HAL open science

Corrélation entre risque carieux et charge bactérienne : outil potentiel de décision thérapeutique

Joffrey Degoutin

▶ To cite this version:

Joffrey Degoutin. Corrélation entre risque carieux et charge bactérienne : outil potentiel de décision thérapeutique. Chirurgie. 2019. dumas-02286491

HAL Id: dumas-02286491

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02286491v1

Submitted on 13 Sep 2019

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

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

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

ACADEMIE d'AIX-MARSEILLE

Corrélation entre risque carieux et charge bactérienne : outil potentiel de décision thérapeutique

THESE

Présentée et publiquement soutenue devant la

Faculté d'Odontologie de Marseille
(Doyen : Monsieur le Professeur Jacques DEJOU)

Aix Marseille Université
(Président : Monsieur le Professeur Yvon BERLAND)

Le 11 juillet 2019

par

DEGOUTIN Joffrey
né le 11 août 1980
à ESSEY-LES-NANCY

Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire

EXAMINATEURS DE LA THESE :

Président	: Monsieur le Professeur	B. FOTI
Assesseurs	: Monsieur le Professeur	H. TASSERY
	Madame le Docteur	D. TARDIVO
	Monsieur le Docteur	B. BALLESTER

ACADEMIE d'AIX-MARSEILLE

Corrélation entre risque carieux et charge bactérienne : outil potentiel de décision thérapeutique

THESE

Présentée et publiquement soutenue devant la

Faculté d'Odontologie de Marseille
(Doyen : Monsieur le Professeur Jacques DEJOU)

Aix Marseille Université
(Président : Monsieur le Professeur Yvon BERLAND)

Le 11 juillet 2019

par

DEGOUTIN Joffrey
né le 11 août 1980
à ESSEY-LES-NANCY

Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire

EXAMINATEURS DE LA THESE :

Président	: Monsieur le Professeur	B. FOTI
Assesseurs	: Monsieur le Professeur	H. TASSERY
	Madame le Docteur	D. TARDIVO
	Monsieur le Docteur	B. BALLESTER

Faculté d'Odontologie
Aix-Marseille Université

ADMINISTRATION

Mise à jour : février2019

DOYENS HONORAIRES	Professeur	R. SANGIUOLO†
	Professeur	H. ZATTARA
	Professeur	A. SALVADORI
DOYEN	Professeur	J. DEJOU
VICE – DOYEN CHARGE DES ENSEIGNEMENTS DIRECTEUR DU DEPARTEMENT DE FORMATION INITIALE	Professeur	J.D. ORTHLIEB
VICE – DOYEN CHARGE DE LA RECHERCHE DIRECTEUR DU DEPARTEMENT DE LA RECHERCHE	Professeur	C. TARDIEU
DIRECTEUR DU DEPARTEMENT DE FORMATION CONTINUE	Professeur	V. MONNET-CORTI
CHARGES DE MISSION RELATIONS INTERNATIONALES	Professeur	A. RASKIN
RESPONSABLE DES SERVICES ADMINISTRATIFS ET TECHNIQUES	Madame	K. LEONI

LISTE DES ENSEIGNANTS

56ème SECTION :
DEVELOPPEMENT, CROISSANCE ET PREVENTION

56.01 ODONTOLOGIE PÉDIATRIQUE ET ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE

ODONTOLOGIE PÉDIATRIQUE

Professeur	C. TARDIEU *	*Assistant*	H. AL AZAWI
Maître de Conférences	D. BANDON	*Assistant*	E. CASAZZA
Maître de Conférences	A. CAMOIN		
Maître de Conférences	A. CHAFAIE		
Maître de Conférences associé	I. BLANCHET		

ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE

Maître de Conférences	M. LE GALL *	*Assistant*	M. BARBERO
Maître de Conférences	J. BOHAR	*Assistant*	I. CAMBON
Maître de Conférences	J. GAUBERT	*Assistant*	D. DORISON-BACHET
Maître de Conférences	C. PHILIP-ALLIEZ	*Assistant*	L. LEVY
		Assistant	R. MATTERA
		Assistant	M. VINAÏ

56.02 PRÉVENTION - ÉPIDÉMIOLOGIE - ÉCONOMIE DE LA SANTÉ - ODONTOLOGIE LÉGALE

Professeur	B. FOTI *	*Assistant*	T. DRAUSSIN
Professeur	D. TARDIVO		

57ème SECTION :
CHIRURGIE ORALE ; PARODONTOLOGIE ; BIOLOGIE ORALE

57.01 CHIRURGIE ORALE ; PARODONTOLOGIE ; BIOLOGIE ORALE

CHIRURGIE ORALE

Maître de Conférences	P. ROCHE-POGGI*	*Assistant*	R. CASTRO
Maître de Conférences	J. H. CATHERINE	*Assistant*	M. HADJ-SAID
Maître de Conférences	D. BELLONI	*Assistant*	Y. ROMANET
Maître de Conférences	F. CAMPANA		
Maître de Conférences associé	R. LAN		

PARODONTOLOGIE

Professeur	V. MONNET-CORTI *	*Assistant*	A. BOYER
		Assistant	C. DUMAS
		Assistant	S. MELLOUL
		Assistant	L. THOLOZAN

BIOLOGIE ORALE (Responsable Pr. Imad ABOUT)

Maître de Conférences	P. LAURENT	*Assistant*	C. LE FOURNIS

58ème SECTION :
REHABILITATION ORALE

58.01 DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE, PROTHESES, FONCTION-DYSFONTION, IMAGERIE, BIOMATÉRIAUX

DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE

Professeur	F. BUKIET *	*Assistant*	B. BALLESTER
Professeur	H. TASSERY	*Assistant*	H. DE BELENET
Maître de Conférences	G. ABOUDHARAM	*Assistant*	A. DEVICTOR
Maître de Conférences	M. GUIVARC'H	*Assistant*	S. MANSOUR
Maître de Conférences	C. PIGNOLY	*Assistant*	L. MICHEL-ROLLET
Maître de Conférences	L. POMMEL	*Assistant*	V. PILLIOL
Maître de Conférences	E. TERRER		

PROTHÈSE

Professeur	M. RUQUET *	*Assistant*	N. CHAUDESAYGUES
Maître de Conférences	G. LABORDE	*Assistant*	M. DODDS
Maître de Conférences	M. LAURENT	*Assistant*	C. MANSUY-DALMAS
Maître de Conférences	G. MAILLE	*Assistant*	C. MENSE
Maître de Conférences	B.E. PRECKEL	*Assistant*	A. REPETTO
Maître de Conférences	G. STEPHAN	*Assistant*	A. SETTE
Maître de Conférences	P. TAVITIAN	*Assistant*	F. SILVESTRI
Maître de Conférences	A. TOSELLO		

FONCTION-DYSFONTION, IMAGERIE, BIOMATÉRIAUX

Professeur	J. DEJOU	*Assistant*	M. JEANY
Professeur	J. D. ORTHLIEB *		
Professeur	A. RASKIN		
Maître de Conférences	T. GIRAUD		
Maître de Conférences	A. GIRAUDEAU		
Maître de Conférences	B. JACQUOT		
Maître de Conférences	J. P. RÉ		

65ème SECTION :
BIOLOGIE CELLULAIRE

PROFESSEUR	I. ABOUT	RESPONSABLE PROFIL BIOLOGIE ORALE

* Responsable Profile

A Monsieur le Président du Jury,

A Madame et Messieurs
les Membres du Jury,

A Monsieur le Président du jury,

Monsieur le Professeur Bruno Foti,

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant de présider le Jury de cette thèse.
Je n'oublierai pas les conseils donnés et les cours sur un pan de la chirurgie dentaire qui m'était totalement inconnu.
Veuillez trouver ici l'expression la plus sincère de mon estime et de mon profond respect.

Aux Membres du Jury de thèse,

Monsieur le Professeur Hervé Tassery, Directeur de thèse,

Je vous suis très reconnaissant de m'avoir proposé ce sujet de thèse porté sur la clinique et la recherche.
Merci de votre bonne humeur permanente, de votre gentillesse et de votre bienveillance à toute épreuve, sans oublier votre côté « gilet jaune », certes proche de l'extrémisme, mais au combien rafraichissant. Merci également de nous transmettre votre approche de la dentisterie conservatrice et votre excellence clinique dans l'application de ces préceptes.
Veuillez recevoir ici le témoignage de ma gratitude la plus sincère et de mon respect le plus profond.

Madame le Docteur Delphine Tardivo,

Je tiens à vous remercier pour la spontanéité et la gentillesse avec laquelle vous avez accepté de faire partie de ce Jury.
Merci pour votre disponibilité et votre bienveillance envers moi tout au long de mes études. Je n'oublierai pas un certain message imprimé sur un t-shirt un jour d'examen qui me fait encore rire aujourd'hui.
Veuillez recevoir ici le témoignage de ma profonde sympathie.

Monsieur le Docteur Benoît Ballester,

Je tiens déjà à vous remercier pour avoir accepté de participer au Jury de cette thèse.
Je pense que je ne pourrai pas trouver les mots pour vous remercier de tout ce que vous m'avez apporté pendant ces années d'étude. Evidemment, je vous remercie pour votre disponibilité, votre bienveillance, votre gentillesse et votre pédagogie. Merci de m'avoir transmis votre passion pour le collage et pour la dentisterie en général. Merci pour votre confiance, vos conseils et votre aide en clinique.
Veuillez recevoir ici le témoignage de ma gratitude, de mon respect et de ma sympathie.

Table des matières

Introduction…… 1

Partie 1 : Le biofilm bactérien de la cavité orale et lésions carieuses…… 3
1) **Généralités**…… 3
a) Définition……. 3
b) Lésion carieuse et biofilm…… 4
c) Diversité et structure du biofilm……... 5
2) **Composition du biofilm oral**…… 8
a) Les bactéries du biofilm……... 8
b) Matrice extracellulaire…….. 10
b-1) Composition…….. 10
b-2) Initiation de la matrice extracellulaire sur les surfaces dentaires…….. 11
b-3) Rôles de la matrice extracellulaire…… 13
3) **Formation du biofilm carieux**……. 16
a) Compétition bactérienne, influence du milieu…….. 17
a-1) Avantages des bactéries non cariogéniques…….. 17
a-2) « Guerre » chimique entre les souches bactériennes…… 18
a-3) Déséquilibre vers le processus carieux……. 19
b) Coopération cellulaire, vers une baisse de la diversité du biofilm... 20
b-1) Exemple de synergie entre espèces bactériennes…….. 21
b-2) Exemple de synergie entre bactéries et espèces non-bactériennes……. 22
4) **Stratégies thérapeutiques**……. 25
a) Favoriser le métabolisme de l'arginine……. 25
b) Utilisation de nanoparticules……... 26

Partie 2 : Méthode de détection du risque carieux individuel……... 28
1) **Classification ICDAS (International Caries Detection and Assessment System)**…….. 28
2) **Risque carieux individuel (RCI)**…….. 30
3) **Mesure de l'ATP comme moyen de détection du risque carieux individuel**……... 32
a) Hypothèse de travail……. 32
b) Technique de mesure d'ATP, utilisation du « 2 MIN UNIT-ORAL® » de l'institut Clinident……... 32
c) Protocole……... 35
4) **Test de validation**…….. 36
a) Cas d'une parodontite agressive (Mme DF)……... 36
b) Cas d'une lésion carieuse (Mme S)…… 44

Conclusion……... 49
Annexe 1…….. A
Annexe 2…….. B
Table des illustrations…… C
Bibliographie……... I

Introduction :

Les différentes pathologies dentaires comme les maladies carieuses ou parodontales ont toutes une composante ou une origine bactérienne. L'environnement buccal est propice au développement de micro-organismes de part son apport continuel en nutriments (repas), ainsi qu'une humidité et une température constantes. Le microbiote intra-buccal est composé de nombreux micro-organismes comme par exemple des protozoaires, des bactéries, des champignons dont des levures. Parmi ceux-ci, les plus retrouvés, tant en nombre qu'en variété, sont les bactéries. Elles sont retrouvées dans toutes les localisations du milieu intra-buccal, les tissus mous, les tissus durs et la salive. Il est à noter que certaines bactéries seront localisées spécifiquement alors que d'autres se retrouverons dans l'ensemble de la cavité[1,2].

La recherche scientifique a pendant longtemps étudié les souches bactériennes à l'aide de système de mise en culture dans des milieux liquides récoltant ainsi des informations sur des populations au mode de vie planctonique. Cela a permis d'identifier de nombreuses espèces bactériennes et de mieux comprendre leur mode de reproduction et leur métabolisme. Mais cette vision du « mode de vie bactérien » n'est le reflet que d'une partie de la réalité biologique. En effet, dans la nature ou au sein de notre bouche, les bactéries se regroupent et adhèrent à des éléments solides formant ainsi des communautés multicellulaires. Cette organisation permet notamment une résistance vis à vis du monde extérieur cruciale à la survie des espèces dans un milieu pouvant devenir hostile. Cette coopération bactérienne forme une structure appelée biofilm. La physiologie des bactéries au sein de ce biofilm diffère de celle observée pour les individus en suspension et il est donc important de mieux comprendre les interconnexions biologiques entre espèces et les processus de régulation de ces structures[3].

En effet, ce biofilm bien organisé est à la source des pathologies dentaires qu'elles soient carieuses ou parodontales. Le manque de compréhension, mais surtout le manque d'outils techniques permettant au clinicien de pouvoir analyser de manière rapide et simple ce biofilm, est un problème majeur. Le praticien s'en remet donc à des outils subjectifs comme l'hygiène globale du patient, son âge ou pour les

parodontites une profondeur de sondage à un instant *t* où il est difficile d'apprécier la dynamique de la perte d'attache. Le clinicien va mettre en œuvre une thérapeutique sans prendre en compte l'origine du problème c'est-à-dire le biofilm, sa constitution, son métabolisme, son organisation ; tout ce qui finalement définit le risque carieux ou le risque parodontal du patient. Cela conduit à des pratiques basées sur les habitudes du praticien ou de protocoles établis comme c'est le cas de la thérapeutique initiale en parodontologie. Il faut donc progresser sur la mise en place de technologies qui permettraient au praticien de pouvoir évaluer une situation clinique avec un maximum d'éléments. Au vue de la complexité des techniques d'identification bactérienne (PCR, *Next Generation Sequencing*, microscopie à fluorescence), il peut être important non pas de s'intéresser à la présence de telles ou telles espèces, mais plutôt d'évaluer l'activité bactérienne dans son ensemble sur un site donné, potentiellement pathologique ou présentant une pathologie avancée, dans le but de prédire l'évolution de la pathologie et donc sa gravité. Le praticien pourrait ainsi choisir la thérapeutique la plus adaptée au terrain clinique. Si on prend le cas d'une lésion carieuse ne touchant que l'émail chez un sujet sain, une activité bactérienne peu importante orientera le praticien vers un geste non invasif tel qu'une fluoration, alors que si l'activité bactérienne est importante un geste plus invasif (nettoyage mécanique suivit d'une reconstruction avec un matériau) pourrait être envisagé. La dentisterie micro-invasive, basée sur une économie tissulaire maximale, pourrait bénéficier de cet outil de décision. Ainsi, plutôt que de se baser sur des aspects qualitatifs comme c'est le cas actuellement avec les différentes classifications existantes, le clinicien pourrait se baser sur une quantification bien plus rigoureuse. La facilité de mise en œuvre de ce type de diagnostic pourrait alors uniformiser les traitements de type micro-invasifs et donc baisser de manière significative les surtraitements bien trop souvent retrouvés aujourd'hui[2].

Partie 1 : Le biofilm bactérien de la cavité orale et lésions carieuses

Le biofilm bactérien est à l'origine d'un grand nombre de problèmes majeurs en terme de santé publique. En effet, il est par exemple responsable d'infections croisées en se développant sur des appareillages médicaux, d'endocardites infectieuses lorsqu'il se fixe sur des prothèses cardiaques, de caries et de parodontites au niveau buccal[4]. Nous allons ici nous intéresser plus particulièrement à la formation de biofilm sur les surfaces dentaires conduisant à la création de lésions carieuses.

La maladie carieuse est une maladie bactérienne multifactorielle, chronique qui peut conduire à la destruction localisée de l'émail, de la dentine et du cément par l'activité métabolique du biofilm bactérien[5]. Au niveau mondial et selon l'OMS, 60 à 90% des enfants scolarisés et 100% des adultes ont ou ont eu au cours de leur vie des caries[6]. Récemment, Frencken JE. et collaborateur ont publié une revue de littérature sur l'épidémiologie des caries dentaires et des parodontites sévères. Ils se sont principalement intéressés à la prévalence de lésions carieuses non-traitées en excluant donc les caries ayant déjà été traitées chez les patients. Leur étude montre que, de manière globale, environ 35% de la population mondiale adulte possède une ou plusieurs caries non-traitées[7]. Cette étude corrobore d'autres publications montrant que 2,4 milliards de personnes sont atteintes de caries non-traitées touchant des dents permanentes et 621 millions d'enfants possèdent des caries non traitées sur des dents temporaires[8].

1) Généralités

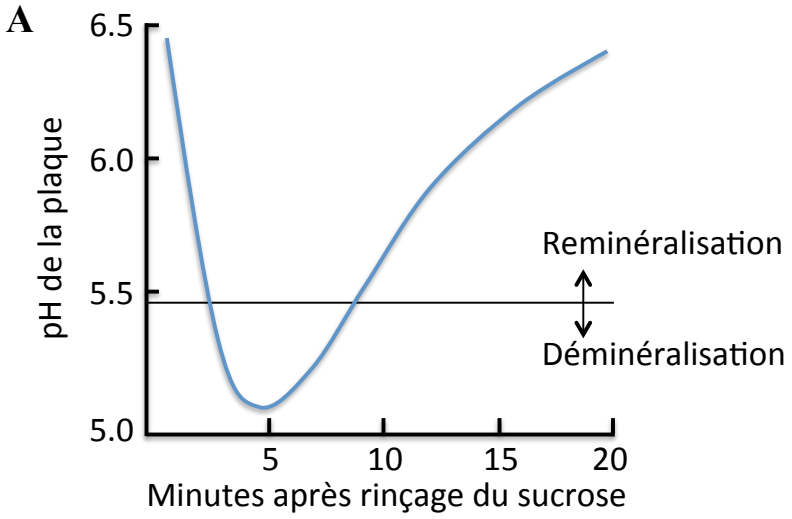
a) Définition

Le biofilm oral est une communauté polymicrobienne organisée de manière fonctionnelle et structurelle au sein d'une matrice extracellulaire composée de substances polymériques extracellulaires (EPS) se trouvant sur les surfaces dentaires et muqueuses[2].

b) Lésion carieuse et biofilm

Une lésion carieuse est induite par l'activité microbienne du biofilm qui entraine une acidification locale du milieu. En milieu acide, l'émail est dissoute donnant alors ce que l'on appelle une carie ou une cavité carieuse. Au sein de la cavité buccale, le pH est régulé par la salive qui possède une forte capacité tampon. Pour établir un processus carieux, le biofilm doit s'isoler de la salive. Ceci est possible via la création d'une matrice extracellulaire que nous décrirons par la suite[9].

La courbe de Stephan, publiée en 1944, montre la variation du pH suite à l'ingestion de glucose. Cette courbe démontre d'une part la production d'acide au sein de la cavité buccale suite à une prise alimentaire, mais également le pouvoir tampon important de la salive ***(Figure 1A)***[10]. Les techniques actuelles de détection de variation de pH ont montré une grande disparité de la valeur du pH au sein du biofilm, donnée notamment mise en évidence par Xiao J. et collaborateurs via l'utilisation d'une sonde fluorescente sensible aux variations de pH ***(Figure 1B)***[11]. Ceci suggère que la composition du biofilm (microorganismes et matrice) varie d'un endroit à un autre sur les surfaces dentaires et donc qu'au sein de ces structures des zones propices aux lésions carieuses peuvent exister.



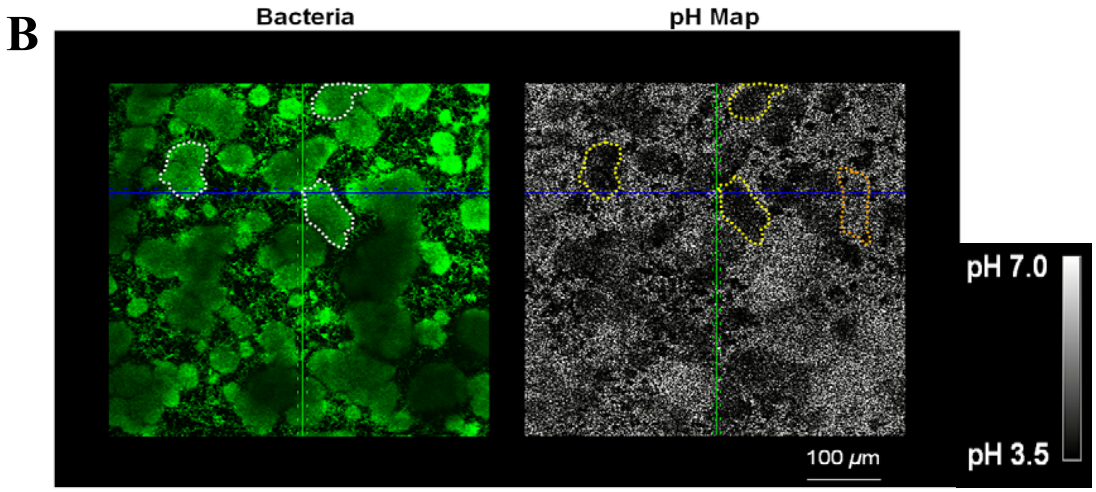


***Figure 1 :* Lien entre pH, déminéralisation de l'émail, prise alimentaire et composition du biofilm.** *(d'après Bowen W., 2013 et Xiao j. et al., 2012)*
A**. Courbe de Stephan. Variation du pH en fonction du temps après ingestion de sucrose puis rinçage. Une zone critique de déminéralisation de l'émail est présente pour des valeurs de pH passant en-dessous de 5,5.* ***B. *Vue aérienne d'un biofilm bactérien in vitro. Panel de gauche : Vue des colonies bactériennes présentes par fluorescence. Panel de droite : Le pH est mesuré via une sonde fluorescente (Lysosensor yellow/blue). les zones en blanc correspondent à un pH d'environ 7 alors que les zones sombres de 3,5.*
Barres = 100µm

c) Diversité et structure du biofilm

Le biofilm oral présente une riche diversité à différents points de vue.

- Diversité de substrat : le biofilm peut se développer sur un grand nombre de surfaces. Au sein de la cavité buccale, tous les tissus sont colonisés (tissus dures et tissus mous).

- Diversité de composition : le biofilm oral varie grandement par sa composition. En effet un nombre important de microorganismes est retrouvé au sein de la cavité buccale.

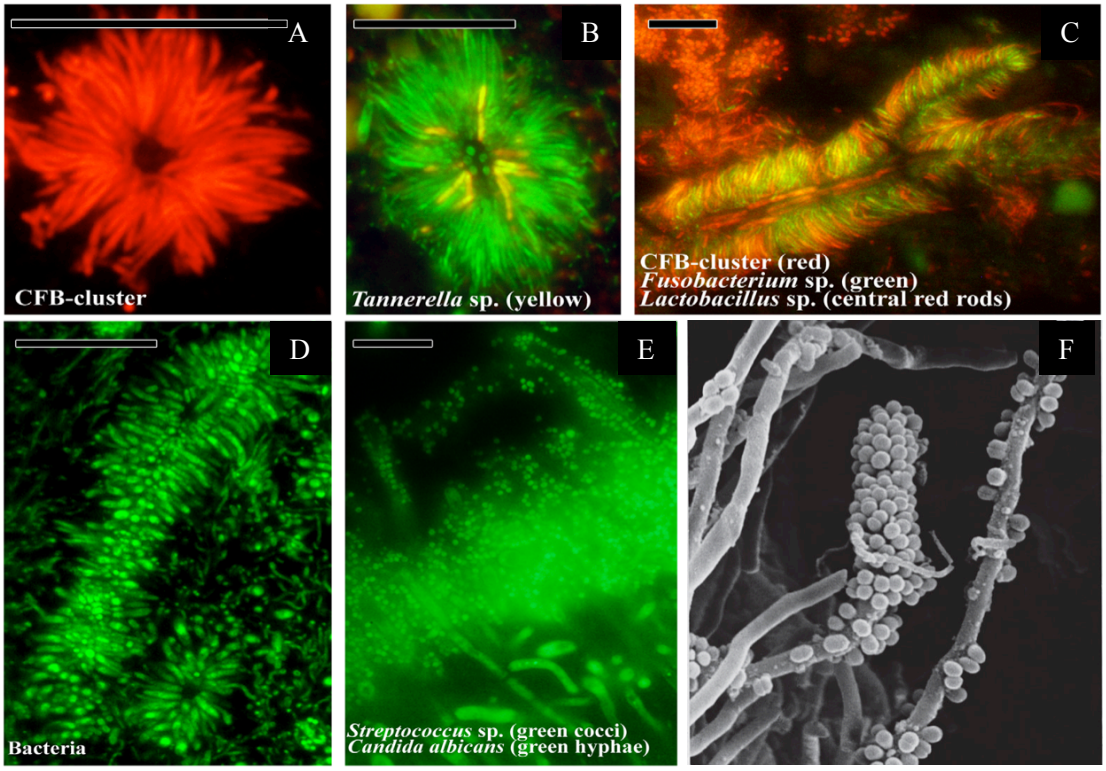
- Diversité de forme : la forme du biofilm varie en fonction du substrat, de sa composition et des forces physiques qui lui sont appliquées. Par exemple, la forme du biofilm créée par *Bacillus subtilis* variera *in vitro* en fonction de la concentration d'agar utilisée pour former le substrat **(*Figure 2*)**[12].

0.8% 1% 1.5% 2%

Figure 2 : Hétérogénéité de structure du biofilm en fonction du substrat.
(d'après Branda S. et al.,2006)
Colonies de Bacillus subtilis en culture sur des substrats ayant des concentrations croissantes d'agar.

Au niveau microscopique, les microorganismes s'organisent de manière spécifique afin de créer des architectures caractéristiques. Les techniques de microscopie comme le FISH (= *Fluorescent in situ hybridization*) qui se sert de sondes d'oligonucléotides liées à une molécule fluorescente capable de reconnaitre de manière spécifique une séquence d'ARN ou d'ADN, permettent d'apprécier l'organisation bactérienne, mais également d'identifier l'espèce bactérienne de manière plus ou moins précise en fonction de la séquence choisie. On peut alors caractériser l'architecture formée sur les surfaces dentaires en fonction des espèces et de leurs interactions intercellulaires **(*Figure 3*)**[13]. Les auteurs nous montrent ici deux types d'organisation. Sur les figures 3A-D, on peut observer une architecture en forme d'écouvillon avec une structure centrale composé d'un type bactérien (*Lactobacille*) et les poils de cet écouvillon formés d'autres espèces (ex : *Fusobacterium nucleatum*) ***(Figure 3C)***. La vue transversale de cet agencement rappelle une sorte d'organisation en pétales de fleurs ***(Figure 3A, 3B)***. La figure 3E s'intéresse à l'organisation non pas entre deux espèces bactériennes, mais entre deux microorganismes différents : des bactéries (*Streptococcus)* et levures (*Candida albicans)*. On voit ici apparaître un agencement en forme d'épis de maïs. Cette structure est aussi retrouvée lors de l'agrégation entre des *Streptococcus* et *Fusobacterium* visualisée en microscopie électronique à balayage ***(Figure 3F)***[14].

Ces différentes architectures démontrent une communication intercellulaire et une coopération entre différents microorganismes afin qu'ils s'organisent entre eux.



***<u>Figure 3 :</u>* Hétérogénéité d'organisation des microorganismes en fonction des espèces au sein de la plaque dentaire.** *(d'après Zijnge V. et al., 2010 et Larsen T. & Fiehn NE., 2017)*
*<u>Microscopie optique</u> : **A**. Vue transversale d'une organisation en écouvillon des bactéries reconnues par une sonde d'oligonucléotides spécifique de certaines espèces Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides (CFB) **B.** Vue transversale d'une organisation en écouvillon des bactéries de l'espèce Tannerella. **C.** Vue longitudinale d'une organisation en écouvillon avec au centre l'espèce Lactobacillus et à l'extérieur les espèces Fusobacterium et CFB. **D**. Vue transversale et longitudinale d'une organisation en écouvillon utilisant une sonde non spécifique d'espèces bactériennes. **E.** Vue transversale de l'organisation en épis de maïs formée par les bactéries de type Streptococcus (cellules rondes) et les levures de type Candida albicans (filaments).*
Barres = 10µm
*<u>Microscopie électronique à balayage</u> : **F.** Coagrégation entre Streptococcus (cellules rondes) et Fusobacterium (filaments) formant une structure en épis de maïs.*

2) Composition du biofilm oral

Le biofilm oral est divisé en deux parties, l'une que l'on peut qualifier de « vivante » composée des microorganismes (bactéries, levures, etc.) et d'une partie « non-vivante » constituée d'une matrice extracellulaire notamment formée par des substances polymériques extracellulaires (EPS). Cette matrice produite par les microorganismes joue le rôle d'échafaudage multifonctionnel permettant, par exemple, une meilleure adhésion, une communication ou encore une protection vis-à-vis de l'environnement[15].

a) Les bactéries du biofilm

Le microbiote composant le biofilm oral est très variable et complexe. Grâce aux nouvelles méthodes d'identification basées sur la biologie moléculaire (*Next-Generation Sequencing*), des centaines d'espèces bactériennes ont pu être identifiées que ce soit sur dents saines ou sur dents affectées[16,17]. Il apparaît également que la maladie carieuse n'est pas dépendante d'un seul pathogène comme cela avait notamment été décrit pour *Streptococcus mutans*. Cette souche bactérienne joue un rôle dans l'initiation du processus carieux, mais ne peut être tenue pour seule responsable de ce phénomène[16]. Le développement d'une carie est un procédé faisant intervenir de multiples microorganismes agissant de manière synergique. De plus, en fonction de l'environnement, de l'hôte et du régime alimentaire, les espèces bactériennes impliquées dans le processus carieux peuvent être différentes. Ainsi, la maladie carieuse est une maladie polymicrobienne. Il est donc impossible de décrire de manière exhaustive le microbiote induisant une pathologie carieuse. Le diagnostic se basant sur une recherche systématique d'espèces spécifique est par conséquent impossible.

Un site internet du nom de « Human Oral Microbiome Database » (www.homd.org) est dédié à centraliser l'ensemble des informations publiées sur l'identification des espèces bactériennes retrouvées au sein des voies aérodigestives humaines. On y apprend que la communauté bactérienne aérodigestive est majoritairement représentée par 6 phylum (regroupant 94% des espèces détectées):

Firmicutes, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes* et *Fusobacteria*[18].

Parmi ces grandes familles de bactéries certaines sont présentes au cours du processus carieux car elles produisent de grandes quantités d'acide et se multiplient dans un environnement au pH bas. Ces bactéries seraient de type cariogénique car elles favorisent la déminéralisation du tissu dentaire. À l'opposé, certaines espèces bactériennes ont des propriétés leur permettant d'augmenter le pH via la production de composés alcalins et de cibler les bactéries cariogéniques via la sécrétion de certaines toxines. Ces bactéries vont donc être favorables à la reminéralisation des tissus dentaires. Cependant, ces dernières sont très sensibles aux variations de pH et meurent lorsque le pH s'acidifie[15]. Il existe un équilibre entre les populations bactériennes au sein du biofilm, ce qui conduit à une balance physiologique entre minéralisation et déminéralisation des tissus dentaires. Ce phénomène est décrit comme l'hypothèse écologique de la plaque dentaire ***(Figure 4)***[19]. Cet équilibre est chaque jour rompu lors de la prise alimentaire. La quantité de sucres (carbohydrates) ingérée par le sujet va avoir un impact sur l'acidification de l'environnement et donc sur la sélection de certaines souches bactériennes cariogéniques qui pourront se retrouver en majorité au sein du biofilm, et ainsi favoriser le développement de la pathologie. Cette hypothèse tend à démontrer que la diversité bactérienne au sein du biofilm diminue au cours du processus carieux avec une spécialisation des bactéries au sein du biofilm devenu pathogènique[15].

Parmi les bactéries cariogéniques, on retrouve les espèces *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus* qui ont longtemps été reconnues comme les pathogènes responsables du processus carieux. Cette hypothèse a depuis été remise en cause par l'absence de ces souches au sein de certaines lésions[20,21]. Il est néanmoins évident que, de part leur propriétés (production d'acide, capacité à survivre en milieu acide), elles peuvent et vont dans certains cas jouer un rôle prépondérant dans le processus carieux. Cependant, d'autres souches bactériennes ont maintenant été mises en évidence sur les sites carieux comme *Veillonella*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Actinomyces*, *Atopobium*[20]. Nous verrons que certaines de ces bactéries possèdent également des propriétés leur permettant d'engendrer localement un processus carieux.

En parallèle de la multiplication de certaines espèces bactériennes dites cariogènes, d'autres bactéries disparaissent des sites pathologiques lors d'analyses sur

dents atteintes. C'est le cas d'espèces comme *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus cristatus*, *Capnocytophaga gingivalis*[21].

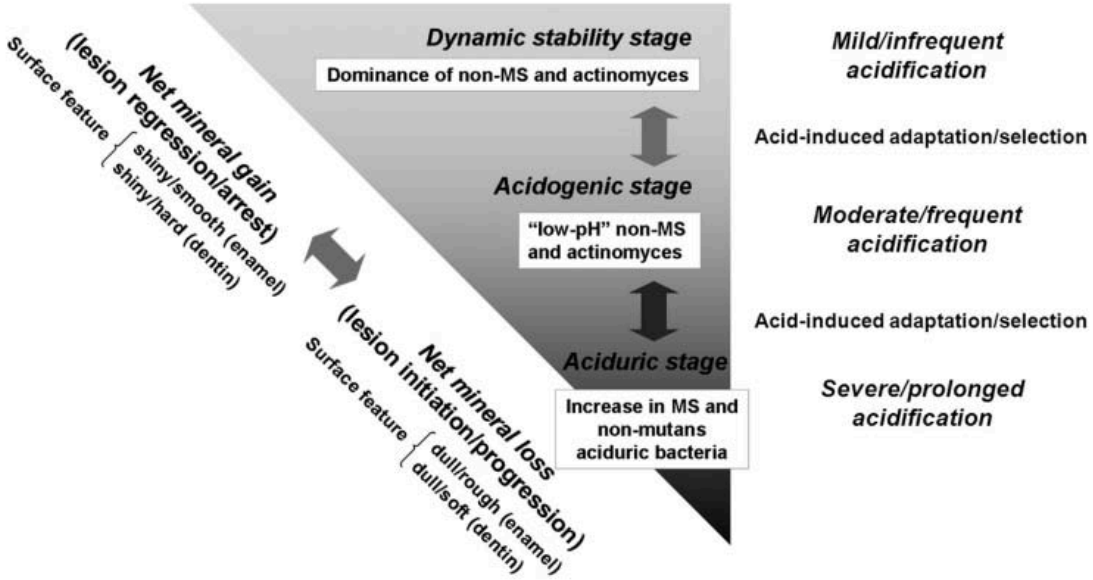


***Figure 4 :* Hypothèse écologique de la plaque dentaire et du développement carieux.** *(d'après Takahashi N. & Nyvad B., 2011)*
Le biofilm bactérien est un écosystème dynamique qui à l'état de stabilité est dominé par des souches bactériennes non-cariogéniques (Streptococci non-mutans et Actinomyces). L'acidification du milieu suite à la prise alimentaire induit une sélection des souches bactériennes qui conduit à l'augmentation d'espèces cariogéniques comme Streptococcus mutans. Cette balance conduit à la déminéralisation ou à la reminéralisation des tissus dentaires.

b) Matrice extracellulaire

b-1) Composition

Comme nous l'avons déjà mentionné, la matrice extracellulaire est composée de substances polymériques extracellulaires (EPS) comprenant des exopolysaccharides, des protéines, des lipides, des acides nucléiques (ADN extracellulaire) et des lipooligosaccharides[22]. Les constituants majeurs de la matrice extracellulaire sont les polysaccharides produits à partir du sucrose de l'alimentation par des enzymes bactériennes secrétées, les glucosyltransférases (Gtfs). Ces Gtfs sont produites par quelques microorganismes tels que *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces* et *Lactobacillus*. Elles sont retrouvées au sein

de toute la cavité buccale et notamment dans la salive où leur activité est élevée. Les Gtfs les plus étudiées et dont on est certain qu'elles participent au processus carieux sont celles synthétisées par *S. mutans*[22,23]. Il a même été proposé d'utiliser ces enzymes comme marqueur de risque carieux étant donné la forte corrélation entre l'activité des Gtfs et les caries cliniquement présentes[24].

Les Gtfs libérées dans le milieu buccal ont la capacité de se fixer soit aux surfaces dentaires, soit à d'autres microorganismes. Elles sont donc retrouvées dans la globalité des constituants buccaux : salive, surfaces dentaires et au sein du biofilm bactérien[22,23].

b-2) Initiation de la matrice extracellulaire sur les surfaces dentaires

Dans la cavité buccale, les surfaces dentaires sont recouvertes d'une fine pellicule de quelques centaines de nanomètres[25]. Ce film naturel et non-pathologique est majoritairement composé de protéines et peptides provenant des glandes salivaires, de la muqueuse orale, du fluide sulculaire et de microorganismes[26]. C'est la première surface qui doit être colonisé par les bactéries afin de créer le biofilm. Seules quelques bactéries ont la capacité de s'y fixer (certains *Streptocoques* et *Actinomyces*) et dans des proportions limitées.

L'adhésion des microorganismes, ainsi que la production de polysaccharides à la surface dentaire semble être corrélée à la présence de Gtfs que nous avons préalablement évoquées. Ces enzymes sont capables de se lier à la pellicule recouvrant l'émail.

Si plusieurs modes de recrutement des microorganismes aux surfaces dentaires existent ; les Gtfs semblent jouer un rôle central. Ces différents modes sont les suivants :

(1) Liaison directe entre la pellicule protéique et la bactérie, mais ce mode d'adhésion est sélectif et quantitativement faible.

(2) les Gtfs adhérent à cette surface et peuvent permettre l'adhésion directe de microorganismes.

(3) les Gtfs adsorbées synthétisent localement une matrice extracellulaire de polysaccharides à partir du sucrose de l'alimentation, permettant ainsi l'adhésion d'un grand nombre de microorganismes différents.

(4) les Gtfs se lient à l'α-amylase qui est une protéine endogène de la salive. Celle-ci peut se lier aux surfaces dentaires et faire ainsi partie de la couche pelliculaire. L'α-amylase peut alors former un complexe protéique avec une *amylase-binding-protein* synthétisée par *Streptococcus gordonii* et les Gtfs produites par *Streptococcus mutans*[27] qui permet le recrutement des microorganismes.

Toutes ses solutions conduisent à l'initiation d'un biofilm à la surface dentaire ***(Figure 5)***[23].

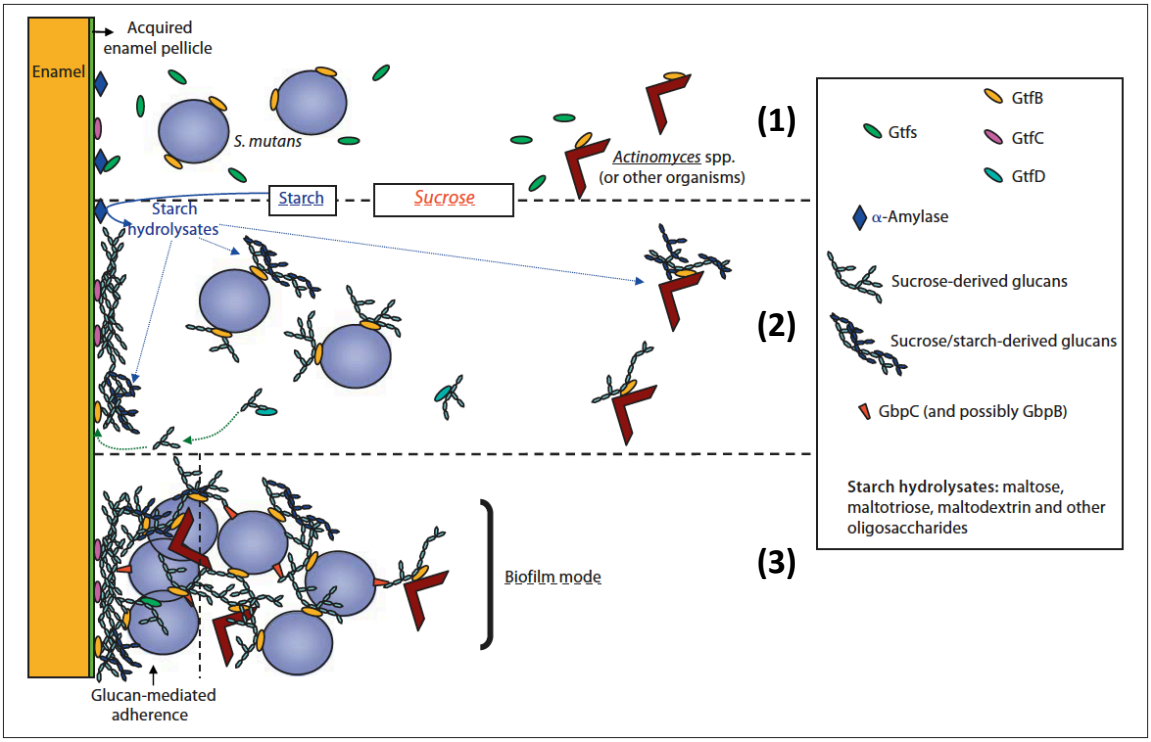


***Figure 5* : Modes de développement de la matrice extracellulaire à partir du film pelliculaire à la surface de l'émail.** *(d'après Bowen WH. & Koo H., 2011)*

(1) *La surface protéique pelliculaire localisée sur l'émail dentaire peut contenir des enzymes comme l'α-amylase et des glucosyltransférases (Gtfs). Ces deux familles d'enzymes peuvent interagir l'une avec l'autre. Les Gtfs produites par S. mutans peuvent se lier à des microorganismes n'ayant pas la capacité de les produire comme Actinomyces.* ***(2)*** *En présence de sucrose, les Gtfs forment les glycanes et ainsi débute la formation de la matrice extracellulaire.* ***(3)*** *Cette nouvelle structure de polysaccharides va favoriser l'agencement des microorganismes et donc l'initiation du biofilm bactérien à la surface des dents.*

GtfB, C et D sont des sous familles de Gtfs ayant des fonctions différentes. GbpC et B sont des protéines pouvant se fixer aux Gtfs.

Si la couche pelliculaire semble être le point de départ de la formation du biofilm, celle-ci semble également posséder des fonctions intéressantes dans la lutte contre la maladie carieuse. En effet, à travers une approche protéomique dans le but d'identifier les composants des surfaces dentaires, Siqueira WL. et collaborateurs ont classé les protéines reconnues selon leur rôle biologique. 15,5% de celles-ci seraient impliquées dans la reminéralisation de l'émail notamment la famille des calgranulines qui possèdent des domaines de liaison au calcium. 11,3% sont impliquées dans la réponse immunitaire innée ou acquise. Enfin 8,3% ont une activité antimicrobienne, dont la famille des cystatines ou des lysozymes[28]. Cette myriade de protéines pourrait donc représentée la première ligne de défense contre la maladie carieuse.

b-3) Rôles de la matrice extracellulaire ***(Figure 6)***

Comme nous venons de le voir, la matrice extracellulaire permet l'initiation de l'adhésion des microorganismes aux surfaces dentaires. À première vue, c'est une structure formée d'un amas de protéines et de polysaccharides sur laquelle le microbiote oral vient s'établir. Mais ce n'est pas tout, la matrice a un rôle prépondérant dans le développement, le maintien et également la virulence du biofilm[22,29].

Ces rôles sont les suivants :

- Adhésion : comme nous venons d'en discuter, la matrice extracellulaire permet l'initiation de l'adhésion des premiers pathogènes aux surfaces dentaires.

- Agrégation/cohésion : l'adhérence de nouveaux microorganismes sur le biofilm ainsi que leur cohésion physique avec le reste du microbiote requiert une matrice bien organisée. Les composés impliqués dans cette adjonction de nouvelles cellules sont les mêmes que ceux impliqués dans l'adhésion primaire.

- Rétention : la matrice extracellulaire permet la rétention de nombreux éléments vitaux pour les bactéries. L'eau est une première ressource indispensable à la survie des espèces bactériennes. Les nutriments en sont une autre, la capture d'éléments (ions, sucres, etc.) et leur rétention sont indispensables aux microorganismes pour survivre lorsque le milieu extérieur s'appauvrit. Des enzymes extracellulaires sont également retrouvées en grand nombre au sein de la matrice permettant ainsi une pré digestion des nutriments ou une transformation de ceux–ci permettant leur utilisation par les microorganismes.

- Résistance face aux agressions chimiques : le rôle de filtre de la matrice extracellulaire est particulièrement important pour créer une résistance vis à vis des molécules antibiotiques ou de l'immunité de l'hôte. Elle agit de différentes façons : (1) en réduisant la pénétration de l'agent au sein du biofilm, rôle de barrière ; (2) en activant au sein des cellules touchées une réponse adaptative au stress occasionné, rôle dans la signalisation ; enfin, (3) en permettant une hétérogénéité physiologique des populations composant le biofilm et ainsi favoriser la présence de souches résistantes. Une combinaison de ces facteurs de résistance peut ainsi intervenir lors du dépôt d'un composé antibiotique sur un biofilm. En effet, la diffusion lente de celui-ci au sein de la matrice de part son rôle de barrière peut permettre aux bactéries de s'adapter (rôle dans la signalisation) ou de se mettre en dormance énergétique (hétérogénéité des populations)[30].

- Création de niches spécifiques : la matrice extracellulaire favorise l'élaboration de niches au sein du biofilm, c'est-à-dire un microenvironnement. Dans le cas de la formation d'une carie, il s'agit de l'acidification du milieu. La niche cariogénique va permettre la sélection locale de souches bactériennes favorisant une amplification du phénomène acide. La spécialisation locale des types bactériens conduit à une modification locale de la matrice extracellulaire modifiée via l'adjonction de glycanes insolubles par exemple. La modification de la matrice conduit à une spécialisation de son rôle de filtre sélectif vis-à-vis du milieu extérieur avec un recrutement de nutriments comme le sucrose et une imperméabilité augmentée face au pouvoir tampon de la salive[11,15,31]. Cette création de niches spécifiques est une propriété fondamentale dans le processus carieux car elle favorise la virulence du biofilm.

- Dispersion/Colonisation : le biofilm est en perpétuel remaniement induisant ainsi une variation de sa composition cellulaire. Ce remaniement nécessite une destruction de la matrice extracellulaire. Les souches bactériennes peuvent secrétées des enzymes de dégradation de la matrice comme l'alginate lyase ou la glycosyle hydrolase Ps1G. Ce phénomène s'accompagne donc d'une dispersion, c'est à dire la fuite de microorganismes du biofilm dans le but de coloniser d'autres sites. Cet événement se passe régulièrement au niveau du biofilm et peut être du soit à des signaux intercellulaires soit à des signaux de l'environnement[32].

- Résistance physique : la matrice offre à ces « habitants » une protection tant sur le plan chimique (déjà mentionné ci-dessus) que sur le plan physique. Les stress

physiques subis par le biofilm localisé sur les surfaces dentaires au sein de la cavité orale sont représentés par les mouvements de la langue, des joues, le flux de liquide naturel (salive et alimentation) et le brossage biquotidien. Ces forces extérieures appliquées sur le biofilm vont façonner ses propriétés physiques telles que sa viscoélasticité, sa morphologie et sa composition chimique[33]. Cette dernière influence drastiquement les propriétés physiques du biofilm. L'ADN extracellulaire (ADNe) présent dans la matrice en est un exemple. Peterson BW. et collaborateurs ont étudié la relation entre la présence d'ADNe au sein du biofilm et son influence sur le phénomène de relaxation qui suit la mise en pression physique du biofilm. Ils démontrent que l'ADNe joue un rôle dans ce phénomène physique[34]. Ceci démontre que chaque élément de la matrice intervient de manière spécifique dans les propriétés physiques du biofilm. Il est à noter que les types de souches bactériennes présentes au sein du biofilm ne vont pas toutes excréter les mêmes constituants de la matrice extracellulaire. Ainsi, les microorganismes du biofilm produisent une matrice avec des propriétés mécaniques spécifiques. Dans le cas d'un changement environnemental, et donc de la survenue d'un stress mécanique particulier, le biofilm pourrait ne pas être adapté aux nouvelles forces qui lui sont imposées. Et ainsi, la composition du biofilm (microorganismes et matrice extracellulaire) pourrait être totalement bouleversée menant à une sélection naturelle des espèces capables de produire qualitativement et quantitativement un ou des composant(s) de la matrice en adéquation avec le nouveau stress[29].

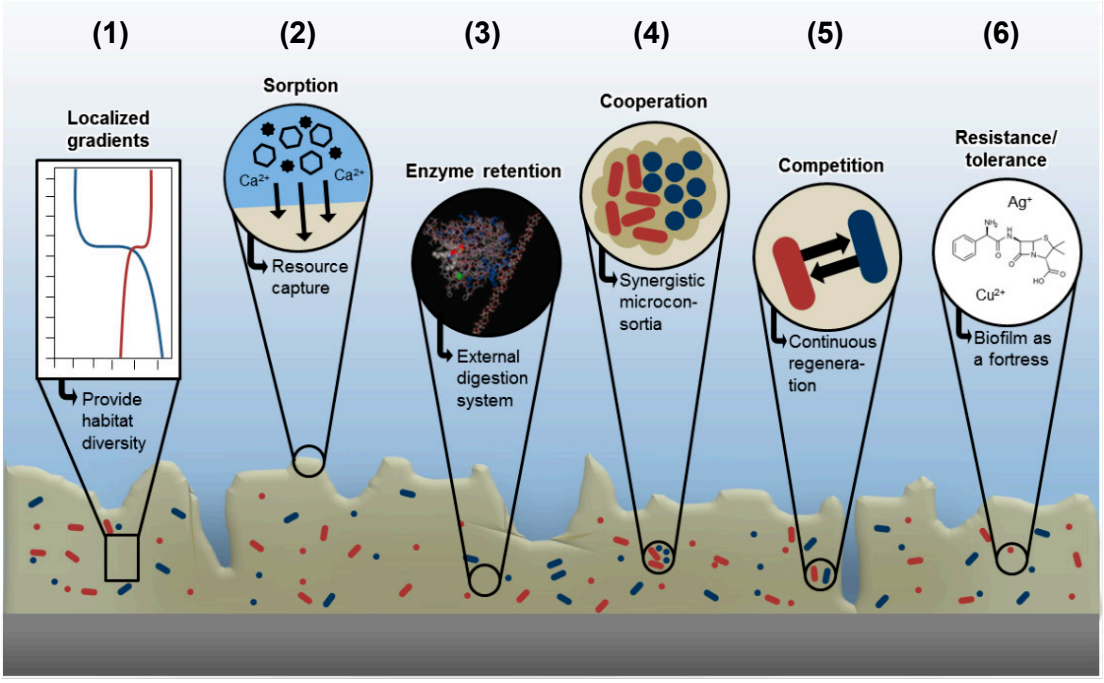


***Figure 6* : Schématisation de certains rôles de la matrice extracellulaire.** *(d'après Flemming HC., 2016)*
(1) *Création de gradients localisés de différents composants ou de pH permettant la formation de niches bactériennes spécifiques.* ***(2)*** *Capture et rétention de composés/nutriments.* ***(3)*** *Rétention d'enzymes permettant une digestion externe des nutriments.* ***(4)*** *Coopération entre les microorganismes facilitée par la matrice via par exemple la création de niches.* ***(5)*** *Compétition entre microorganismes par exemple pour une même niche.* ***(6)*** *Résistance du biofilm vis-à-vis des contraintes physiques et chimiques.*

3) Formation du biofilm carieux *(Figure 8)*

Nous venons de décrire le biofilm dans sa structure et sa composition au niveau de la cavité orale. Nous avons également discuté de la matrice extracellulaire et de son initiation au niveau des surfaces dentaires. Les propriétés de cette matrice nous font mieux comprendre l'aspect dynamique du biofilm qui est sans cesse en renouvellement. Nous allons donc discuter ici comment le biofilm qui se constitue peut engendrer une lésion carieuse capable de détruire l'émail dentaire. Tout commence par les étapes d'initiation de la matrice au niveau de la pellicule de protéines située à la surface de l'émail que nous avons préalablement décrite ***(Figure 5)***. Il s'en suit une compétition entre les espèces cariogéniques et non-cariogéniques (voir ci-dessus) pour coloniser le milieu.

a) Compétition bactérienne, influence du milieu

a-1) Avantages des bactéries non cariogéniques

Comme nous l'avons déjà discuté, les bactéries non cariogéniques ont de nombreux avantages lorsqu'il s'agit de survivre en milieu non acide. Ces souches ont une capacité de prolifération supérieure aux bactéries cariogéniques qui leur permet de coloniser un milieu plus rapidement. De plus, elles adhèrent de manière plus efficace à la pellicule protéique retrouvée sur les surfaces dentaires créant ainsi un biofilm sain.

Une propriété très intéressante de ces bactéries est de produire des composés basiques afin de maintenir au sein du biofilm un pH neutre et ainsi combattre les espèces acidophiles. Il existe deux modes de production de ces produits alcalins : le métabolisme de l'urée et celui de l'arginine.

L'urée, secrétée par les glandes salivaires, est retrouvée dans la cavité buccale en concentration équivalente à celle du plasma (3-10mmol/L). L'hydrolyse de l'urée par une enzyme nommée uréase d'origine bactérienne conduit à la production de CO_2 et d'ammoniac (NH_3). Cette base faible peut capter un ion H^+ pour créer l'ammonium (NH_4^+) et ainsi réduire l'acidité ambiante. Les bactéries capables de synthétiser l'uréase sont peu nombreuses : *Streptococcus salivarius*, *Actinomyces naeslundii* et certaines souches spécifiques[35].

L'arginine est également retrouvée de manière abondante dans la cavité orale (50 µmol/L). Il existe plusieurs voies de dégradation de l'arginine par les bactéries. L'une des plus retrouvée est le système de l'arginine déiminase (SAD). L'arginine catabolisée par cette voie conduit à la création d'ornithine, de CO_2, d'ammoniaque et d'adénosine triphosphate (ATP). Comme pour le métabolisme de l'urée, l'ammoniac créé peut alcaliniser le milieu. Ce catabolisme de l'arginine donne également un avantage énergétique aux bactéries utilisant cette voie via la génération de molécules d'ATP. Les bactéries pouvant utiliser l'arginine sont plus nombreuses que celles codant l'uréase, on retrouve notamment *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus gordonii*, certains lactobacilles et *Actinomyces*[35].

a-2) « Guerre » chimique entre les souches bactériennes

Les souches bactériennes au sein du biofilm se livrent une guerre sans merci pour l'acquisition de niches où elles peuvent se développer. Elles ont ainsi développé des systèmes d'attaque et de défense perfectionnés. Un des exemples de cette bataille livrée entre souches bactériennes a été décrit par le groupe de Jens Kreth qui s'est intéressé au trio de streptocoques : *S. sanguinis*, *S. gordonii* (deux souches anti-cariogéniques) et *S. mutans* (souche cariogénique). Ces trois souches sont capables de secréter des peptides antibiotiques, des bactériocines. Chaque molécule a un spectre d'action spécifique. Les bactériocines de *S. mutans*, appelées mutacines, sont les seules à pouvoir inhiber la croissance des deux autres souches lui procurant donc un avantage majeur. La production des bactériocines est dépendante de la densité cellulaire. Plus la densité est importante, plus la production de molécules est importante. Ainsi, *S. mutans* est un compétiteur très agressif au sein du biofilm. Cependant *S. sanguinis* et *S. gordonii* peuvent contre attaquer en produisant du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui inhibe la croissance de *S. mutans*[36].

La densité cellulaire en plus d'induire la production de mutacines par *S. mutans* induit la compétence de ces bactéries. Le phénomène de compétence est défini par la capacité des bactéries à pouvoir capter de l'ADN de l'environnement pour l'utiliser au sein de leur propre génome[37]. Or, la destruction des cellules environnantes par les mutacines conduit au relargage de leur matériel génétique dans le milieu. Cet ADN pourra ainsi être recueilli par *S. mutans* dans le but d'améliorer son phénotype et potentiellement d'évoluer vers une espèce encore plus virulente.

Le système de stimulation de *S. mutans* en fonction de la densité cellulaire dépend d'un peptide extracellulaire nommé CSP (competence stimulating peptide). CSP interagit avec son récepteur (ComD) à la surface cellulaire pour induire une cascade de signalisation conduisant à la production de mutacines et à la compétence des bactéries. La souche *S. gordonii* peut inhiber cette signalisation en ciblant spécifiquement CSP. Une protéase secrétée par ces bactéries, nommée challisine, est capable de dégrader directement dans le milieu CSP et donc d'inactiver cette cascade de régulation[38]. Ce mode d'action ne semble pas être restreint à *S. gordonii*, en effet le séquençage du génome d'autres espèces bactériennes montre que des séquences similaires à celle de la challisine sont retrouvées comme c'est le cas de *S. sanguinis*[36]. De plus en plus d'études identifient des souches bactériennes ayant des systèmes

similaires afin de contrer les espèces qualifiées de cariogéniques. Ainsi, *Streptococcus A12* isolé du biofilm d'un individu sain possède des caractéristiques similaires : expression de SAD (métabolisme de l'arginine) à un niveau très élevée, production de H_2O_2 en grande quantité, sécrétion d'une protéase similaire à la challisine, inhibition de la compétence de *S. mutans* via un mécanisme d'action n'impliquant pas la challisine (un mécanisme encore non identifié serait mis en jeu)[39].

Il est à noter que toutes ces découvertes ont été obtenues *in vitro* et qu'il est difficile d'appréhender de tels mécanismes *in vivo*. Il est néanmoins évident qu'une compétition entre les nombreuses espèces vivant au sein du biofilm existe.

a-3) Déséquilibre vers le processus carieux

Nous venons de discuter du fait que les souches bactériennes non cariogènes composant le biofilm possèdent des caractéristiques permettant de maintenir un biofilm sain et limiter le processus carieux. Cependant, les bactéries dites cariogènes ont une faculté à s'adapter aux stress extérieurs bien supérieur aux souches non cariogènes. L'environnement va donc influencer de manière prépondérante la survie et la prolifération de ces cellules. Le type d'apport alimentaire et notamment une forte quantité de carbohydrates favorise le développement des souches bactériennes cariogènes, car elles sont mieux adaptées à ce type de nutriments. *S. mutans* possède de nombreux mécanismes lui permettant de métaboliser les carbohydrates mais surtout de répondre efficacement aux stress extérieurs[40,41]. Le stress environnemental le plus important pour les cellules du biofilm est la chute du pH, passant de la neutralité à 4 ou moins en 2 à 3 minutes suivant l'ingestion massive de carbohydrates. Il a été montré que la plupart des souches bactériennes non cariogènes avait du mal à s'adapter à un changement aussi brutal[42,43]. En effet, leur croissance s'arrête pour des valeurs de pH de 6 à 5,5 et elles sont rapidement tuées à un pH de 4. Par contre, les espèces cariogènes comme *S. mutans* ou certains lactobacilles ont une réponse plus adaptée au stress acide et vont donc pouvoir survivre. *S. mutans* mets par exemple en place une gamme importante de réponses au stress acide[40,41] :

- <u>Imperméabilisation</u> : la membrane des cellules va s'enrichir en acides gras insaturés afin de la rendre plus imperméable aux ions H^+. La production d'une matrice extracellulaire par les bactéries plus dense permet une captation des protons qui a pour but de conditionner les cellules au futur stress acide à venir.

- Maintenance d'un cytoplasme neutre : *S. mutans* possède des ATPases de type F, qui sont des pompes à protons inversées. L'ATP est ici hydrolysé pour pomper les protons en dehors du cytoplasme et ainsi le maintenir à un pH neutre. Les F-ATPases de *S. mutans* ont la particularité d'être actives même à des valeurs de pH faible alors que chez d'autres espèces ce n'est pas le cas. De plus, *S. mutans* possède la voie du métabolisme de l'arginine au niveau de son cytoplasme dans le but de produire de l'ammoniac qui capte les protons.

- Réparation de l'ADN et protection des protéines : en milieu acide, *S. mutans* synthétise des enzymes spécifiques de la réparation de l'ADN (recA, uvrA, smx…) qui se retrouverait endommagé en milieu acide. Des protéines chaperonnes sont également produites dans le but de protéger tant les protéines que les acides nucléiques de l'acidité.

L'environnement acide représente l'élément majeur influençant l'équilibre entre les populations bactériennes au sein du biofilm. L'acidité favorise le développement des souches cariogènes et leur prévalence dans le biofilm. La génération d'acide dans le milieu est liée à la prise alimentaire et au type d'aliment ingéré. Les sucres sont les principaux responsables de la perte de l'équilibre existant entre espèces cariogènes et non cariogènes au sein du biofilm. La fréquence, la quantité, le type de sucres (le sucrose étant le plus cariogène) sont des facteurs clés dans le développement des lésions carieuses de part leur action d'acidification des biofilms.

b) Coopération cellulaire, vers une baisse de la diversité du biofilm

L'acidification du milieu liée à une prise alimentaire a une durée insuffisante pour favoriser le développement des souches cariogènes. En revanche, la multiplication des prises de produits sucrés (grignotage) favorise le processus en assurant une continuité dans l'acidification du milieu. La coopération entre les espèces cariogènes amplifie également le phénomène et conduit à la création d'un biofilm cariogène caractérisé par un environnement acide, hypoxique et riche en carbohydrates. Les souches bactériennes doivent être acidophiles et acidogèniques ce qui est le cas des streptocoques non-mutans, des actinomyces, des lactobacilles et des bifidobactéries[19]. Elles commencent à coloniser la plaque dentaire lorsque le milieu s'acidifie, parallèlement la génération de la matrice extracellulaire s'intensifie. La

production de polysaccharides augmente via la présence de Gtfs synthétisées par *S. mutans* et de nouvelles souches bactériennes capables de générer des EPS. C'est notamment le cas de *Lactobacillus reuteri* qui possède deux enzymes (4,6-a-glycantransferase et glycansucrase) capables de produire des polysaccharides à partir de sucrose[44]. La matrice extracellulaire remaniée et quantitativement augmentée procure alors des niches spécifiques fournissant un microenvironnement propice aux bactéries cariogènes.

b-1) Exemple de synergie entre espèces bactériennes

Les bactéries anaérobies de type *Veilllonella* sont étroitement liées à la présence de lésions carieuses notamment au niveau des caries précoces de l'enfant[45]. Ces bactéries ne catabolisent pas les sucres comme peuvent le faire les streptocoques, mais utilisent la fermentation d'acides organiques comme l'acide lactique. Au sein du biofilm, les streptocoques en produisent de manière importante. Les souches *Veillonella* vont donc se nourrir des déchets d'autres bactéries en profitant d'un microenvironnement hypoxique. De plus il existe une cohésion physique entre ces deux espèces bactériennes[46]. Ceci suggère l'existence d'une chaine alimentaire au sein de la plaque dentaire.

Plusieurs auteurs se sont intéressés à l'effet de la croissance de biofilms constitués de souches comme *Streptococcus oralis*, *Actinomyces oris*, *Porphyromonas gingivalis, Streptococcus mutans*. L'addition dans ces biofilms de *Veillonella* conduit à une augmentation du niveau de croissance des bactéries présentes[46,47]. *Veillonella* va également promouvoir la croissance de *S. mutans* en présence d'une souche antagoniste comme *S. gordonii*[47].

Veillonella est un exemple de bactérie présente au sein des lésions carieuses n'ayant pas un rôle prépondérant dans l'acidification du milieu ou la formation de la matrice extracellulaire. Cependant son action sur la croissance des souches bactériennes acidophiles et acidogèniques semble être importante, mais le mécanisme d'action est encore mal connu.

b-2) Exemple de synergie entre bactéries et espèces non-bactériennes

Bien que les espèces bactériennes soient le plus représentées au sein du biofilm, d'autres microorganismes sont présents. C'est le cas de la levure *Candida albicans*. Elle est notamment connue pour se développer sur les prothèses amovibles et créer des pathologies fongiques de type candidose. En terme de pathologie carieuse, *C. albicans* est retrouvée en grande quantité au sein du biofilm des enfants atteints de caries précoces tout comme *Streptococcus mutans*[48]. Nous avons vu que ces deux espèces pouvaient physiquement interagir l'une avec l'autre ***(Figure 3E)***. Cette cohésion révèle en fait une coopération fonctionnelle qui conduit à une augmentation de la virulence du biofilm créé par les deux microorganismes. Ceci a été démontré *in vivo* chez le rat où des infections croisées ont été effectuées ***(Figure 7)***[49]. Des lésions sévères sont alors uniquement observées chez les rats ayant été infectés par *C. albicans* et *S. mutans* ***(Figure 7A)***. Comparativement aux animaux infectés par l'un ou l'autre des pathogènes, la co-infection montre une augmentation de la virulence du biofilm. Du point de vue moléculaire, une augmentation significative de la production d'EPS est observée. Cette synthèse se fait de plusieurs manières. D'une part *C. albicans* peut produire directement des éléments de la matrice comme des β1,3-glycanes et d'autre part elle va induire via un message extracellulaire une augmentation de production de Gtfs par les *S. mutans*. La prolifération cellulaire va être également augmentée[49,50]. Il existe donc une réelle synergie entre les deux espèces leur permettant de se développer de manière optimale.

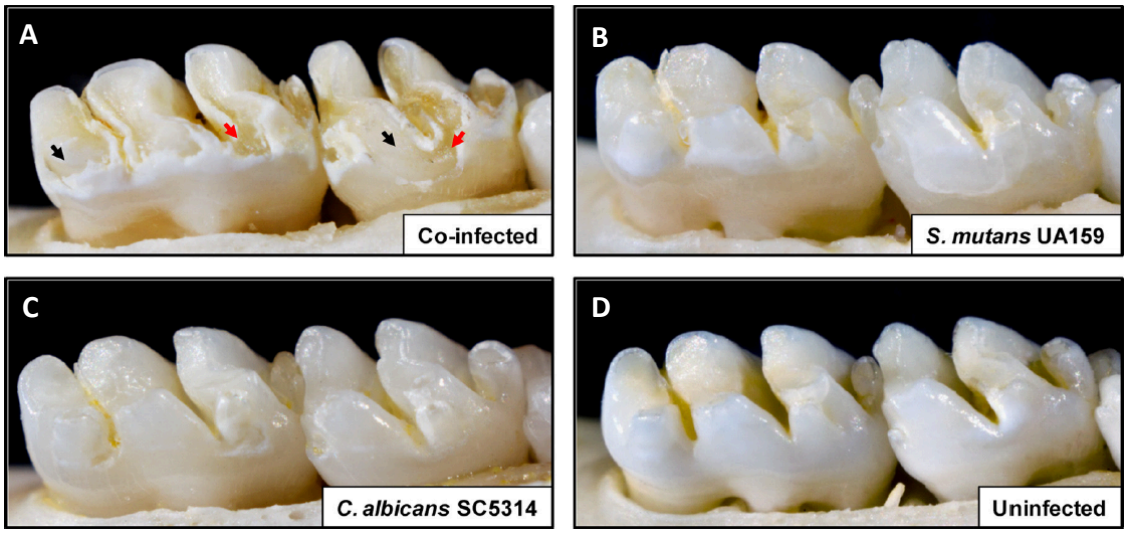


***Figure 7* : Coopération entre S. mutans et C. albicans dans la création de lésions carieuses.** *(d'après Falsetta ML. et al.,2014)*
*Photos de dents de rats infectés par C. albicans et S. mutans **(A)** ou S. mutans seul **(B)** ou C. albicans seule **(C)** ou non infectés **(D)** pendant 2 semaines. Les animaux co-infectés présentent des caries modérées à sévères (flèches noires) et des caries plus avancées (flèches rouges). Pour les animaux infectés avec S. mutans seul ou C. albicans seul, des lésions initiales sont observés. Les animaux non infectés montrent peu ou pas de lésions initiales.*

Nous avons donc vu comment les microorganismes entrent en compétition pour s'établir sur les surfaces dentaires. Cependant, en présence d'une alimentation basée sur des carbohydrates, les bactéries cariogènes telles que *S. mutans* ou *Lactobacillus reuteri* prennent le pas sur l'équilibre du biofilm et colonisent alors l'émail. Une augmentation qualitative et quantitative de la matrice extracellulaire conduit à un isolement de l'émail vis-à-vis du milieu extérieur et donc de la salive et des autres espèces bactériennes non-cariogènes. Il se passe alors une amplification du phénomène acide locale via l'augmentation du nombre de microorganismes acidophiles et acidogéniques conduisant donc à un effondrement de l'émail et une pénétration dans la dentine sous-jacente.

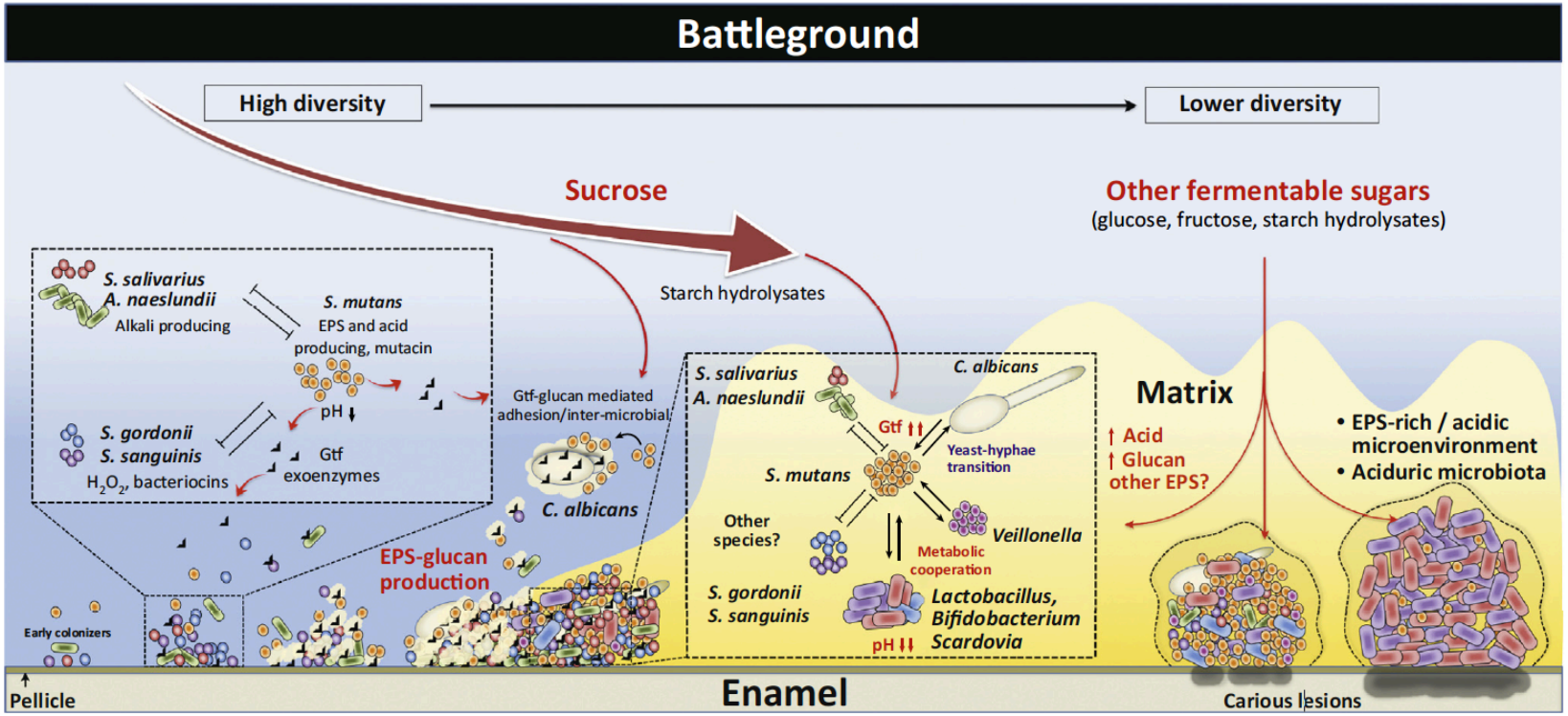


Figure 8 : ***Représentation de la dynamique des interactions synergiques et antagonistes entre microorganismes pour aboutir à la formation d'un biofilm cariogène induisant des lésions carieuses .*** *(d'après Bowen WH. et al., 2018)*

4) Stratégies thérapeutiques

Nous avons vu à quel point le biofilm formé sur les surfaces dentaires est organisé et résistant aux attaques extérieures grâce à la formation d'une matrice extracellulaire. En terme de thérapeutique, les antibiotiques ou antiseptiques utilisés ont du mal à pénétrer le biofilm et quand ils le peuvent, l'acidité ambiante créée par les bactéries réduit leur efficacité. De plus, l'application de composés à la surface du biofilm est souvent inefficace en raison de la clairance importante au niveau de la cavité buccale. La chlorhexidine (CHX) en est un exemple, les charges négatives des EPS (substances polymériques extracellulaires) interagissent avec les charges positives de la CHX limitant sa pénétration dans le biofilm et donc son activité bactéricide. Le temps d'exposition doit être assez long pour pouvoir agir sur les couches profondes du biofilm. Des études sur du biofilm *in vitro* montrent qu'il faut environ 10 minutes d'exposition au CHX 0,2% pour observer une différence significative du niveau de viabilité des cellules[51]. Il est à noter que ce temps d'exposition ne correspond pas à un temps de bain de bouche acceptable (30 secondes). De plus la CHX ne peut être utilisée de manière quotidienne à cause de ses effets secondaires comme les colorations dentaires. Il est donc important de développer de nouveaux outils thérapeutiques à partir des connaissances que la communauté scientifique s'est forcée d'acquérir sur des décennies. Ces composés doivent être capables de pénétrer et de détruire la matrice dans le but d'éliminer les microorganismes du biofilm[52]. Nous allons ici discuter brièvement de deux stratégies pour combattre le biofilm cariogène.

a) Favoriser le métabolisme de l'arginine

Nous avons abordé précédemment le métabolisme de l'arginine retrouvé chez les bactéries non cariogéniques. La dégradation de l'arginine permet d'alcaliniser le milieu et ainsi de combattre les bactéries acidophiles. L'idée est de promouvoir ce métabolisme et donc de favoriser le développement de bactéries non cariogéniques. He J. et collaborateurs ont étudié *in vitro* l'effet de l'arginine sur un biofilm composé de *Streptococcus mutans* (cariogénique) et de *Streptococcus gordonii* (non cariogénique et arginolytique) en présence de sucrose[53]. La supplémentation en

arginine favorise le développement de *S. gordonii* et réduit la présence de *S. mutans*. Elle conduit également à une baisse significative de la production d'EPS. Le biofilm est alors quantitativement et qualitativement de moins bonne qualité. Ce traitement a un impact au niveau du métabolisme des microorganismes puisque des gènes impliqués dans la production de la matrice (*gtfB*) ou dans la sélection entre espèces (bacteriocine) sont réprimés chez *S. mutans*. Le pH retrouvé au sein du biofilm en présence d'arginine est donc logiquement supérieur à celui des expériences contrôles.

Des études cliniques ont été faites en utilisant des dentifrices à base d'arginine. Les conclusions de ces différentes études s'accordent pour montrer l'efficacité de ces produits dans la prévention de lésions carieuses. Malheureusement, toutes ces études ont été financées par des groupes pharmaceutiques, il existe donc un conflit d'intérêt majeur dans ces travaux. La communauté scientifique reconnaît que cela pourrait représenter un biais trop important remettant donc en question la conclusion de ces publications[54].

b) Utilisation de nanoparticules

L'essor récent des nanotechnologies ouvre une nouvelle ère dans le développement d'outils thérapeutiques ciblant le biofilm cariogène. L'un des exemples de l'utilisation de nanoparticules a été publié par Horev B. et collaborateurs en 2015[55]. Les auteurs se sont intéressés au concept développé en médecine de délivrer de manière spécifique une substance pharmaceutique en fonction des conditions du milieu extérieur. Dans le cas de la maladie carieuse et du biofilm, une nanoparticule sensible à des valeurs de pH pourrait délivrer un antibiotique/antiseptique spécifiquement au niveau des niches cariogènes de la matrice extracellulaire. Les cellules localisées dans ces niches seraient donc éliminées et la lésion carieuse ne pourrait s'initier. Les auteurs ont donc développé une nanoparticule ayant d'une part la capacité de transporter des éléments hydrophobes à des pH neutre (7) et de les libérer lorsque le pH s'acidifie (4,5) ; et d'autre part des propriétés d'adhésion importante sur les surfaces dentaires et sur les polysaccharides composants la matrice extracellulaire ***(Figure 9)***. L'agent antibactérien utilisé dans ces expériences est le farnésol qui a la propriété d'être hydrophobe et donc de pouvoir s'encapsuler à l'intérieur de la nanoparticule. L'efficacité du farnésol « libre » a été démontrée sur *S. mutans* en phase planctonique, par contre son action est très limitée

sur du biofilm. En revanche, le farnésol encapsulé dans les nanoparticules est 4 fois plus efficace que le farnésol non encapsulé.

La stabilité mécanique du biofilm est également fortement perturbée en présence de ces nanoparticules et peut donc être plus facilement enlevé en utilisant un stress mécanique. *In vivo*, les auteurs montrent sur des rongeurs que le traitement par nanoparticules réduit les lésions carieuses tant dans leurs sévérités que dans leurs nombres. Tous ces résultats démontrent le potentiel de cette approche dans la lutte contre les maladies carieuses.

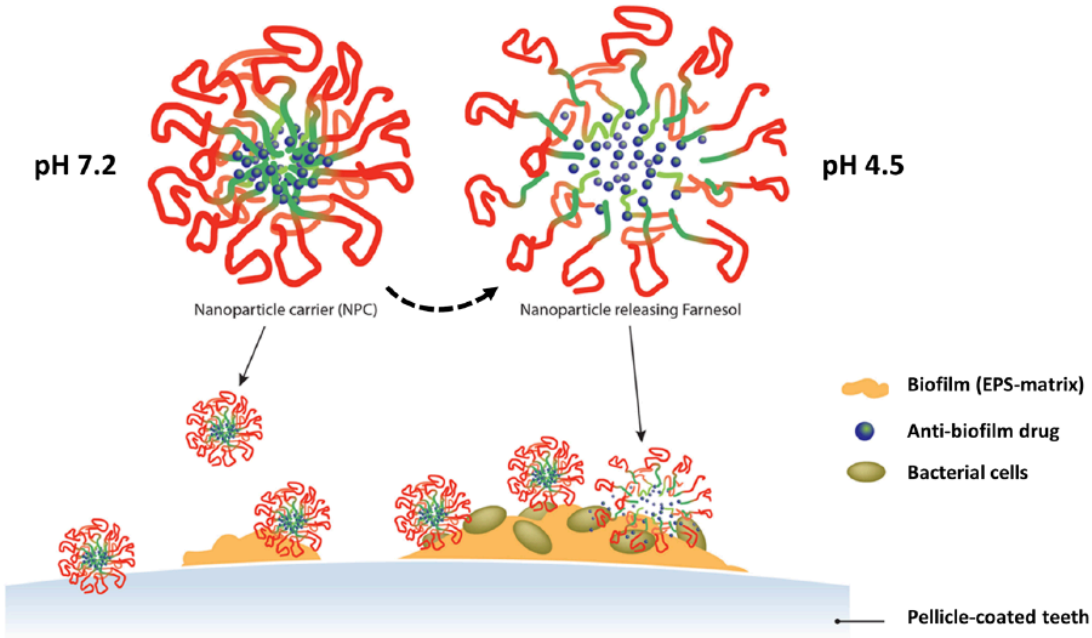


***Figure 9* : Représentation de nanoparticules transportant du Farnésol, le libérant à des pH acides, et adhérant aux surfaces dentaires et aux polysaccharides du biofilm.** *(d'après Horev B. et al., 2015)*

Partie 2 : Méthode de détection du risque carieux individuel

Nous avons discuté de l'organisation et du développement du biofilm à la surface des tissus dentaires et comment il peut induire des lésions carieuses. Nous avons également montré la complexité de ce phénomène et les multiples microorganismes qui peuvent intervenir dans l'initiation et le développement de la pathologie. Ces variations rendent complexe l'évaluation systématique de l'agressivité/l'activité des lésions carieuses chez un sujet et donc son risque carieux individuel. Or, un outil qui nous permettrait d'appréhender une telle notion apporterait un bénéfice important dans la conduite de nos traitements. Le clinicien pourrait alors, d'une part, hiérarchiser ses traitements en se basant sur une prédiction d'évolution plus ou moins rapide des lésions et, d'autre part, utiliser des techniques thérapeutiques adéquates au type de caries et au patient.

1) Classification ICDAS (International Caries Detection and Assessment System)

De nombreuses classifications des lésions carieuses ont été proposées, souvent basées sur la localisation, la topographie ou l'étendue de la lésion carieuse[56]. Afin d'y associer une notion de diagnostic, la classification ICDAS (International Caries Detection and Assessment System) a été mise en place[57,58]. Elle est basée sur un examen visuel de la lésion sur dent sèche et/ou humide après nettoyage prophylactique. On distingue alors 7 stades selon la sévérité de la lésion.

- ICDAS 0 : dent saine, pas de lésion observée après séchage d'au moins 5 secondes.
- ICDAS 1 : Opacité blanche ou brune visible après séchage prolongé. Début de changement visuel de l'émail.
- ICDAS 2 : changement visuel de l'émail. Opacité d'origine carieuse (blanche ou brune) visible sur dent non séchée. Au niveau des sillons occlusaux, ce changement de teinte apparaît plus large que le sillon.

- ICDAS 3 : perte de l'intégrité amélaire sans exposition de la dentine. Opacité nette, d'origine carieuse, blanche ou brune, visible sur dent non séchée, plus large que le sillon, avec rupture localisée de l'émail (visible après séchage). La cavité, confinée à l'émail peut être confirmée à l'aide d'une sonde à pointe boule évitant d'exercer une forte pression.
- ICDAS 4 : ombre sombre dans la dentine visible au travers de l'émail, avec ou sans rupture amélaire. Présence sur une dent non séchée d'une ombre (grise, bleutée ou brune) vue au travers de l'émail sain qui présente ou non une rupture localisée.
- ICDAS 5 : perte de substance dans un émail opaque avec exposition dentinaire. La dent non séchée présente une ombre dentinaire. Après séchage, la cavité apparaît avec des bords opaques (blancs ou bruns) déminéralisés. Si la sonde pénètre de plus de 1,5mm, la cavité atteint la dentine.
- ICDAS 6 : perte de substance au sein d'un émail opaque avec exposition dentinaire. La perte de substance atteint au moins la moitié de la face concernée. L'exposition dentinaire est visible sur les parois et le fond.

Cette classification a été mise en place dans le but de guider le clinicien sur le type de prise en charge qu'il doit effectuer et donc donner une évaluation de la progression de la lésion carieuse rencontrée. En fonction du stade de la lésion, le traitement sera plus ou moins invasif **(Figure 10)**. Ainsi, on peut voir que la prévention par des méthodes de reminéralisation ou de scellement des sillons est préconisée pour des stades ICDAS allant de 1 à 3 (carie initiale). Pour les stades ultérieurs, des techniques de diagnostic supplémentaires sont nécessaires et le traitement suit un gradient thérapeutique allant d'une dentisterie à minima jusqu'à l'extraction de la dent.

Cette classification présente un intérêt certain pour adapter la thérapeutique à l'importance de la lésion carieuse. Il a été démontré que, quelque soit le niveau du clinicien (débutant ou expérimenté), l'utilisation du système ICDAS dans la détection des stades des lésions carieuses est majoritairement conforme[59]. Par contre, le clinicien doit recevoir une formation adéquate dans le but d'utiliser de manière efficace cette classification. Cela demande donc une volonté de la part des praticiens de suivre des formations continues. Plus important encore, cette classification ne

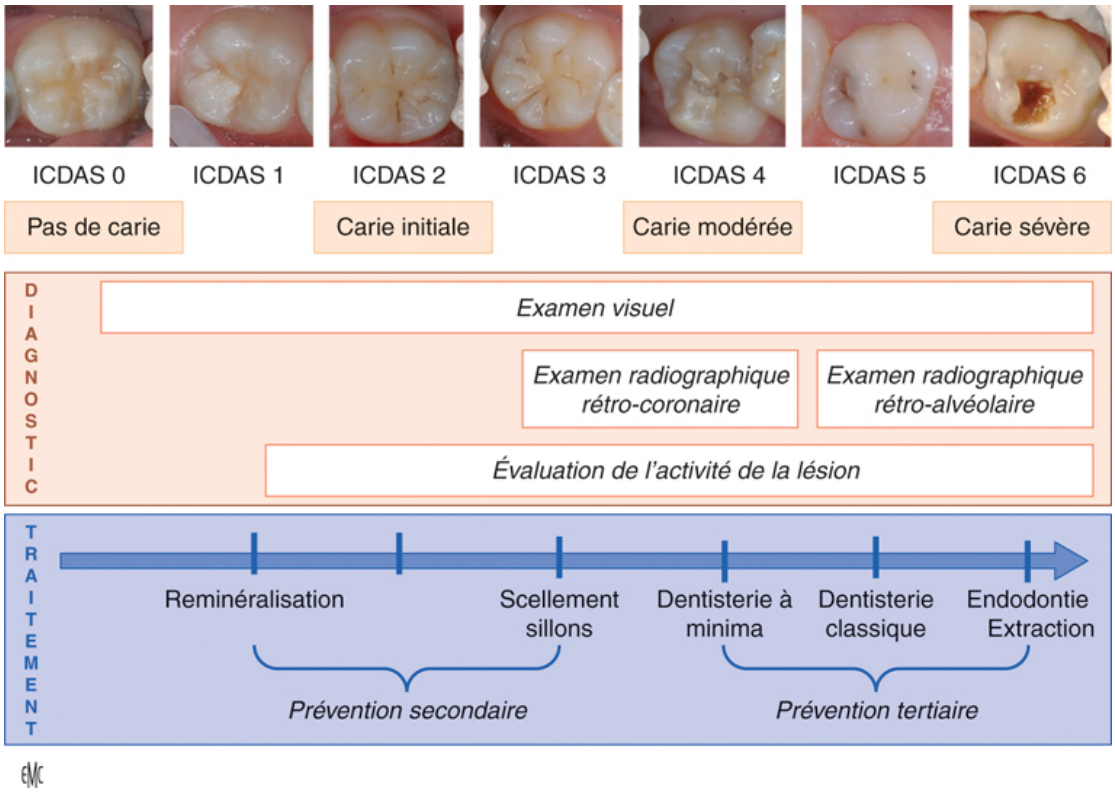


Figure 10 : Classification ICDAS (International Caries Detection and Assessment System), moyens diagnostiques et thérapeutiques. *(d'après de La Dure-Molla M. et al., 2016)*

prend pas en compte l'évolution de la lésion[59]. Or ce dernier point est crucial pour la mise en place d'une thérapeutique le plus adéquate possible.

2) Risque carieux individuel (RCI)

Il existe plusieurs modes d'évaluation du risque carieux individuel. La HAS (Haute Autorité de Santé) recommande de distinguer deux catégories de RCI, élevée ou faible, en se basant sur l'interrogatoire, l'examen clinique et le bilan radiologique[60]. La HAS établit une évaluation du RCI chez les enfants de moins de 18 ans et dans le cadre d'une recommandation des scellements des sillons des premières molaires définitives. La HAS a notamment identifié deux groupes de facteurs de risque :

- **Facteurs de risque individuels :**
  - absence de brossage quotidien avec du dentifrice fluoré

- ingestions sucrées régulières en dehors des repas ou du goûter : aliments sucrés, boissons sucrées, bonbons
- prise au long cours de médicaments sucrés ou générant une hyposialie
- sillons anfractueux au niveau des molaires
- indice de plaque auquel on peut préférer la présence de plaque visible à l'œil nu sans révélation
- présence de caries (atteinte de la dentine) et/ou de lésions initiales réversibles (atteinte de l'émail)

Si un seul de ces facteurs est présent, le patient est classé en RCI élevé.

- **Facteurs de risque collectifs :**
  - période postéruptive
  - niveau socio-économique et/ou niveau d'éducation faible de la famille
  - mauvais état de santé bucco-dentaire des parents ou de la fratrie
  - maladie et handicaps entraînant des difficultés de brossage
  - antécédents de caries
  - présence d'éléments favorisant la rétention de la plaque (restaurations défectueuses, appareils orthodontiques ou prothétiques).

Ces facteurs permettent de classer les patients dans des groupes à risque, mais ne suffisent pas à qualifier le patient de personne en RCI élevé. Dans le cas où le patient est répertorié dans un groupe à risque, une attention particulière doit être faite sur l'analyse des facteurs de risque individuels.

D'autres modes d'évaluation du risque carieux existent avec notamment les systèmes CAMBRA (Caries Managment By Risk Assessment) ou Cariogram. CAMBRA a été mis en place par l'ADA (American Dental Association). Il est formé de deux types de fiches d'évaluation en fonction de l'âge du patient (0-5 ans et plus de 6 ans). Ce système repose sur un interrogatoire et un examen clinique et radiologique. Il intègre également des examens biologiques de recherche d'espèces bactériennes (Annexe 1 et 2).

Cette évaluation du risque carieux associée à des classifications type ICDAS ont pour but d'aider le clinicien dans le choix de solutions thérapeutiques ou

préventives adaptées au patient. Malheureusement, de plus en plus de publications, notamment une étude systématique datant de 2018, démontrent les limites de ces classifications quant à l'évaluation et la prédiction du développement de la maladie carieuse chez les patients[61]. Il est donc nécessaire de développer de nouveaux outils diagnostiques pour compléter l'arsenal diagnostique des chirurgiens-dentistes.

3) Mesure de l'ATP comme moyen de détection du risque carieux individuel

a) Hypothèse de travail

Nous avons discuté d'une part de la complexité du processus carieux avec l'intervention d'un grand nombre de microorganismes différents et non spécifiques, d'autre part des outils diagnostiques existants (classification ICDAS et risque carieux) avec leurs complexités et leur biais. Tout ceci nous conduit à essayer de trouver une solution pour faciliter le diagnostic du praticien et l'accompagner dans sa prise en charge qui, aujourd'hui, doit être de plus en plus adaptée au patient.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à une vision plus globale de la maladie carieuse. En effet, une lésion est liée à une activité microbienne localisée. Nous postulons donc l'hypothèse que plus l'activité bactérienne est importante, plus l'évolution de la lésion sera importante. Cette hypothèse a déjà été formulée dans la littérature[2].

La molécule représentant le mieux l'activité métabolique des cellules chez tous les êtres vivants est l'ATP (Adénosine TriPhosphate). On peut alors espérer que la mesure du taux d'ATP dans des échantillons issus de biofilm nous indique l'activité de ce biofilm et donc l'évolution de celui-ci vers une lésion carieuse.

b) Technique de mesure d'ATP, utilisation du « 2 MIN UNIT-ORAL® » de l'institut Clinident

L'ATP peut être mesuré en utilisant un système commercialisé par l'institut Clinident, le « 2 MIN UNIT-ORAL® ». Ce kit a d'abord été mis sur le marché dans le

but de tester l'eau circulante dans les unités dentaires (fauteuils) pour détecter toutes traces de microorganismes. Le « 2 MIN UNIT-ORAL® » est composé d'un luminomètre (Kikkoman PD30) qui évalue une quantité de lumière, d'un porteur de tube s'adaptant dans le luminomètre, de deux réactifs : « 2 min Perio-analyse® » (bouchon blanc) et « Standard 1000® » (bouchon bleu), de tubes et de papiers absorbants (type endodontie).

Luminomètre Kikkoman PD30 :

Porteur de tube pour PD30 :

Réactifs / tubes / papiers absorbants:

Pointes de papier

Pipettes

Tubes

Réactifs

Le système utilise une mesure de l'intensité lumineuse générée par le système de la luciferase (enzyme issue des lucioles). Cette enzyme catalyse une réaction de bioluminescence en oxydant la luciférine en oxyluciférine en présence d'oxygène (O_2), d'ions magnésium (Mg^{2+}) et d'ATP. L'hydrolyse d'ATP en ADP s'accompagne de la production d'un photon et donc de lumière dont l'intensité peut être mesurée ***(Figure 11)***.

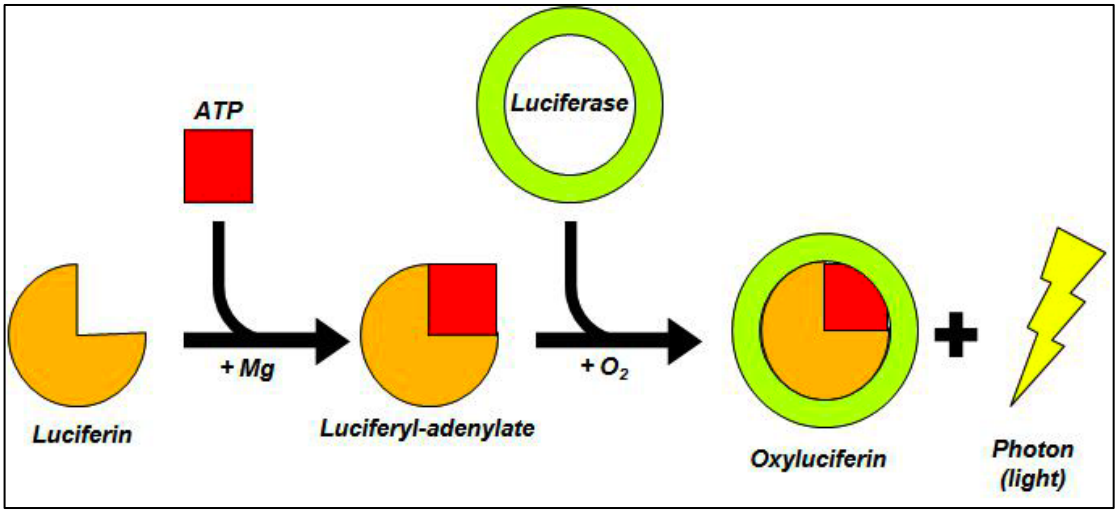


Figure 11 : Mode de détection de l'ATP basé sur la réaction enzymatique utilisant le système luciférase/luciférine et générant de la bioluminescence. *(Institut Clinident)*

c) Protocole

Le protocole du « 2 MIN UNIT-ORAL® » est simple et rapide. Au préalable utilisé pour mesurer les bactéries localisées dans les unités dentaire, le protocole a été modifié pour compter les microorganismes au sein des poches parodontales[62].

Protocole :

1. Mettre à température ambiante les réactifs (environ 20°C).
2. Allumer le luminomètre Kikkoman PD30 (temps de calibration = 10 sec).
3. Déposer 4 gouttes de réactif « 2 min Perio-analyse® » (bouchon blanc) dans le tube test prévu à cet effet.
4. À l'aide de pointes de papier, assécher la poche parodontale et placer toutes les pointes utilisées dans le tube test contenant le réactif « 2 min Perio-analyse® ».
5. Agiter le tube test contenant les pointes de papier pendant 10 secondes.
6. Retirer les pointes de papier et fixer le tube test dans le porteur de tube.
7. Placer ceux-ci dans le luminomètre et appuyer sur la touche « ENTER ».
8. Relever le résultat R1 en unité RLU (Relative Light Unit).
9. Récupérer le tube test et ajouter une goutte du réactif « Standard 1000® » (bouchon bleu)

10. Homogénéiser la solution et replacer le tube test dans le porteur de tube et dans le luminomètre. Appuyer sur la touche « ENTER ».
11. Relever le résultat R2 également en unité RLU (Relative Light Unit).
12. Entrer R1 et R2 dans l'application correspondante au « 2 MIN UNIT-ORAL® » (disponible sur smartphone) afin d'obtenir le résultat.

Le résultat obtenu donne un nombre estimé de bactéries exprimé en unité CFU (Colony Forming Unit). Ce nombre peut varier de 10^6 à 10^9 CFU par échantillon. Afin de faciliter la lecture des résultats, 4 niveaux sont représentés associés à des codes couleurs ***(Figure 12)***.

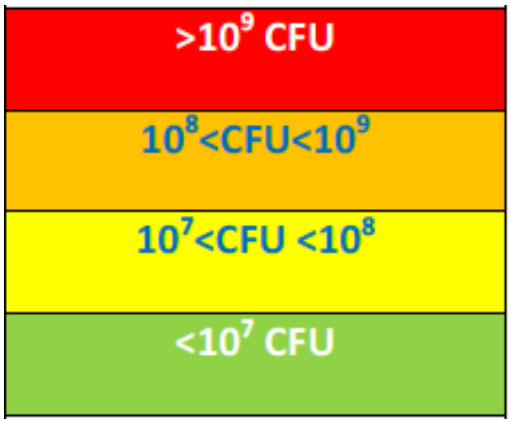


Figure 12 : Code couleur utilisé pour présenter les résultats de la quantité de bactéries (en unité CFU = Colony Forming Unit) via l'utilisation du système « 2 MIN UNIT-ORAL® ».

4) Test de validation

Nous avons testé le système « 2 MIN UNIT-ORAL® » dans le cas d'une patiente présentant une parodontite agressive et ensuite sur une lésion carieuse où le travail de recherche ne fait que commencer.

a) Cas d'une parodontite agressive

Pour débuter, nous avons choisis le cas d'une patiente atteinte d'une parodontite agressive. En effet, la simplicité de prélèvement au sein d'une poche

parodontale et la description faite dans la littérature[62] devrait nous permettre de valider l'utilisation du système « 2 MIN UNIT-ORAL® » par notre équipe.

Mme DF a 22 ans et se présente au centre de soin après avoir consulté plusieurs dentistes libéraux. Elle ne présente aucune maladie d'ordre générale et se trouve en bonne forme. Elle nous a remis sa radiographie panoramique réalisée au début de sa prise en charge ***(Figure 13)***. On peut y voir une perte osseuse importante sur les secteurs 1, 2 et 3.

Figure 13 : Radiographie panoramique de Mme DF.

Nous avons effectué un bilan parodontal montrant les pertes importantes d'attache au niveau des dents du secteur 1 et 3 ***(Figure 14)***. Les dents 24, 26 et 34 ont été extraites par nos confrères.

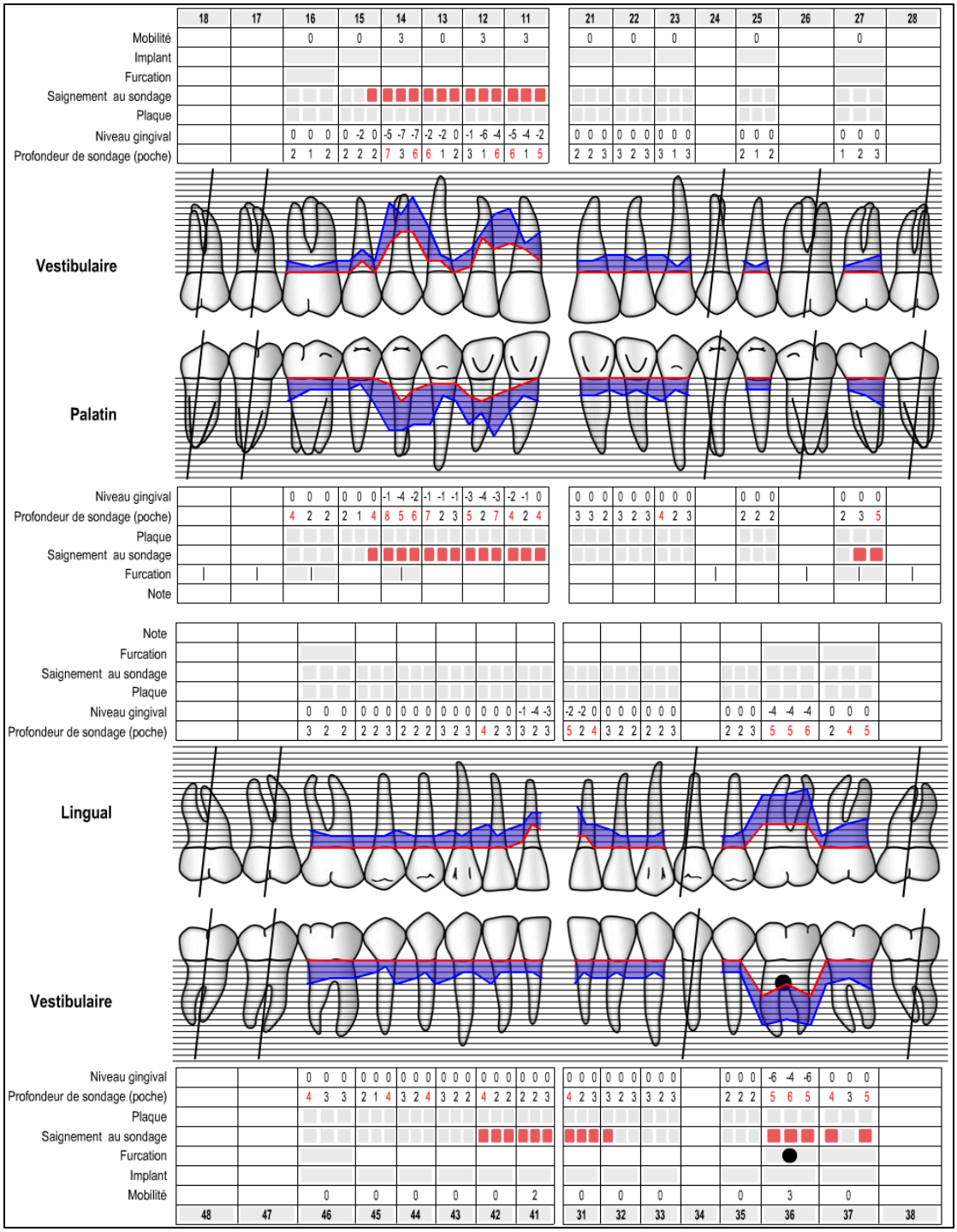


Figure 14 : Bilan parodontal de Mme DF.

Nous avons choisi des sites de prélèvement en fonction de la profondeur des poches. Les dents 14 et 11 seront étudiées, la première en mésiale où la poche parodontale atteint 6mm avec une récession de 7mm et la seconde en distale avec des valeurs de 6mm de poche et 5mm de récession ***(Figure 15A)***. Afin d'avoir une valeur

contrôle, nous ferons des prélèvements en mésiale de la dent 22 où les valeurs de sondage ne sont pas pathologiques (3mm ou moins).

En présence de révélateur de plaque ***(Figure 15B)***, on peut observer la difficulté pour la patiente de nettoyer les surfaces radiculaires et les espaces inter dentaires par rapport aux couronnes dentaires.

Figure 15 : Photos intra buccale de face de Mme DF. A. *Photo sans révélateur de plaque.* ***B.*** *Zoom sur le secteur 1 avec révélateur de plaque.*

Après une motivation à l'hygiène et l'indication du matériel adéquat, la thérapeutique mise en place consiste en un nettoyage des surfaces dentaires et des poches parodontales à l'aide d'un aéropolisseur. L'aéropolissage des surfaces dentaires permet une désorganisation du biofilm bactérien et consiste en un nettoyage à l'aide d'un mélange air, eau et poudre dont le type dépend de l'application. Par exemple pour un polissage dentaire, on utilisera de la poudre à base de glycine ayant

une granulométrie de 65µm afin de ne pas détériorer l'émail. La compagnie EMS, en plus de sa gamme d'aéropolisseur « AIR-FLOW® », vient d'innover en sortant une gamme « PERIO-FLOW® »[63]. Celle-ci est destinée au nettoyage des poches parodontales et s'appuie, d'une part, sur une poudre spécifique d'une granulométrie de 25µm préservant le cément et l'épithélium, et d'autre part, sur un embout pouvant s'insérer dans les poches parodontales et munis d'orifices avec différentes orientations. Certains de ces orifices sont horizontaux et permettent la sortie d'un mélange air-poudre qui vient nettoyer le biofilm présent sur le cément alors que l'orifice vertical éjecte de l'eau. Il se crée alors un tourbillon sous-gingival qui réduit les risques de blessure des tissus mous ***(Figure 16)***.

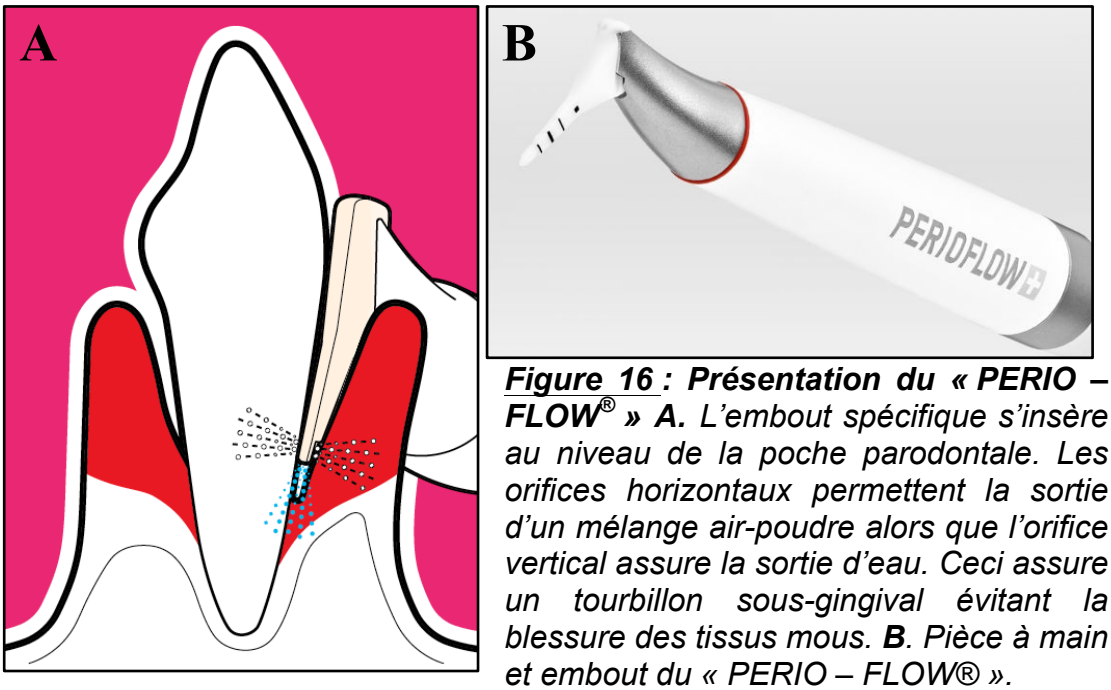


Figure 16 : Présentation du « PERIO – FLOW® » A. *L'embout spécifique s'insère au niveau de la poche parodontale. Les orifices horizontaux permettent la sortie d'un mélange air-poudre alors que l'orifice vertical assure la sortie d'eau. Ceci assure un tourbillon sous-gingival évitant la blessure des tissus mous.* ***B****. Pièce à main et embout du « PERIO – FLOW® ».*

Des prélèvements ont été effectués avant et après traitement par le « PERIO-FLOW® ». Comme décrit précédemment, des pointes de papier sont appliquées dans la poche parodontale jusqu'à assèchement de celle-ci ***(Figure 17)***.

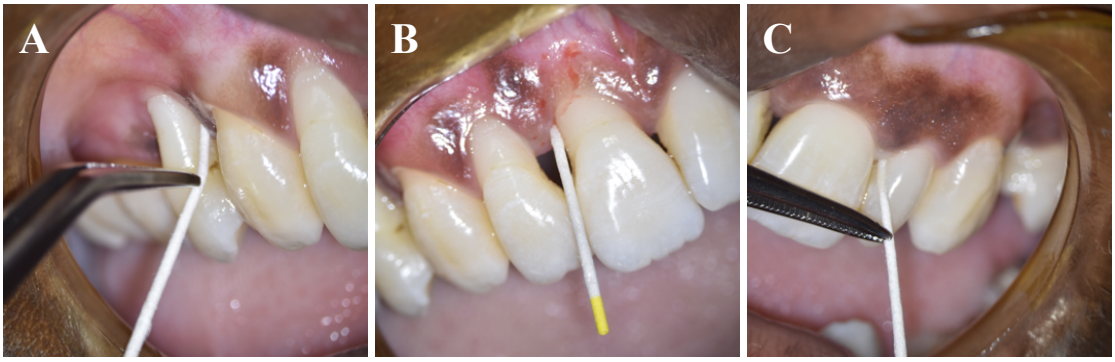


Figure 17 : Prélèvements à l'aide de pointes de papier au sein des poches parodontales de 14 et 11 et du sulcus de 22. A. *dent 14 en mésial.* ***B.*** *dent 11 en distal.* ***C.*** *dent 22 en mésial.*

Le nettoyage des poches est ensuite effectué à l'aide du « PERIO-FLOW® » ***(figure 18)***.

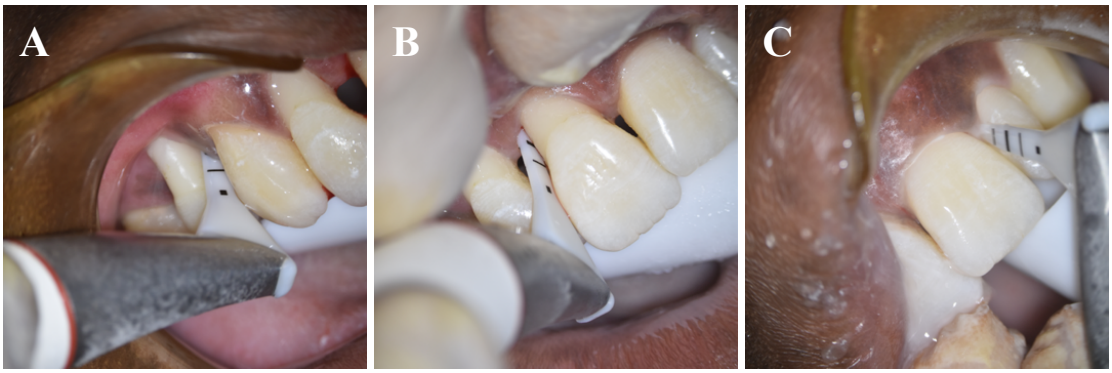


Figure 18 : Nettoyage des poches parodontales de 14 et 11 et du sulcus de 22 avec le « PERIO-FLOW® ». A. *dent 14 en mésial.* ***B.*** *dent 11 en distal.* ***C.*** *dent 22 en mésial.*

Puis, de nouveaux prélèvements sont effectués avec la même méthode utilisant les pointes de papier ***(Figure 17)*** et analysés avec le système « 2 MIN UNIT-ORAL® ». Les résultats montrent une augmentation par 2 de la quantité de bactéries après traitement des poches parodontales des dents 14 et 11. Au contraire, sur une dent sans poche et avec un sulcus de 3mm, on observe une diminution de bactéries d'un facteur 7 ***(Figure 19)***. Une explication simple de ce phénomène est la difficulté de renouvellement du contenu de la poche lorsque celle-ci est profonde. En effet, au niveau de la surface radiculaire, un biofilm très important s'est formé et est à l'origine de la maladie parodontale. La désorganisation de ce biofilm par le nettoyage au « PERIO-FLOW® » conduit à une mise en suspension des bactéries au niveau de la

poche parodontale ***(Figure 20)***. La quantité de microorganismes contenue dans le biofilm est certainement très importante impliquant un nombre de bactéries très élevé mis en suspension. La valeur accrue obtenue pour le prélèvement juste après nettoyage valide cette hypothèse. Ce résultat souligne l'importance de rincer la poche parodontale dans le but d'éliminer les bactéries que ce soit par un traitement plus long avec le « PERIO-FLOW® » ou à l'aide d'une solution antiseptique. Á l'inverse, un sulcus sain comme celui de la dent 22 que nous avons prélevé, est plus aisé à nettoyer et les bactéries en suspension seront expulsées plus facilement à l'extérieur du sulcus. De plus, on peut penser que le biofilm au niveau d'une zone saine est peu établi et contient donc moins de microorganismes.

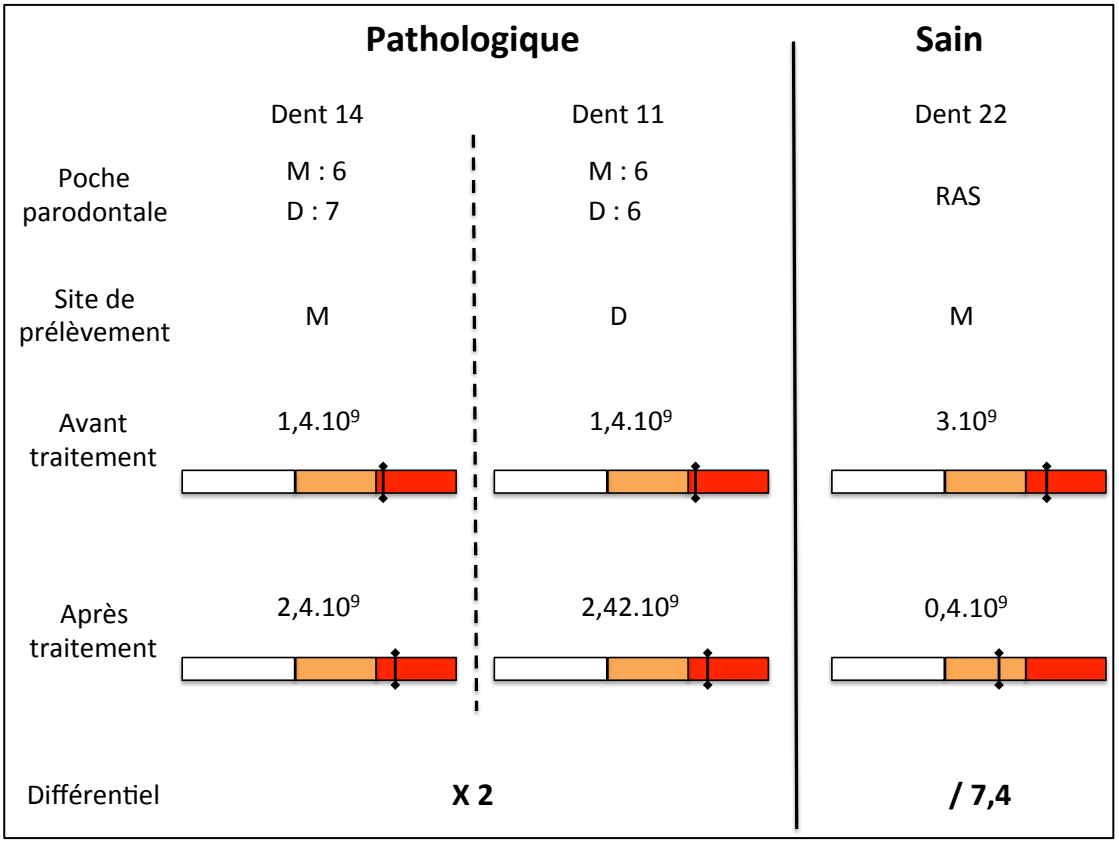


Figure 19 : Résultat des prélèvements effectués sur les dents 14 et 11 atteintes de parodontites et, sur la dent 22 saine*. M = mésial, D = distal, le nombre de bactéries est exprimé en unité CFU (Colony forming Unit).*

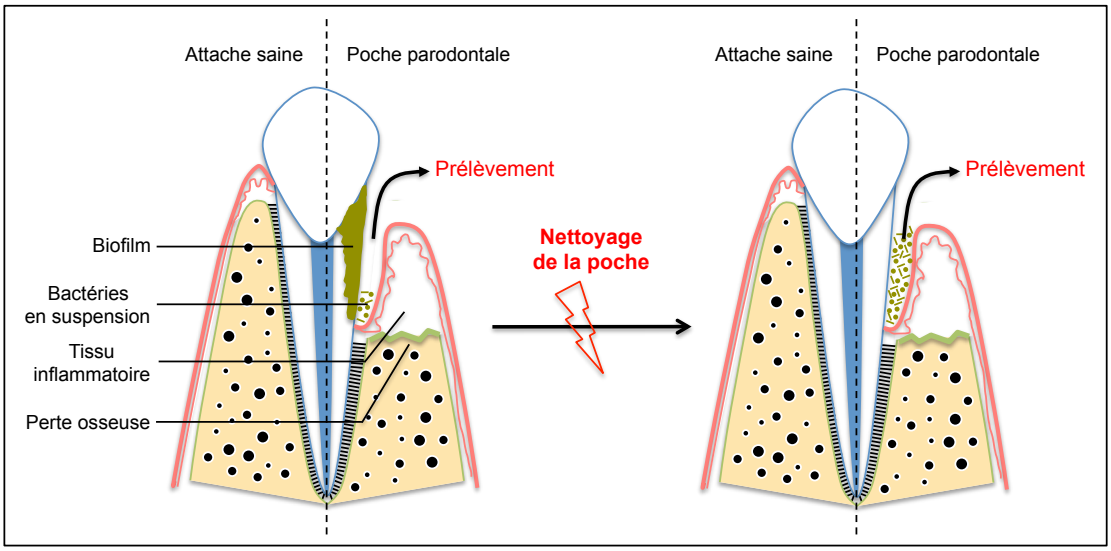


Figure 20 : Schéma représentant une poche parodontale avant et après nettoyage*. Le biofilm est ainsi détruit et les bactéries en suspension se retrouvent en plus grand nombre après le nettoyage.*

Nous avons également utilisé un prélèvement effectué avant nettoyage dans un but d'identification et de dénombrement de certaines espèces bactériennes spécifiques par des techniques de PCR quantitative. Au sein de la plaque sous-gingivale, les bactéries sont organisées en complexes et en fonction des espèces retrouvées dans ces structures, la maladie parodontale semble être plus ou moins virulente. Il est décrit 5 complexes dont le complexe catégorisé comme « rouge » formé par *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* et *Treponema denticola* dont la présence corrèle avec une profondeur de poche importante et une maladie parodontale de type agressive[64]. Il est donc intéressant de rechercher la présence de ces souches bactériennes chez notre patiente. Les résultats montrent une présence importante de deux espèces retrouvées dans le complexe rouge : *Tannerella forsythia* et *Treponema denticola.* On note également une forte concentration de *Prevotella intermedia* également typique des maladies parodontales. Il est à noter que le dénombrement global de la flore bactérienne par cette technique donne des résultats similaires au système « 2 MIN UNIT-ORAL® » ***(Figure 21).***

Agent pathogène	* Charge bactérienne	** Seuil de pathogénicité	*** Statut	**** % / Flore totale
Aggregatibacter actinomycetemcomitans	0,0E+00	1,0E+03	-	0,00
Porphyromonas gingivalis	0,0E+00	1,0E+05	-	0,00
Tannerella forsythia	2,3E+06	1,0E+05	+++	0,12
Treponema denticola	2,2E+06	1,0E+05	+++	0,12
Prevotella intermedia	2,4E+07	1,0E+05	+++	1,25
Candida albicans	0,0E+00	-	Négatif	-
Flore Bactérienne Totale	1,9E+09			

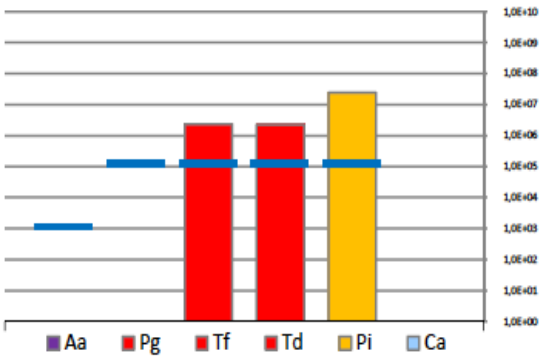


Figure 21 : Résultat de la PCR effectuée à partir du prélèvement au sein de la poche parodontale en distal de la dent 11. *La PCR montre la présence en quantité importante de deux espèces bactériennes faisant partie du complexe rouge (Tannerella Forsythia et Treponema denticola) et de Prevotella intermedia également impliquée dans les maladies parodontales. Ces bactéries sont retrouvées dans des quantités bien supérieures à leur seuil de pathogénicité. (Perio-analyse® BASIC+ Institut Clinident)*

De cette première approche dans le cadre d'une parodontite agressive, nous avons pu démontrer que le système « 2 MIN UNIT-ORAL® » semble être efficace pour mesurer la quantité de microorganismes présents au niveau d'une poche parodontale. Nous avons également montré l'efficacité du « PERIO-FLOW® » dans la destruction du biofilm au sein des poches parodontales. Nos résultats suggèrent également qu'un rinçage des poches à l'aide d'une solution antiseptique semble indispensable afin de détruire les microorganismes mis en suspension et ainsi de prévenir une reformation rapide du biofilm à l'origine de la poche parodontale.

b) Cas d'une lésion carieuse

Nous savons que le système « 2 MIN UNIT-ORAL® » semble fonctionner dans un cadre de poches parodontales, mais qu'en est-il pour une carie ? Ceci est le but de la future étude à mener afin de savoir si ce système peut être utilisé comme

outil diagnostic des lésions carieuses et de manière plus générale comme outil de détection du risque carieux du patient.

Nous avons utilisé le système « 2 MIN UNIT-ORAL® » sur une carie inter proximale où une intervention à minima a été envisagée. Mme S, 22 ans, soucieuse de sa dentition, a depuis quelques temps noté une très légère coloration de son émail au niveau de sa molaire gauche. Elle ne présente aucune sensibilité particulière. A l'examen clinique, on observe également cette coloration peu intense, mais c'est en présence de révélateur de plaque que l'on note une accumulation importante de biofilm bactérien en mésial de 26 ***(Figure 22)***. On peut également observer le biofilm présent en inter proximal et au collet de toutes les dents.

Figure 22 : Photos du secteur 2 de Mme S en présence de révélateur de plaque. *Le biofilm est présent au niveau des collets et en interproximal de toutes les dents. Une accumulation est présente en mésial de 26 où est localisée la lésion carieuse (flèche blanche).*

Une radiographie de type « bite-wing » a été réalisée ***(Figure 23)***. Sur cet examen radiologique il est très difficile d'objectiver l'étendue de la lésion voire même de détecter la présence de celle-ci.

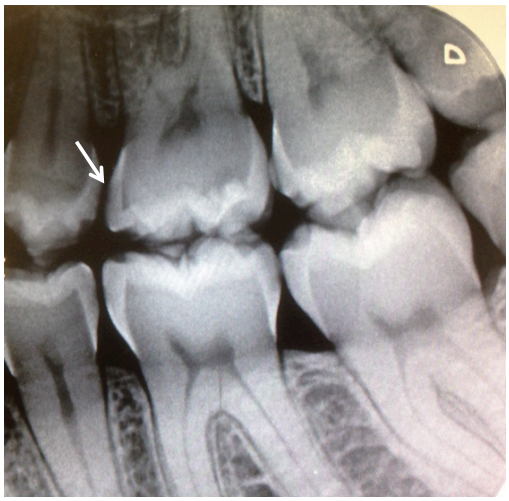


Figure 23 : Radiographie de type « bite-wing » montrant les secteurs 2 et 4 de Mme S. *La flèche blanche représente la localisation présumée de la lésion carieuse.*

Le prélèvement pour le système « 2 MIN UNIT-ORAL® » au niveau de cette lésion carieuse s'effectue à l'aide d'une microbrush. On essaie au maximum de venir frotter la région atteinte afin d'emporter un maximum de microorganismes. Cette microbrush est ensuite placée dans le tube test contenant le réactif « 2 min Perio-analyse® » et agitée pendant au moins 20 secondes. Le reste du protocole se déroule comme préalablement décrit. Les résultats montrent un taux élevé de bactéries de l'ordre de $1{,}6.10^9$ CFU ***(Figure 24)***. Cette valeur est considérée comme haute et pourrait représenter un niveau de risque élevé de la lésion. Il est évident que l'on ne peut pas conclure sur cette seule valeur et qu'une étude plus approfondie est nécessaire.

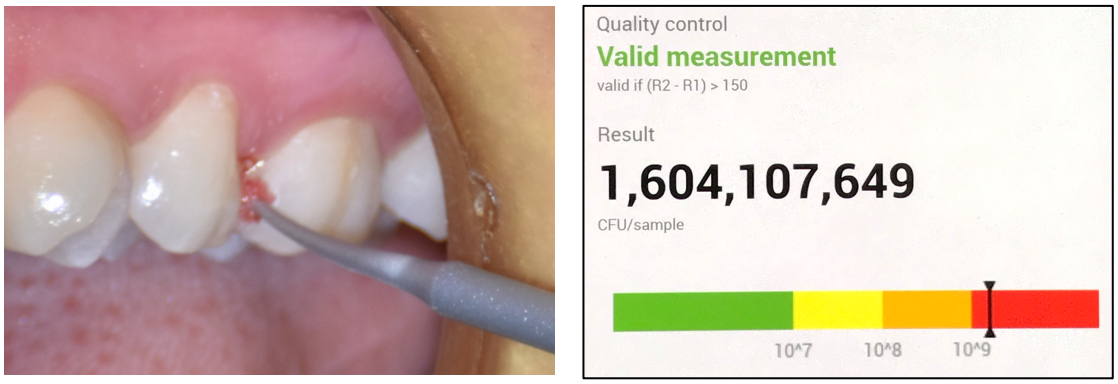


Figure 24 : Mode de prélèvement sur la lésion carieuse présente en mésial de 26 et résultat du système « 2 MIN UNIT-ORAL® ».

La thérapeutique utilisée vise à faire une cavité slot au niveau proximal et de restaurer la dent en utilisant du CVI (Ciment Verre Ionomère) Fuji II LC injectable. Rappelons ici qu'une cavité slot permet une préservation de la crête marginale et donc du point de contact de la dent. Dans un premier temps, la cavité est préparée par des inserts à ultrasons spécifiques ***(Figure 25A)***. La cavité ainsi effectuée est vérifiée en utilisant la fluorescence à l'aide de la caméra Soprolife. On peut d'ailleurs noter qu'il existe du tissu carieux encore actif en fond de cavité de part sa coloration rouge ***(Figure 25B)***. Un champ opératoire est placé et la lésion est nettoyée avec une fraise multi lames montée sur contre angle bleu ***(Figure 25C)***. Dans le but d'augmenter l'adhésion du matériau de restauration, un protocole de collage est mis en place. Après mise en place d'une matrice, un mordançage à l'acide orthophosphorique 37% pendant 20 secondes est effectué ***(Figure 25D)***, suivi d'un rinçage à l'eau durant un

temps équivalent. La cavité est séchée en évitant le dessèchement total des structures dentaires. Un adhésif de type universel est appliqué à l'aide d'une microbrush puis photopolymérisé ***(Figure 25E)***. Le CVI est injecté dans la cavité, les excès sont enlevés et le matériau est photopolymérisé ***(Figure 25F)***. Un polissage minutieux est effectué à l'aide d'inserts ultrasoniques courbés spécifiques ***(Figure 25G)***. Le résultat obtenu est montré sur le panel H de la figure 25.

Pour ce type de lésion, on peut voir que l'examen radiologique n'est pas concluant. L'examen clinique est quant à lui difficile et ce n'est que l'utilisation de révélateur de plaque qui nous alerte sur la présence potentielle d'une lésion. Par contre, le prélèvement bactérien et l'utilisation du « 2 MIN UNIT-ORAL® » donnent une quantité importante de microorganismes qui pourrait révéler la présence d'une lésion. En effet, si des lésions de ce type pouvaient être diagnostiquées de manière systématique, une prise en charge plus précoce de la maladie carieuse serait mise en place et des interventions à minima comme les cavités slot seraient plus utilisées par les praticiens.

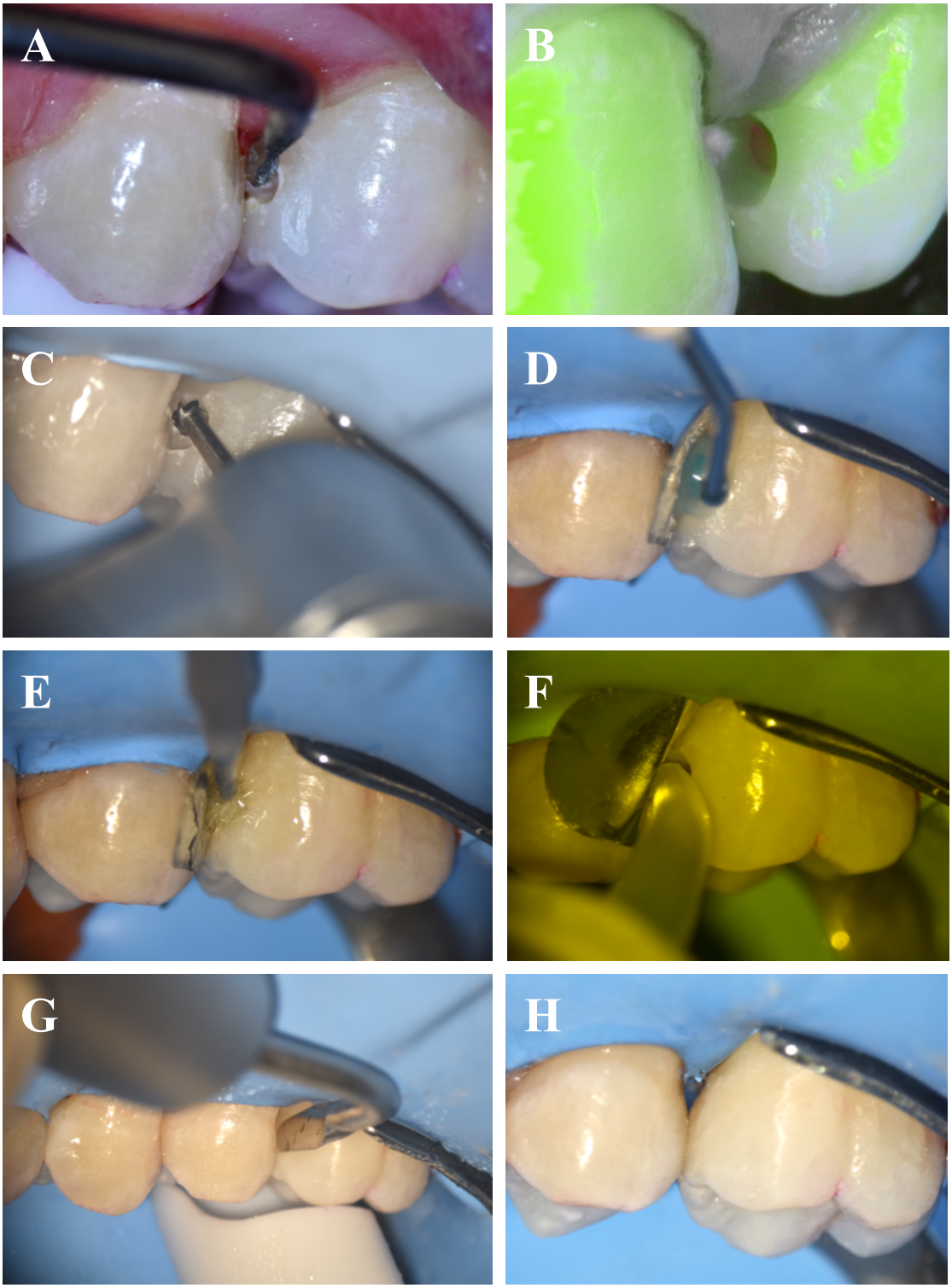


Figure 25 : ***Thérapeutique utilisée dans la restauration de la lésion carieuse de Mme S située en mésial de la dent 26. A.*** *Préparation de la cavité par l'utilisation d'insert ultrasonique.* ***B.*** *Utilisation de la fluorescence pour visualiser l'étendue de la lésion.* ***C****. Débridement carieux sous digue à l'aide d'une fraise multi lames.* ***D****. Mise en place d'une matrice et mordançage à l'aide d'acide orthophosphorique 37%.* ***E****. Mise en place de l'adhésif.* ***F.*** *Injection d'un CVI de type Fuji II dans la cavité.* ***G.*** *Polissage de la zone.* ***H.*** *Résultat final.*

Conclusion :

Dans un premier temps, nous avons discuté la formation et le développement du biofilm bactérien sur les surfaces dentaires. Ce mécanisme est complexe et fait intervenir un grand nombre de facteurs comme la composition de la fine pellicule recouvrant les tissus durs, l'équilibre des souches bactériennes (cariogènes ou non), le mode d'alimentation de l'individu, etc. Nous n'avons pas abordé l'immunité de l'hôte qui joue également un rôle primordial dans le développement des pathologies buccales d'origine microbienne. Cependant, il est important de le souligner que la couche pelliculaire est composée de protéines issues de l'immunité du patient et représente donc un outil de défense potentiellement efficace face à l'envahisseur bactérien. Il serait donc important de mieux comprendre le rôle de cette pellicule dans la lutte contre les maladies dentaires (carieuse et parodontale) et si possible de renforcer ses propriétés antibactériennes chez les personnes à risque. Les études actuelles s'intéressent surtout au rôle protecteur de la couche pelliculaire dans les phénomènes érosifs[65]. Certains auteurs parlent d'un possible rôle anti-cariogène[66], mais aucune étude ne s'est intéressée à la survenue de lésions en fonction de la composition de cette pellicule. Il serait intéressant d'obtenir des corrélations entre le risque carieux individuel et la composition protéique de la couche pelliculaire acquise au niveau des surfaces dentaires.

Il ressort également que l'équilibre entre espèces cariogènes et non cariogènes au sein du biofilm est crucial dans le développement de lésions carieuses. Si les bactéries cariogènes sont extrêmement bien adaptées à un milieu acide et riche en sucre, mais dans un milieu sain (pH neutre et apport de nutriment varié), elles ont un développement lent qui ne leur permet pas de rentrer en compétition avec les autres espèces. Le type d'alimentation, notamment la quantité de sucre et la fréquence de prise alimentaire, semble être déterminant dans la rupture de l'homéostasie du milieu buccale. En effet, dans notre société poussée vers une consommation à outrance où les individus sont conditionnés par toute forme de média à manger des produits toujours plus sucrés, les espèces bactériennes comme *S. mutans* ont toutes les raisons de prospérer. Le chirurgien-dentiste a alors un rôle majeur à jouer dans l'éducation alimentaire de la population.

Dans un second temps, nous avons utilisé le système « 2 MIN UNIT-ORAL® » de l'institut Clinident dans le but d'appréhender sa possible utilisation comme outil diagnostique pouvant assister le praticien dans le choix de la thérapeutique à mettre en place. Cette technologie mesure la quantité d'ATP (molécule énergétique de la cellule) dans des échantillons. Cette quantité d'ATP nous informe aussi bien sur la quantité de microorganismes présents que sur l'activité cellulaire au sein du site de prélèvement sans discriminer ces deux facteurs. Dans les deux cas, l'information est intéressante car elle démontre une présence bactérienne qui pourrait s'avérer anormale et c'est cette limite ou seuil entre le « normal » et le « pathologique » qu'il est intéressant de discerner. Il est pour l'instant impossible de savoir si un tel seuil existe, mais à la vue de la complexité de formation du biofilm responsable d'une lésion carieuse et de l'hétérogénéité des acteurs mis en jeu, de nouvelles voies de recherche doivent être développées. Nous nous inscrivons donc dans cette démarche.

Nous avons tout d'abord voulu valider le système « 2 MIN UNIT-ORAL® » dans sa facilité d'utilisation et sa fiabilité. Pour cela, le cas de Mme DF qui présente une parodontite agressive regroupe un certain nombre d'avantages, un site de prélèvement facile, une maladie d'origine bactérienne connue et une littérature abondante. Au sein des poches parodontales, on trouve un nombre important de microorganismes avec une présence importante de bactéries connues pour leur fort potentiel pathogène. Apres nettoyage des poches par le « PERIO-FLOW® », nous avons, dans un premier temps, été surpris par le résultat montrant une augmentation de nos valeurs. Mais ceci démontre en fait la richesse du biofilm microbien que l'on retrouve sur les tissus durs et mous dans les maladies parodontales. En effet, la destruction du biofilm conduit à une mise en suspension des microorganismes contenus dans celui-ci et c'est ce que nous avons mesuré en réalité. Ce résultat démontre la nécessité de rincer les poches afin d'éliminer un maximum de pathogènes, que ce soit par une augmentation du temps de traitement avec le « PERIO-FLOW® » ou par un rinçage manuel avec des antiseptiques. Cette hypothèse se retrouve validée par les mesures contrôles effectuées sur un site ne présentant pas de poche parodontale. Dans ce cas, la quantité de microorganismes diminue de manière drastique après nettoyage. Le « PERIO-FLOW® » réussit donc à expulser de manière efficace les bactéries en suspension dans un sulcus de 3mm.

Cette expérience soulève une interrogation sur un point très peu abordé lors des études sur les parodontites. Quel est l'impact du biofilm se développant sur les tissus mous qui composent une grande surface de la poche parodontale ? Il semble que ce biofilm et l'intégration de pathogènes au sein de l'épithélium puissent expliquer la persistance des maladies parodontales malgré les thérapeutiques utilisées (initiale ou chirurgicale)[67]. Cela pose effectivement la question de l'efficacité des approches actuellement utilisées. Le « PERIO-FLOW® » semble alors être un outil qui devrait s'intégrer dans les thérapeutiques étant donné le nettoyage horizontal qui atteint aussi bien les tissus durs que les tissus mous.

De cette expérience, nous pouvons conclure que le système « 2 MIN UNIT-ORAL® » fonctionne dans notre cadre clinique et donne des valeurs reproductibles. Nous avons donc commencé à le tester sur la maladie carieuse. Il est évident que le test effectué sur une lésion carieuse au cours de cette thèse n'est que peu conclusif et qu'une étude à plus grande échelle est nécessaire. Cependant, chez Mme S, nous sommes face à une lésion carieuse indétectable à la radio, non symptomatique et très peu visible cliniquement. Ce n'est que par l'utilisation de révélateur de plaque que le biofilm s'identifie clairement, or très peu de praticien utilise quotidiennement un révélateur dans un contexte de dépistage de lésions carieuses. De plus, comment connaître l'aspect évolutif de la carie et quelle thérapeutique utilisée ? Le système « 2 MIN UNIT-ORAL® » donne un chiffre important, mais nous n'avons pas de valeur à laquelle le rapporter. Nous aurions dû, comme dans le cas de la parodontite, faire un prélèvement dans une zone interdentaire ne possédant pas de lésion carieuse et ainsi comparer les deux valeurs. On s'est rendu compte, lors du débridement de cette lésion, que la cavité était assez profonde et que l'intervention était nécessaire. Ceci démontre que les outils classiques de détection des lésions carieuses (clinique et radiologique) ne sont que peu efficaces face à des caries débutantes. Or c'est un enjeu important, car un grand nombre de caries ne sont traitées que tardivement par les praticiens qui n'ont alors qu'un choix de techniques thérapeutiques restreint et s'orientent rapidement vers des solutions prothétiques loin d'une dentisterie conservatrice à minima. Le système « 2 MIN UNIT-ORAL® » s'inscrit dans cette démarche de dentisterie à visée conservatrice du tissu dentaire. L'objectif de la future étude sera d'essayer de corréler des valeurs de niveau d'ATP obtenus avec le système « 2 MIN UNIT-ORAL® » avec un gradient thérapeutique d'intervention allant du moins au plus invasif. C'est-à-dire de développer un outil qui facilitera la prise de

décision du praticien et l'orientera vers une prise en charge adaptée à chaque patient et à chaque situation clinique.

Annexe 1 :

Système CAMBRA pour enfants de 0-5ans :

TABLE 1

CAMBRA for Dental Providers (0-5) Assessment Tool

Caries Risk Assessment Form for Age 0 to 5

Patient name:_____ I.D.#_____ Age _____ Date_____

Initial/base line exam date_____ Caries recall date_____

Respond to each question in sections 1, 2, 3, and 4 with a check mark in the "Yes" or "No" column	Yes	No	Notes
1. Caries Risk Indicators — Parent Interview**			
(a) Mother or primary caregiver has had active dental decay in the past 12 months			
(b) Child has recent dental restorations (see 5b below)			
(c) Parent and/or caregiver has low SES (socioeconomic status) and/or low health literacy			
(d) Child has developmental problems			
(e) No dental home/episodic dental care			
2. Caries Risk Factors (Biological) — Parent Interview**			
(a) Child has frequent (greater than three times daily) between-meal snacks of sugars/cooked starch/sugared beverages			
(b) Child has saliva-reducing factors present, including: 1. Medications (e.g., some for asthma or hyperactivity) 2. Medical (cancer treatment) or genetic factors			
(c) Child continually uses bottle - contains fluids other than water			
(d) Child sleeps with a bottle or nurses on demand			
3. Protective Factors (Nonbiological) — Parent Interview			
(a) Mother/caregiver decay-free last three years			
(b) Child has a dental home and regular dental care			
4. Protective Factors (Biological) — Parent Interview			
(a) Child lives in a fluoridated community or takes fluoride supplements by slowly dissolving or as chewable tablets			
(b) Child's teeth are cleaned with fluoridated toothpaste (pea-size) daily			
(c) Mother/caregiver chews/sucks xylitol chewing gum/lozenges 2-4x daily			
5. Caries Risk Indicators/Factors — Clinical Examination of Child**			
(a) Obvious white spots, decalcifications, or obvious decay present on the child's teeth			
(b) Restorations placed in the last two years in/on child's teeth			
(c) Plaque is obvious on the child's teeth and/or gums bleed easily			
(d) Child has dental or orthodontic appliances present, fixed or removable: e.g., braces, space maintainers, obturators			
(e) Risk Factor: Visually inadequate saliva flow - dry mouth			
****If yes to any one of 1(a), 1(b), 5(a), or 5(b) or any two in categories 1, 2, 5, consider performing bacterial culture on mother or caregiver and child. Use this as a base line to follow results of antibacterial intervention.**	Parent/Caregiver Date:		Child Date:
(a) Mutans streptococci (Indicate bacterial level: high, medium, low)			
(b) Lactobacillus species (Indicate bacterial level: high, medium, low)			
Child's overall caries risk status: (CIRCLE) Extreme	Low	Moderate	High

Recommendations given: Yes _____ No _____ Date given _____ Date follow up: _____

SELF-MANAGEMENT GOALS 1) _____ **2)** _____

Practitioner signature_____ Date_____

Annexe 2 :

Système CAMBRA pour patients de plus de 6 ans :

TABLE 1

Caries Risk Assessment Form — Children Age 6 and Over/Adults

Patient Name: _____ Chart #: _____ Date: _____

Assessment Date: Is this (please circle) base line or recall

Disease Indicators (Any one "YES" signifies likely "High Risk" and to do a bacteria test)**	**YES = CIRCLE**	**YES = CIRCLE**	**YES = CIRCLE**
Visible cavities or radiographic penetration of the dentin	YES		
Radiographic approximal enamel lesions (not in dentin)	YES		
White spots on smooth surfaces	YES		
Restorations last 3 years	YES		
Risk Factors (Biological predisposing factors)		YES	
MS and LB both medium or high (by culture**)		YES	
Visible heavy plaque on teeth		YES	
Frequent snack (> 3x daily between meals)		YES	
Deep pits and fissures		YES	
Recreational drug use		YES	
Inadequate saliva flow by observation or measurement (**If measured, note the flow rate below)		YES	
Saliva reducing factors (medications/radiation/systemic)		YES	
Exposed roots		YES	
Orthodontic appliances		YES	
Protective Factors			
Lives/work/school fluoridated community			YES
Fluoride toothpaste at least once daily			YES
Fluoride toothpaste at least 2x daily			YES
Fluoride mouthrinse (0.05% NaF) daily			YES
5,000 ppm F fluoride toothpaste daily			YES
Fluoride varnish in last 6 months			YES
Office F topical in last 6 months			YES
Chlorhexidine prescribed/used one week each of last 6 months			YES
Xylitol gum/lozenges 4x daily last 6 months			YES
Calcium and phosphate paste during last 6 months			YES
Adequate saliva flow (>1 ml/min stimulated)			YES
****Bacteria/Saliva Test Results: MS: LB: Flow Rate: ml/min. Date:**			

VISUALIZE CARIES BALANCE
(Use circled indicators/factors above)
(EXTREME RISK = HIGH RISK + SEVERE SALIVARY GLAND HYPOFUNCTION)
CARIES RISK ASSESSMENT (CIRCLE): EXTREME HIGH MODERATE LOW

Doctor signature/#: _____ Date: _____

Table des illustrations

Figure 1 : *Lien entre pH, déminéralisation de l'émail, prise alimentaire et composition du biofilm*……... 5
Figure 2 : *Hétérogénéité de structure du biofilm en fonction du substrat*…..... 6
Figure 3 : *Hétérogénéité d'organisation des microorganismes en fonction des espèces au sein de la plaque dentaire*..... 7
Figure 4 : *Hypothèse écologique de la plaque dentaire et du développement carieux*..... 10
Figure 5 : *Modes de développement de la matrice extracellulaire à partir du film pelliculaire à la surface de l'émail*..... 12
Figure 6 : *Schématisation de certains rôles de la matrice extracellulaire*..... 16
Figure 7 : *Coopération entre S. mutans et C. albicans dans la création de lésions carieuses*..... 23
Figure 8 : *Représentation de la dynamique des interactions synergiques et antagonistes entre microorganismes pour aboutir à la formation d'un biofilm cariogène induisant des lésions carieuses*..... 24
Figure 9 : *Représentation de nanoparticules transportant du Farnésol, le libérant à des pH acides, et adhérant aux surfaces dentaires et aux polysaccharides du biofilm*..... 27
Figure 10 : *Classification ICDAS (International Caries Detection and Assessment System), moyens diagnostiques et thérapeutiques*..... 30
Figure 11 : *Mode de détection de l'ATP basé sur la réaction enzymatique utilisant le système luciférase/luciférine et générant de la bioluminescence*..... 35
Figure 12 : *Code couleur utilisé pour présenter les résultats de la quantité de bactéries (en unité CFU = Colony Forming Unit) via l'utilisation du système « 2 MIN UNIT-ORAL® »*..... 36
Figure 13 : *Radiographie panoramique de Mme DF*..... 37
Figure 14 : *Bilan parodontal de Mme DF*..... 38
Figure 15 : *Photos intra buccale de face de Mme DF*..... 39
Figure 16 : *Présentation du « PERIO – FLOW® »*..... 40
Figure 17 : *Prélèvements à l'aide de pointes de papier au sein des poches parodontales de 14 et 11 et du sulcus de 22*..... 41
Figure 18 : *Nettoyage des poches parodontales de 14 et 11 et du sulcus de 22 avec le « PERIO-FLOW® »*..... 41
Figure 19 : *Résultat des prélèvements effectués sur les dents 14 et 11 atteintes de parodontites et, sur la dent 22 saine*..... 42
Figure 20 : *Schéma représentant une poche parodontale avant et après nettoyage*..... 43
Figure 21 : *Résultat de la PCR effectuée à partir du prélèvement au sein de la poche parodontale en distal de la dent 11*..... 44
Figure 22 : *Photos du secteur 2 de Mme S en présence de révélateur de plaque*..... 45
Figure 23 : *Radiographie de type « bite-wing » montrant les secteurs 2 et 4 de Mme S*..... 45
Figure 24 : *Mode de prélèvement sur la lésion carieuse présente en mésial de 26 et résultat du système « 2 MIN UNIT-ORAL® »*..... 46
Figure 25 : *Thérapeutique utilisée dans la restauration de la lésion carieuse de Mme S située en mésial de la dent 26*..... 48

Bibliographie :

1. Burnett, G. W. & Scherp, H. W. *Oral microbiology and infectious disease: a textbook for students and practitioners of dentistry*. (Williams & Wilkins, 1968).
2. Do, T., Devine, D. & Marsh, P. D. Oral biofilms: molecular analysis, challenges, and future prospects in dental diagnostics. *Clin Cosmet Investig Dent* **5**, 11–19 (2013).
3. Kolter, R. Surfacing views of biofilm biology. *Trends in Microbiology* **13**, 1–2 (2005).
4. Fux, C. A., Costerton, J. W., Stewart, P. S. & Stoodley, P. Survival strategies of infectious biofilms. *Trends in Microbiology* **13**, 34–40 (2005).
5. Kidd, E. & Fejerskov, O. ESSENTIALS OF DENTAL CARIES, FOURTH EDITION. 6 (2016).
6. OMS | Santé bucco-dentaire. *WHO* Available at: https://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/fr/. (Accessed: 27th February 2019)
7. Frencken, J. E. *et al.* Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis – a comprehensive review. *Journal of Clinical Periodontology* **44**, S94–S105 (2017).
8. Kassebaum, N. j. *et al.* Global Burden of Untreated Caries: A Systematic Review and Metaregression. *Journal of Dental Research* **94**, 650–658 (2015).
9. Bowen, W. h. Dental caries - not just holes in teeth! A perspective. *Molecular Oral Microbiology* **31**, 228–233 (2016).
10. Bowen, W. The Stephan Curve revisited. *Odontology* **101**, 2–8 (2013).
11. Xiao, J. *et al.* The Exopolysaccharide Matrix Modulates the Interaction between 3D Architecture and Virulence of a Mixed-Species Oral Biofilm. *PLoS Pathog* **8**, (2012).
12. Branda, S. S., Vik, Å., Friedman, L. & Kolter, R. Biofilms: the matrix revisited. *Trends in Microbiology* **13**, 20–26 (2005).
13. Zijnge, V. *et al.* Oral Biofilm Architecture on Natural Teeth. *PLoS One* **5**, (2010).
14. Larsen, T. & Fiehn, N.-E. Dental biofilm infections – an update. *APMIS* **125**, 376–384 (2017).

15. Bowen, W. H., Burne, R. A., Wu, H. & Koo, H. Oral Biofilms: Pathogens, Matrix, and Polymicrobial Interactions in Microenvironments. *Trends in Microbiology* **26**, 229–242 (2018).
16. Belda-Ferre, P. *et al.* The oral metagenome in health and disease. *ISME J* **6**, 46–56 (2012).
17. Benítez-Páez, A., Belda-Ferre, P., Simón-Soro, A. & Mira, A. Microbiota diversity and gene expression dynamics in human oral biofilms. *BMC Genomics* **15**, 311 (2014).
18. Zhang, Y. *et al.* Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **99**, 883–893 (2018).
19. Takahashi, N. & Nyvad, B. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine: The Role of Bacteria in the Caries Process: Ecological Perspectives. *Journal of Dental Research* **90**, 294–303 (2011).
20. Aas, J. A. *et al.* Bacteria of Dental Caries in Primary and Permanent Teeth in Children and Young Adults. *J Clin Microbiol* **46**, 1407–1417 (2008).
21. Gross, E. L. *et al.* Bacterial 16S Sequence Analysis of Severe Caries in Young Permanent Teeth. *J Clin Microbiol* **48**, 4121–4128 (2010).
22. Koo, H., Falsetta, M. L. & Klein, M. I. The Exopolysaccharide Matrix. *J Dent Res* **92**, 1065–1073 (2013).
23. Bowen, W. H. & Koo, H. Biology of Streptococcus mutans-Derived Glucosyltransferases: Role in Extracellular Matrix Formation of Cariogenic Biofilms. *Caries Res* **45**, 69–86 (2011).
24. Vacca Smith, A. M. *et al.* Salivary Glucosyltransferase B as a Possible Marker for Caries Activity. *Caries Res* **41**, 445–450 (2007).
25. Hannig, M. Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites during a 24-h period. *Clin Oral Investig* **3**, 88–95 (1999).
26. Siqueira, W. l., Custodio, W. & McDonald, E. e. New Insights into the Composition and Functions of the Acquired Enamel Pellicle. *Journal of Dental Research* **91**, 1110–1118 (2012).
27. Chaudhuri, B., Rojek, J., Vickerman, M. M., Tanzer, J. M. & Scannapieco, F. A. Interaction of Salivary alpha-Amylase and Amylase-Binding-Protein A (AbpA) of Streptococcus gordonii with Glucosyltransferase of S. gordonii and Streptococcus mutans. *BMC Microbiol* **7**, 60 (2007).

28. Siqueira, W. L., Zhang, W., Helmerhorst, E. J., Gygi, S. P. & Oppenheim, F. G. Identification of Protein Components in *in vivo* Human Acquired Enamel Pellicle Using LC−ESI−MS/MS. *Journal of Proteome Research* **6**, 2152–2160 (2007).
29. Flemming, H.-C. EPS—Then and Now. *Microorganisms* **4**, (2016).
30. ten Cate, J. M. Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque. *Odontology* **94**, 1–9 (2006).
31. Klein, M. I., Hwang, G., Santos, P. H. S., Campanella, O. H. & Koo, H. Streptococcus mutans-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. *Front Cell Infect Microbiol* **5**, (2015).
32. Petrova, O. E. & Sauer, K. Escaping the biofilm in more than one way: Desorption, detachment or dispersion. *Curr Opin Microbiol* **30**, 67–78 (2016).
33. Peterson, B. W. *et al.* Viscoelasticity of biofilms and their recalcitrance to mechanical and chemical challenges. *FEMS Microbiology Reviews* **39**, 234–245 (2015).
34. Peterson, B. W., van der Mei, H. C., Sjollema, J., Busscher, H. J. & Sharma, P. K. A Distinguishable Role of eDNA in the Viscoelastic Relaxation of Biofilms. *mBio* **4**, (2013).
35. Liu, Y.-L., Nascimento, M. & Burne, R. A. Progress toward understanding the contribution of alkali generation in dental biofilms to inhibition of dental caries. *Int J Oral Sci* **4**, 135–140 (2012).
36. Kreth, J., Merritt, J. & Qi, F. Bacterial and Host Interactions of Oral Streptococci. *DNA Cell Biol* **28**, 397–403 (2009).
37. Cvitkovitch, D. G. Genetic Competence and Transformation in Oral Streptococci. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* **12**, 217–243 (2001).
38. Wang, B.-Y. & Kuramitsu, H. K. Interactions between Oral Bacteria: Inhibition of Streptococcus mutans Bacteriocin Production by Streptococcus gordonii. *Appl Environ Microbiol* **71**, 354–362 (2005).
39. Huang, X. *et al.* A Highly Arginolytic Streptococcus Species That Potently Antagonizes Streptococcus mutans. *Applied and Environmental Microbiology* **82**, 2187–2201 (2016).
40. Lemos, J. A. & Burne, R. A. A model of efficiency: Stress tolerance by Streptococcus mutans. *Microbiology* **154**, 3247–3255 (2008).

41. Baker, J. L., Faustoferri, R. C. & Quivey, R. G. Acid-adaptive mechanisms of Streptococcus mutans–the more we know, the more we don't. *Mol Oral Microbiol* **32**, 107–117 (2017).
42. Bender, G. R., Sutton, S. V. & Marquis, R. E. Acid tolerance, proton permeabilities, and membrane ATPases of oral streptococci. *Infect Immun* **53**, 331–338 (1986).
43. Sturr, M. G. & Marquis, R. E. Comparative acid tolerances and inhibitor sensitivities of isolated F-ATPases of oral lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol* **58**, 2287–2291 (1992).
44. Bai, Y., Gangoiti, J., Dijkstra, B. W., Dijkhuizen, L. & Pijning, T. Crystal Structure of 4,6-α-Glucanotransferase Supports Diet-Driven Evolution of GH70 Enzymes from α-Amylases in Oral Bacteria. *Structure* **25**, 231–242 (2017).
45. Tanner, A. C. R. *et al.* Cultivable Anaerobic Microbiota of Severe Early Childhood Caries▿. *J Clin Microbiol* **49**, 1464–1474 (2011).
46. Periasamy, S. & Kolenbrander, P. E. Central Role of the Early Colonizer Veillonella sp. in Establishing Multispecies Biofilm Communities with Initial, Middle, and Late Colonizers of Enamel. *J Bacteriol* **192**, 2965–2972 (2010).
47. Mashima, I. & Nakazawa, F. The influence of oral Veillonella species on biofilms formed by Streptococcus species. *Anaerobe* **28**, 54–61 (2014).
48. Metwalli, K. H., Khan, S. A., Krom, B. P. & Jabra-Rizk, M. A. Streptococcus mutans, Candida albicans, and the Human Mouth: A Sticky Situation. *PLoS Pathog* **9**, (2013).
49. Falsetta, M. L. *et al.* Symbiotic Relationship between Streptococcus mutans and Candida albicans Synergizes Virulence of Plaque Biofilms *In Vivo*. *Infection and Immunity* **82**, 1968–1981 (2014).
50. Kim, D. *et al.* Candida albicans stimulates Streptococcus mutans microcolony development via cross-kingdom biofilm-derived metabolites. *Sci Rep* **7**, (2017).
51. Hope, C. K. & Wilson, M. Analysis of the Effects of Chlorhexidine on Oral Biofilm Vitality and Structure Based on Viability Profiling and an Indicator of Membrane Integrity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **48**, 1461–1468 (2004).
52. Liu, Y., Ren, Z., Hwang, G. & Koo, H. Therapeutic Strategies Targeting Cariogenic Biofilm Microenvironment. *Adv Dent Res* **29**, 86–92 (2018).

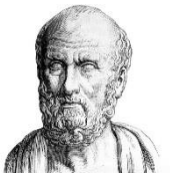
53. He, J. *et al.* l-Arginine Modifies the Exopolysaccharide Matrix and Thwarts Streptococcus mutans Outgrowth within Mixed-Species Oral Biofilms. *J Bacteriol* **198**, 2651–2661 (2016).
54. Zaura, E. & Twetman, S. Critical Appraisal of Oral Pre- and Probiotics for Caries Prevention and Care. *Caries Research* 1–13 (2019). doi:10.1159/000499037
55. Horev, B. *et al.* pH-activated Nanoparticles for Controlled Topical Delivery of Farnesol to Disrupt Oral Biofilm Virulence. *ACS Nano* **9**, 2390–2404 (2015).
56. Mount, G. J. *et al.* A proposal for a new classification of lesions of exposed tooth surfaces. *International Dental Journal* **56**, 82–91 (2006).
57. Young, D. A. *et al.* The American Dental Association Caries Classification System for Clinical Practice: A report of the American Dental Association Council on Scientific Affairs. *The Journal of the American Dental Association* **146**, 79–86 (2015).
58. Dure-Molla, M. de L., Artaud, C. & Naulin-Ifi, C. Approches diagnostiques des lésions carieuses. 10 (2019).
59. Chen, R. The International Caries Detection and Assessment System Is a Visual Diagnostic System That Is Highly Reproducible and Accurate for Coronal Carious Lesions Detection but Only Moderately Reproducible and Accurate for Assessing Lesion Progression. *Journal of Evidence Based Dental Practice* **19**, 91–94 (2019).
60. Haute Autorité de Santé - Appréciation du risque carieux et indications du scellement prophylactique des sillons des premières et deuxièmes molaires permanentes chez les sujets de moins de 18 ans. Available at: https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_272496/fr/appreciation-du-risque-carieux-et-indications-du-scellement-prophylactique-des-sillons-des-premieres-et-deuxiemes-molaires-permanentes-chez-les-sujets-de-moins-de-18-ans. (Accessed: 4th June 2019)
61. Cagetti, M. G. *et al.* Are standardized caries risk assessment models effective in assessing actual caries status and future caries increment? A systematic review. *BMC Oral Health* **18**, (2018).
62. Mdala, I. *et al.* Multilevel analysis of bacterial counts from chronic periodontitis after root planing/scaling, surgery, and systemic and local antibiotics: 2-year results. *J Oral Microbiol* **5**, (2013).
63. AIRFLOW® PROPHYLAXIS MASTER | EMS. Available at: https://www.ems-dental.com/fr/products/airflow-prophylaxis-master. (Accessed: 11th June 2019)

64. Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C. & Kent, R. L. Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology* **25**, 134–144 (1998).

65. Vukosavljevic, D., Custodio, W., Buzalaf, M. A. R., Hara, A. T. & Siqueira, W. L. Acquired pellicle as a modulator for dental erosion. *Archives of Oral Biology* **59**, 631–638 (2014).

66. de Souza-e-Silva, C. M. *et al.* Effect of gels containing chlorhexidine or epigallocatechin-3-gallate on the protein composition of the acquired enamel pellicle. *Archives of Oral Biology* **82**, 92–98 (2017).

67. Ji, S., Choi, Y. S. & Choi, Y. Bacterial invasion and persistence: critical events in the pathogenesis of periodontitis? *Journal of Periodontal Research* **50**, 570–585 (2015).



SERMENT MEDICAL

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

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

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

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

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

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

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

J'informerai mes patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des connaissances pour forcer les consciences.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

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

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

Que je sois déshonoré et méprisé de mes confrères si j'y manque.

DEGOUTIN Joffrey - Corrélation entre risque carieux et charge bactérienne : outil potentiel de décision thérapeutique

Th. : Chir. dent. : Marseille : Aix –Marseille Université : 2019

Rubrique de classement : Odontologie Conservatrice

Résumé:
La maladie carieuse ou les maladies parodontales sont des pathologies plurifactorielles liées aux microorganismes qui s'organisent en biofilm sur les surfaces dentaires. La virulence de ce biofilm dépend de divers facteurs tels que l'alimentation (quantité de sucre), l'hygiène dentaire, ainsi que la composition de la flore buccale. Le risque de développer ces maladies est donc propre à chaque patient. Afin d'individualiser au mieux sa prise en charge, le clinicien devrait posséder dans sa palette diagnostique un outil lui permettant d'évaluer ce risque de manière fiable, rapide et à bas coût. Malheureusement, la composition très hétérogène du microbiote oral, les techniques complexes d'identification des espèces microbiennes et notre incompréhension actuelle des interactions/coopérations inter-espèces au sein du biofilm rendent les différents tests existants inutilisables pour les praticiens. Nous avons donc cherché à savoir si en mesurant la quantité/activité globale de bactéries sur certains sites à risque (espaces interdentaires, poches parodontales), une prédiction du risque carieux du patient pouvait être faite. Pour cela nous avons utilisé le « 2 MIN UNIT-ORAL® » de l'institut Clinident. Nos premiers résultats semblent concluants et encouragent la mise en place d'une étude clinique.

Mots clés : Biofilm, risque carieux, odontologie restauratrice, outil diagnostic

DEGOUTIN Joffrey - Link between carious risk and bacteria count: a prospective diagnostic tool

Abstract:
Many Oral infectious diseases such as dental caries or periodontitis are the result of an organised biofilm. Biofilm's formation is a multifactorial event involving for example diet (sugar consumption), oral hygiene and oral microbiote composition. The risk to develop the disease is then specific to each individual. The clinician should be able to assess the patient risk in order to use a specific therapeutic in accordance. A simple to use, fast and low cost diagnostic tool doesn't exist today. Rather than identifying specific species involved in carie development, we aim to measure the activity/quantity of microorganisms at specific sites. In doing so we are trying to find a link between these measurement and carie progression. We used the "2 MIN UNIT-ORAL® " from Clinident institute in our pilot experiment and found interesting results that will lead us to develop an exhaustive clinic study.

MeSH: Biofilm, carious risk, restorative dentistry, diagnostic tool

Adresse de l'auteur :
Le Haïti Bâtiment E, 31 traverse de la Trévaresse
13012 MARSEILLE