	0,022	1,123	1,101	0,05	1,229	1,179
4-Solidage	0,045	0,139	0,094	0,032	0,072	0,04	0,044	0,091	0,047
5-St Yorre	0,03	1,2	1,17	0,033	1,328	1,295	0,025	1,218	1,193
6-Coca 0	0,086	0,779	0,693	0,075	0,703	0,628	0,124	0,582	0,458
7- Chlorhexidine (-)	0,292	0,425	0,133	0,273	0,472	0,199	0,284	0,42	0,136



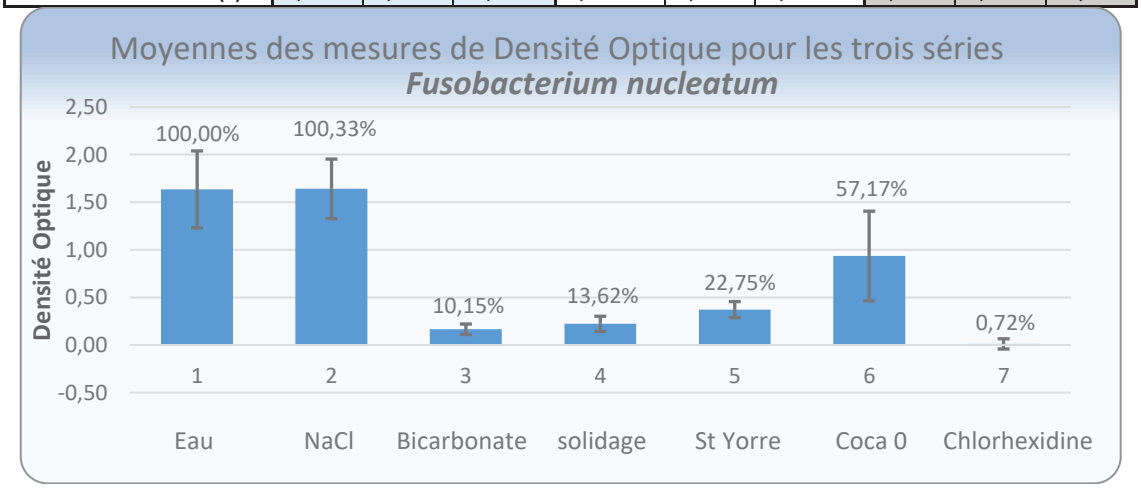
Streptococcus mutans

	Densité optique (absorbance A)								
	Série 1			Série 2			Série 3		
	T0	T20	≠	T0	T20	≠	T0	T20	≠
1-Eau (+)	0,02	1,52	1,5	0,086	1,725	1,639	0,056	1,61	1,554
2-NaCl	0,024	1,515	1,491	0,105	1,584	1,479	0,046	1,26	1,214
3-Bicarbonate	0,02	0,211	0,191	0,043	0,227	0,184	0,024	0,315	0,291
4-Solidage	0,009	0,013	0,004	0,077	0,116	0,039	0,099	0,22	0,121
5-St Yorre	0,01	0,042	0,032	0,011	0,173	0,162	0,025	0,216	0,191
6-Coca 0	0,013	0,737	0,724	0,086	1,451	1,365	0,028	0,722	0,694
7- Chlorhexidine (-)	0,004	0,012	0,008	0,012	0,059	0,047	0,05	0,062	0,012



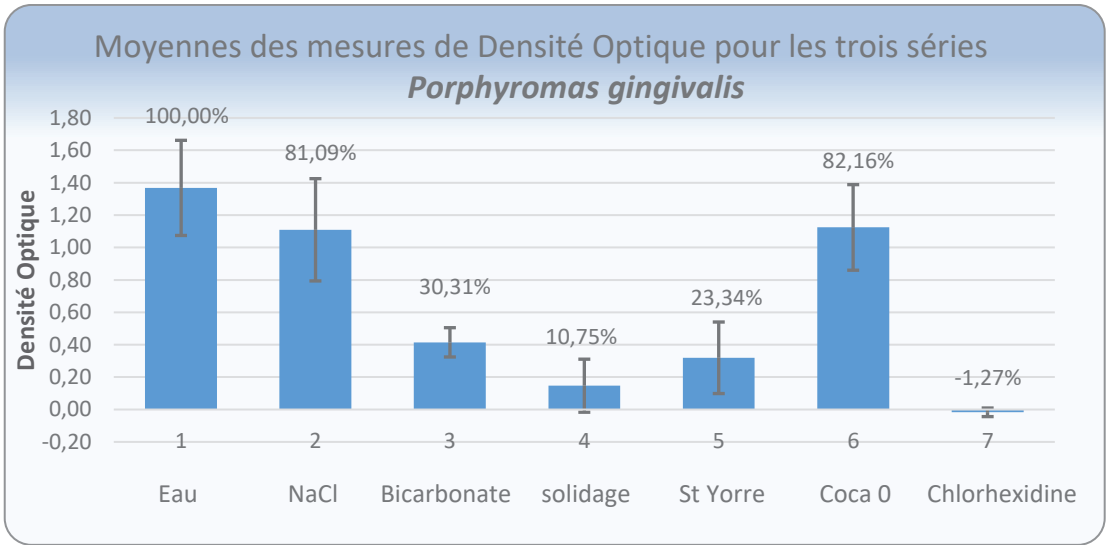
Fusobacterium nucleatum

	Densité optique (absorbance A)								
	Série 1			Série 2			Série 3		
	T0	T20	≠	T0	T20	≠	T0	T20	≠
1-Eau (+)	0,02	1,221	1,201	0,104	2,104	2	0,152	1,856	1,704
2-NaCl	0,028	1,413	1,385	0,107	2,096	1,989	0,015	1,562	1,547
3-Bicarbonate	0,029	0,132	0,103	0,06	0,261	0,201	0,051	0,245	0,194
4-Solidage	0	0,314	0,314	0,059	0,228	0,169	0,021	0,206	0,185
5-St Yorre	0,019	0,298	0,279	0,02	0,464	0,444	0,028	0,421	0,393
6-Coca 0	0,063	0,506	0,443	0,072	1,454	1,382	0,086	1,065	0,979
7- Chlorhexidine (-)	0,018	0,011	-0,007	0,0107	0,083	0,0723	0,086	0,056	-0,03



Porphyromas gingivalis

	Densité optique (absorbance A)								
	Série 1			Série 2			Série 3		
	T0	T20	≠	T0	T20	≠	T0	T20	≠
1-Eau (+)	0,008	1,644	1,636	0,194	1,248	1,054	0,012	1,426	1,414
2-NaCl	0,046	0,8	0,754	0,08	1,297	1,217	0,064	1,421	1,357
3-Bicarbonate	0,024	0,43	0,406	0,081	0,41	0,329	0,021	0,53	0,509
4-Solidage	0	0,012	0,012	0,097	0,426	0,329	0,045	0,145	0,1
5-St Yorre	0,025	0,09	0,065	0,035	0,467	0,432	0,065	0,526	0,461
6-Coca 0	0,022	0,841	0,819	0,113	1,39	1,277	0,045	1,321	1,276
7- Chlorhexidine (-)	0,059	0,015	-0,044	0,091	0,074	-0,017	0,075	0,084	0,009



Serment d'Hippocrate

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Approbation – Improbation

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

Lu et approuvé,

Le Président du jury,

Professeur

Vu,
Nice, le

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

Professeur Laurence LUPI

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

Pierre BRUNO

PROPRIETES ANTIMICROBIENNES DES SOLUTIONS UTILISEES POUR L'HYGIENE BUCCALE DES PERSONNES AGEES EN INSTITUTION

Thèse : Chirurgie Dentaire, Nice, 2017, n°42-57-17-33

Directeur de thèse : Pr PRECHEUR Isabelle

Mots-clés : bains de bouche, biofilm oral, hygiène bucco-dentaire, personnes âgées dépendantes, soins palliatifs

Résumé:

Contexte. Chez les personnes âgées dépendantes, lorsque le brossage des dents est impossible, les personnes qui font les toilettes ont recours à des solutions antimicrobiennes ou simplement à un rinçage buccal. Mais il ne faut pas déséquilibrer le biofilm oral avec des solutions antiseptiques, qui provoquent des inflammations et aggravent l'état buccal.
Objectif. Etudier les propriétés antimicrobiennes des solutions de rinçage les plus souvent utilisées en institution, pour éviter les pratiques iatrogènes.
Méthode. Enquête sur les solutions utilisées auprès de 64 infirmières et aides-soignantes. Tests d'inhibition de croissance en milieu solide et en milieu liquide sur dix souches bactériennes et une souche fongique (*Candida albicans*), pour les six solutions citées.
Résultats. Il faudrait informer les soignants sur l'importance de ne pas utiliser de bains de bouche à la chlorhexidine pour l'hygiène quotidienne des patients, car ils inhibent fortement les microorganismes nécessaires à la santé buccale. L'eau du robinet est utile, pour un nettoyage mécanique avec une compresse. Le sérum physiologique, le bicarbonate de sodium, l'eau pétillante (Vichy Saint-Yorre) et le soda pétillant sans sucre (Coca-Cola zéro) ont un profil antimicrobien léger mais spécifique des souches microbiennes testées. Le bicarbonate de sodium réduit la biomasse de *Candida* d'environ un quart. Le Coca-Cola zéro a un pH très acide de 2,9 et son usage pluriquotidien présente un risque cariogène.
Conclusion. Il faut choisir les solutions de rinçage en fonction des préférences du patient. Mais il serait utile de les alterner pour mieux lutter contre la pullulation microbienne, sans déséquilibrer l'écosystème oral compatible avec la santé bucco-dentaire.