



**HAL**  
open science

# Évaluation d'une étiopathologie virale chez l'enfant atteint de syndrome d'apnées-hypopnées obstructives du sommeil : protocole de recherche expérimentale

Clémence Leblais

## ► To cite this version:

Clémence Leblais. Évaluation d'une étiopathologie virale chez l'enfant atteint de syndrome d'apnées-hypopnées obstructives du sommeil : protocole de recherche expérimentale. Médecine humaine et pathologie. 2021. dumas-03584727

**HAL Id: dumas-03584727**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03584727v1>**

Submitted on 22 Feb 2022

**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.

**ÉVALUATION D'UNE ÉTIOPATHOLOGIE VIRALE  
CHEZ L'ENFANT ATTEINT DE SYNDROME  
D'APNÉES-HYPOPNÉES OBSTRUCTIVES DU  
SOMMEIL**

**Protocole de recherche expérimentale**

Année 2021

Thèse n°42-57-21-31

**THÈSE**

Présentée et publiquement soutenue devant  
la Faculté de Chirurgie Dentaire de Nice  
le 15 octobre 2021 Par

**Madame Clémence LEBLAIS**

Née le 31 mai 1996 à Versailles

Pour obtenir le grade de :

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

---

Examineurs :

Madame le Professeur  
Monsieur le Docteur  
Madame le Docteur  
Madame le Docteur  
Madame le Docteur

MULLER-BOLLA Michèle  
COCHAIS Patrice  
JOSEPH Clara  
AÏEM TORT-ALVAREZ Elody  
MIGEREL Carolane

Président du jury  
Assesseur  
Assesseur  
Directeur de thèse  
Membre invité

---

## CORPS ENSEIGNANT

### 56ème section : DEVELOPPEMENT, CROISSANCE ET PREVENTION

#### **Sous-section 01 : ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE ET ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE**

Professeur des Universités : Mme MULLER-BOLLA Michèle  
Maître de Conférences des Universités : Mme JOSEPH Clara  
Professeur des Universités Associée : Mme CHARAVET Carole  
Maître de Conférences des Universités Associé : Mme OUEISS Arlette  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme AIEM TORT-ALVAREZ Elody  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. CAMIA Julien  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme MASUCCI Caterina

#### **Sous-section 02 : PREVENTION, EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE, ODONTOLOGIE LEGALE**

Professeur des Universités : Mme LUPI Laurence  
Maître de Conférences des Universités : Mme MERIGO Elisabetta  
Maître de Conférences des Universités Associé : Mme BORSA Leslie  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme FRENDON Marie

### 57ème section : CHIRURGIE ORALE ; PARODONTOLOGIE ; BIOLOGIE ORALE

#### **Sous-section 01 : CHIRURGIE ORALE ; PARODONTOLOGIE ; BIOLOGIE ORALE**

Professeur des Universités : Mme DRIDI Sophie Myriam  
Professeur des Universités : Mme PRECHEUR-SABLAYROLLES Isabelle  
Professeur des Universités : Mme VINCENT-BUGNAS Séverine  
Maître de Conférences des Universités : M. BENHAMOU Yordan  
Maître de Conférences des Universités : M. COCHAIS Patrice  
Maître de Conférences des Universités : Mme RAYBAUD Hélène  
Maître de Conférences des Universités : Mme VOHA Christine  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme FISTES Elene-Maria  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. GAUDARD Mathias  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme NAMAN Eve

### 58ème section : REHABILITATION ORALE

#### **Sous-section 01 : DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE, PROTHESES, FONCTION-DYSFONCTION, IMAGERIE, BIOMATERIAUX**

Professeur des Universités : Mme BERTRAND Marie-France  
Professeur des Universités : M. BOLLA Marc  
Professeur des Universités : Mme BRULAT-BOUCHARD Nathalie  
Professeur des Universités : Mme LASSAUZAY Claire  
Professeur des Universités Emérite : M. ROCCA Jean-Paul  
Maître de Conférences des Universités : M. CEINOS Romain  
Maître de Conférences des Universités : Mme EHRMANN Elodie  
Maître de Conférences des Universités : M. LAPLANCHE Olivier  
Maître de Conférences des Universités : M. LEFORESTIER Eric  
Maître de Conférences des Universités : Mme POUYSSEGUR-ROUGIER Valérie  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme ABID Sarah  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme BECQUART Mathilde  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. BONNET Nicolas  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. CEPPO Franck  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme DUBOIS Margaux  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. DUBROMEZ Julien  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. GIRODENGO Alexandre  
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme GROSSI Vanina  
Assistant Hospitalier Universitaire : M. LAMBERT Gary

**A Madame le Professeur Michèle MULLER-BOLLA**

*Docteur en Chirurgie Dentaire  
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier  
Sous-section Odontologie Pédiatrique*

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury de thèse. Je suis reconnaissante de l'enseignement que vous m'avez fourni, d'avoir été témoin de votre engagement et de votre volonté à faire toujours au mieux pour la santé des petits patients que nous avons pris en charge ensemble. L'odontologie pédiatrique est un domaine qui demande de la compassion et beaucoup de patience. J'espère en avoir acquis en travaillant à vos côtés et j'aspire à suivre vos pas dans les années à venir, tant sur le plan humain que sur le plan professionnel. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon plus grand respect.

**A Monsieur le Docteur Patrice COCHAIS**

*Docteur en Chirurgie Dentaire  
Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier  
Responsable de la sous-section Chirurgie Orale et Implantologie*

Je tiens à vous remercier d'avoir accepté de siéger dans ce jury de thèse. Je suis reconnaissante d'avoir pu vous assister durant vos vacances à Pasteur. Vous avez grandement participé à mon apprentissage de la rigueur de l'examen clinique et de l'écoute bienveillante des patients. Vous avez aussi toujours accepté de venir m'aider que ce soit par vos conseils, vos gestes ou votre expérience clinique dans les cas de chirurgie compliqués que j'ai pu rencontrer et pour cela veuillez recevoir l'assurance de ma gratitude et l'expression de mes profonds remerciements.

**A Madame le Docteur Clara JOSEPH**

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

Je vous remercie de bien avoir voulu faire partie de ce jury. Je suis reconnaissante de vous avoir côtoyée durant ces années, en particulier celle qui vient de s'écouler. J'ai énormément appris sur la dentisterie bien sûr mais aussi sur le côté humain qui ne s'apprend pas dans les livres et qui demande beaucoup plus de patience et de remise en question. Tous ces après-midi intenses en émotions (et en décibels parfois) que l'on a pu vivre ensemble, je ne les oublierai pas. Vous avez une réelle vocation d'enseignement et de partage qui m'ont touchée. J'ai décidé de choisir l'odontologie pédiatrique et vous en êtes en grande partie responsable. Pour toutes ces raisons veuillez accepter mes remerciements les plus chaleureux.

**A Madame le Docteur Elody AÏEM TORT-ALVAREZ**

*Docteur en Chirurgie Dentaire  
Assistant Hospitalier Universitaire  
Sous-section Odontologie Pédiatrique*

Je te remercie d'avoir accepté de diriger cette thèse. Tu m'as énormément aidée en t'investissant personnellement, ce travail n'aurait jamais réussi à voir le jour sans tes précieux conseils. Je suis reconnaissante d'avoir pu apprendre à tes côtés pendant ces années, d'abord de théorie où tu nous as enseigné avec clarté et patience puis de pratique en étant toujours à l'écoute et surtout pleine d'énergie communicative. Je garderai de très bons souvenirs de ces moments passés en ta compagnie. Merci de la confiance que tu m'as accordée.

**A Madame le Docteur Carolane MIGEREL**

*Docteur en Chirurgie Dentaire*

Ce jury n'aurait pas pu représenter le service de pédodontie si tu n'en avais pas pris part et pour cela je te remercie. Tu fais preuve d'une bonne humeur à toute épreuve et t'assister durant tes vacances a été enrichissant et formateur. Ce fut un véritable plaisir de travailler en ta compagnie. Je t'en remercie très chaleureusement.

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>PARTIE I : LE SYNDROME D'APNÉES-HYPOPNÉES OBSTRUCTIVES DU SOMMEIL DE L'ENFANT : LE POINT EN 2021 .....</b>	<b>2</b>
<b>1. Définitions.....</b>	<b>2</b>
<b>2. Epidémiologie.....</b>	<b>3</b>
<b>3. Physiopathologie du SAHOS .....</b>	<b>4</b>
3.1. Anatomie .....	4
3.2. Durant l'éveil .....	5
3.3. Durant le sommeil .....	5
3.4. Causes de l'obstruction dans le SAHOS pédiatrique .....	7
3.5. Autres facteurs de risques .....	12
<b>4. Conséquences cliniques du SAHOS .....</b>	<b>13</b>
<b>5. Rôle de l'odontologiste pédiatrique dans la démarche diagnostique .....</b>	<b>14</b>
5.1. Interrogatoire et anamnèse.....	14
5.2. Examen clinique.....	14
5.3. Examens complémentaires.....	15
<b>6. Prise en charge thérapeutique du SAHOS .....</b>	<b>17</b>
6.1. Prise en charge chirurgicale .....	17
6.2. Prise en charge médicale .....	19
6.3. Prise en charge orthodontique.....	19
6.4. Prise en charge ventilatoire .....	20
<b>7. Conclusion.....</b>	<b>21</b>
<b>PARTIE II : REVUE NARRATIVE DE LA LITTÉRATURE .....</b>	<b>22</b>
<b>1. Revue narrative de la littérature.....</b>	<b>22</b>
1.1. Identification des articles.....	22
1.2. Sélection des articles .....	23
<b>2. Adénovirus, rhinovirus, hMPV .....</b>	<b>25</b>
<b>3. Le virus d'Epstein-Barr .....</b>	<b>26</b>
<b>4. Le virus respiratoire syncytial.....</b>	<b>27</b>
<b>5. Les entérovirus.....</b>	<b>28</b>
<b>6. Conclusion.....</b>	<b>28</b>
<b>PARTIE III : PROPOSITION D'UN PROTOCOLE DE RECHERCHE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>29</b>
<b>1. Justification scientifique .....</b>	<b>29</b>
<b>2. Qualification de la recherche .....</b>	<b>29</b>
<b>3. Hypothèse de recherche.....</b>	<b>29</b>
<b>4. Lieu d'étude .....</b>	<b>29</b>
<b>5. Population et méthodes.....</b>	<b>30</b>
5.1. Schéma d'étude .....	30
5.2. Population étudiée .....	30
<b>6. Protocole de recherche .....</b>	<b>31</b>
6.1. Récupération et préparation des AP.....	31
6.2. Extraction et purification de l'ADN .....	32
6.3. Quantification des acides nucléiques .....	37
6.4. Identification de l'EBV dans les AP par PCR quantitative (qPCR) .....	38
<b>7. Conclusion.....</b>	<b>44</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>45</b>
<b>RÉFÉRENCES.....</b>	<b>46</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>52</b>

## **ABRÉVIATIONS**

**AAP** : American Academy of Pediatrics  
**AAPD** : American Association of Pediatric Dentistry  
**AAO** : American Association of Orthodontists  
**AAO-HNS** : American Academy of Otolaryngology–Head and Neck Surgery  
**AC** : amygdalite chronique  
**ADN** : acide désoxyribonucléique  
**ADNc** : ADN complémentaire  
**AdV** : adénovirus  
**AP** : amygdales palatines  
**ARNm** : acide ribonucléique messenger  
**CD** : chirurgien-dentiste  
**CHUN** : Centre Hospitalier Universitaire de Nice  
**CMV** : cytomégalovirus  
**CoV** : coronavirus  
**CRP** : protéine C réactive  
**Ct** : cycle seuil  
**dNTPs** : désoxyribonucléotides  
**DO** : densité optique  
**EBNA-1** : Epstein-Barr Nuclear Antigen-1  
**EBV** : Epstein Barr Virus  
**EV** : entérovirus  
**FFO** : Fédération Française d'Orthodontie  
**HAS** : Haute Autorité de Santé  
**HHV** : Human Herpès Virus  
**hMPV** : human metapneumovirus  
**HPNCL** : Hôpitaux Pédiatriques de Nice CHU-LENVAL  
**HPV** : Human Papillomavirus  
**HSV** : Herpès Simplex Virus  
**IAH** : index d'apnées-hypopnées  
**IF** : immunofluorescence  
**IHC** : immunohistochimie  
**IL6** : interleukine 6  
**INDS** : Institut National des Données de Santé  
**InfV** : virus influenza  
**LMP1** : Latent membran protein 1  
**MALT** : Mucosae Associated Lymphoid Tissue  
**MICORALIS** : Microbiologie Orale, Immunothérapie et Santé  
**NGF** : Nerve Growth Factor  
**NK1** : neurokinine-1  
**ORL** : Oto-Rhino-Laryngologiste  
**PCR** : Polymerase Chain Reaction  
**PoV** : Poliomavirus  
**PPC** : Pression Positive Continue  
**PSG** : polysomnographie

**qPCR** : PCR quantitative  
**RCF** : Relative Centrifugal Force  
**rpm** : revolutions per minute  
**RT** : reverse transcription  
**RV** : rhinovirus  
**SAHOS** : Syndrome d'Apnées-Hypopnées Obstructives du Sommeil  
**SFORL** : Société Française d'Oto-Rhino-Laryngologie  
**TNF $\alpha$**  : Tumor Necrosis Factor  $\alpha$   
**trkA** : tyrosine kinase A  
**TROS** : troubles respiratoires obstructifs du sommeil  
**VAS** : voies aériennes supérieures  
**VEGF** : Vascular Endothelial Growth Factor  
**VPI** : Virus Parainfluenza  
**VRS** : Virus respiratoire syncytial

## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau I** : sévérité du SAHOS en fonction de l'IAH

**Tableau II** : résultats de la recherche électronique effectuée sur les bases de données *PubMed* et *The Cochrane Library*

**Tableau III** : niveau de preuve et grade des recommandations des sept études incluses, selon la HAS

**Tableau IV** : résultats du Ct et seuil pour les trois gènes étudiés par qPCR

## LISTE DES FIGURES

**Figure 1** : schéma des voies aériennes supérieures et des différents sites d'obstructions

**Figure 2** : illustration du modèle de Starling qui peut s'appliquer pour modéliser le pharynx au cours du sommeil (composition personnelle)

**Figure 3** : modélisation d'une hypertrophie conduisant au collapsus du pharynx via l'augmentation de la vitesse et donc de la baisse de la pression endoluminale (composition personnelle)

**Figure 4** : hypertrophie amygdalienne de grade III chez un enfant de 4 ans (CHUN)

**Figure 5** : anneau de Waldeyer (composition personnelle)

**Figure 6** : classification de l'hypertrophie amygdalienne selon les grades de Friedman et *al.*

**Figure 7** : nouveau-né diagnostiqué avec le syndrome de Pierre Robin, une rétrognathie mandibulaire et une glossoptose sont présents

**Figure 8** : palais haut et étroit chez un enfant de 9 ans (CHUN)

**Figure 9** : frein labial maxillaire à insertion papillaire (CHUN)

**Figure 10** : brièveté du frein lingual (CHUN)

**Figure 11** : faciès adénoïdiens de face et de profil (CHUN)



**Figure 12** : enfant avec les capteurs de polysomnographie au laboratoire de sommeil  
**Figure 13** : enfant de 8 ans bénéficiant d'une polygraphie ventilatoire à domicile  
**Figure 14** : proposition de diagramme décisionnel par Aubertin et *al.* pour la réalisation d'un examen du sommeil chez l'enfant de 3 à 8 ans suspecté de syndrome d'apnées obstructives du sommeil sans comorbidité associée  
**Figure 15** : amygdalectomie totale par dissection à la lame froide (vue opératoire inversée)  
**Figure 16** : amygdalectomie subtotale intracapsulaire  
**Figure 17** : matériel d'expansion rapide du maxillaire par disjonction (CHUN)  
**Figure 18** : enveloppe nasale de ventilation non invasive, à fuites  
**Figure 19** : schéma résumant la prise en charge pluridisciplinaire du SAHOS chez l'enfant  
**Figure 20** : diagramme de flux des références d'après Page *et al.*  
**Figure 21** : procédure illustrée du QIAamp DNA Mini Kit (composition personnelle)  
**Figure 22** : extraction d'ADN par adsorption sur colonne de silice (composition personnelle)  
**Figure 23** : exemple de ticket obtenu à l'aide du spectrophotomètre Biochrom™ SimpliNano  
**Figure 24** : procédé de la sonde fluorescente SYBR Green (composition personnelle)  
**Figure 25** : plan de plaque pour la qPCR contenant les 15 échantillons ainsi que le contrôle négatif (H<sub>2</sub>O)  
**Figure 26** : plaque 96 puits (MicroAmp™ EnduraPlate™ Optical 96-Well Clear Reaction Plates with Barcode, Applied Biosystems®) scellée avec un film adhésif  
**Figure 27** : plan de plaque, des 15 échantillons et du contrôle négatif H<sub>2</sub>O, rentré sur le logiciel QuantStudio™ Design & Analysis 2.5.0  
**Figure 28** : interprétation de l'Amplification Plot situé l'onglet Quality check du logiciel QuantStudio™ Design & Analysis 2.5.0

## LISTE DES ANNEXES

**Annexe 1** : questionnaire d'après Franco et *al.* sur la qualité de vie de l'enfant atteint de SAHOS  
**Annexe 2** : liste des ORL pédiatriques exerçant dans les Alpes-Maritimes (06) en France  
**Annexe 3** : caractéristiques des principaux virus retrouvés dans la littérature scientifique en lien avec le SAHOS pédiatrique  
**Annexe 4** : note d'information des parents ou des représentants parentaux et formulaire de consentement

## INTRODUCTION

Le Syndrome d'Apnées-Hypopnées Obstructives du Sommeil (SAHOS) a d'abord été décrit dans la littérature médicale comme un trouble affectant les hommes adultes souffrant d'obésité. Il a fallu attendre 1976 pour que le premier cas de SAHOS chez l'enfant soit publié dans la littérature (1).

Malheureusement, le SAHOS est sous-diagnostiqué et insuffisamment pris en charge dans la population pédiatrique (2). Du fait de ses conséquences sévères sur le développement et la santé de l'enfant, il représente un problème de santé publique avec un enjeu sanitaire, économique et social (3). C'est pourquoi de nombreuses sociétés savantes françaises (Fédération Française d'Orthodontie (FFO), Société Française d'Oto-Rhino-Laryngologie (SFORL)) ainsi que des associations internationales (American Academy of Pediatrics (AAP), American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD), American Association of Orthodontists (AAO), American Academy of Otolaryngology–Head and Neck Surgery (AAO-HNS)) ont publié récemment des recommandations concernant le diagnostic et la prise en charge thérapeutique du SAHOS (4–8).

Parmi les étiologies connues, la plus fréquente chez l'enfant sain est l'hypertrophie des amygdales palatines (AP) (5,9). Ces dernières font partie du cercle de Waldeyer situé aux interfaces épithéliales de l'organisme avec l'environnement et représentent la première ligne de défense contre les agents infectieux notamment les virus (10). Les AP voient leur taille varier au cours de la croissance mais aussi en cas d'infection (3). Leur hypertrophie risque d'entraîner une diminution du flux respiratoire lors du sommeil, activité primordiale pour le développement physiologique de l'enfant qui passe entre la moitié et le tiers de son temps à dormir (11).

En premier lieu nous décrivons les connaissances actuelles concernant la physiopathologie et la prise en charge du SAHOS pédiatrique. Par la suite une revue narrative de la littérature sera effectuée en ciblant les infections virales qui auraient un impact sur le développement du SAHOS chez l'enfant. Ce qui nous amènera à proposer un protocole de recherche expérimentale dont l'objectif sera de rechercher la présence de virus de la famille des herpès dans les AP d'enfants atteints de SAHOS au sein du laboratoire MICORALIS.

# PARTIE I : LE SYNDROME D'APNÉES-HYPOPNÉES OBSTRUCTIVES DU SOMMEIL DE L'ENFANT : LE POINT EN 2021

## 1. Définitions

Le **SAHOS** fait partie des troubles respiratoires obstructifs du sommeil (TROS) les plus courants dans la population pédiatrique (12). La classification internationale des troubles du sommeil définit une **apnée** comme une cessation du flux aérien (réduit de 90 % ou plus) pendant au moins deux cycles respiratoires (13).

Deux types d'apnée se distinguent : celle dite d'origine centrale définie par une absence de mouvements respiratoires ; et celle dite d'origine obstructive durant laquelle des mouvements respiratoires sont persistants. Tandis que l'**hypopnée** se caractérise par une diminution du flux aérien entre 30 et 90 %.

Le SAHOS est défini par des respirations anormales ou des arrêts de la respiration avec une ventilation insuffisante lors du sommeil. L'**index d'apnées-hypopnées** (IAH) correspond au nombre d'apnées obstructives et/ou d'hypopnées par tranche horaire obtenues par un enregistrement polysomnographique (4). L'index est considéré comme **anormal** lorsqu'il est **supérieur à 1,5**. Classiquement le SAHOS est dit modéré à sévère lorsque l'IAH est supérieur à 5, mais des variations existent entre les auteurs (Tableau I).

**Tableau I** : sévérité du SAHOS en fonction de l'IAH (14,15)

Sévérité du SAHOS	Selon Mitchell et Kelly en 2007 (14)	Selon Moraleda-Cibrián et <i>al.</i> en 2015 (15)
Léger	$2 < \text{IAH} < 5$	$1 < \text{IAH} < 5$
Modéré	$5 < \text{IAH} < 15$	$5 < \text{IAH} < 10$
Sévère	$\text{IAH} > 15$	$\text{IAH} > 10$

IAH (index d'apnées-hypopnées) ; SAHOS (syndrome d'apnées-hypopnées obstructives du sommeil)

La sévérité du SAHOS tient compte de l'IAH, mais surtout des comorbidités (notamment les malformations et l'obésité) ce qui explique cette absence de consensus (5).

En 2008, Capdevila et Gozal proposaient une classification du SAHOS pédiatrique en trois types (16) :

- **Type I** : hypertrophie adéno-amygdalienne obstructive ou anomalie orthodontique ;
- **Type II** : obésité, syndrome métabolique (hypertension artérielle, résistance à l'insuline, syndrome inflammatoire biologique) ;
- **Type III** : pathologie malformative de la tête et du cou, maladies génétiques entraînant des anomalies des voies aériennes supérieures (trisomie 21, syndrome de Prader-Willi, syndrome de Pierre Robin, achondroplasie, craniosténoses, etc.).

## 2. Epidémiologie

La prévalence pédiatrique du SAHOS se situe entre 1,2 et 5,7 % et reste à peu près stable durant les différentes périodes de l'enfance (12). Toutefois, il existe un pic de fréquence entre **2 et 8 ans**, ce qui coïncide avec l'accroissement du volume des tissus lymphoïdes associé à une faible croissance osseuse concomitante (4).

Les études épidémiologiques évaluant la prévalence du SAHOS chez l'**adolescent** (17–22) utilisent des méthodologies et des critères diagnostics différents (absence d'utilisation de l'enregistrement polysomnographique en milieu hospitalier) ou sont réalisées dans des pays distincts ou sur des populations particulières, expliquant la grande variabilité des résultats obtenus qui se situent entre 0,5 et 6 % (23).

Avant la puberté le SAHOS touche autant les filles que les garçons mais à l'âge adulte les **hommes** seraient plus touchés. Cela débiterait juste après le pic pubertaire, moment où la croissance de la langue est plus importante chez les garçons que chez les filles et qui peut constituer un obstacle respiratoire (3,12,23).

Des cas familiaux de SAHOS ont été mis en évidence (13). L'origine génétique ou environnementale n'est pas clairement mise en cause mais les deux seraient probablement contributrices (13).

### 3. Physiopathologie du SAHOS

Pour comprendre la physiopathologie du SAHOS pédiatrique il est important de comprendre la physiologie de la respiration et du sommeil.

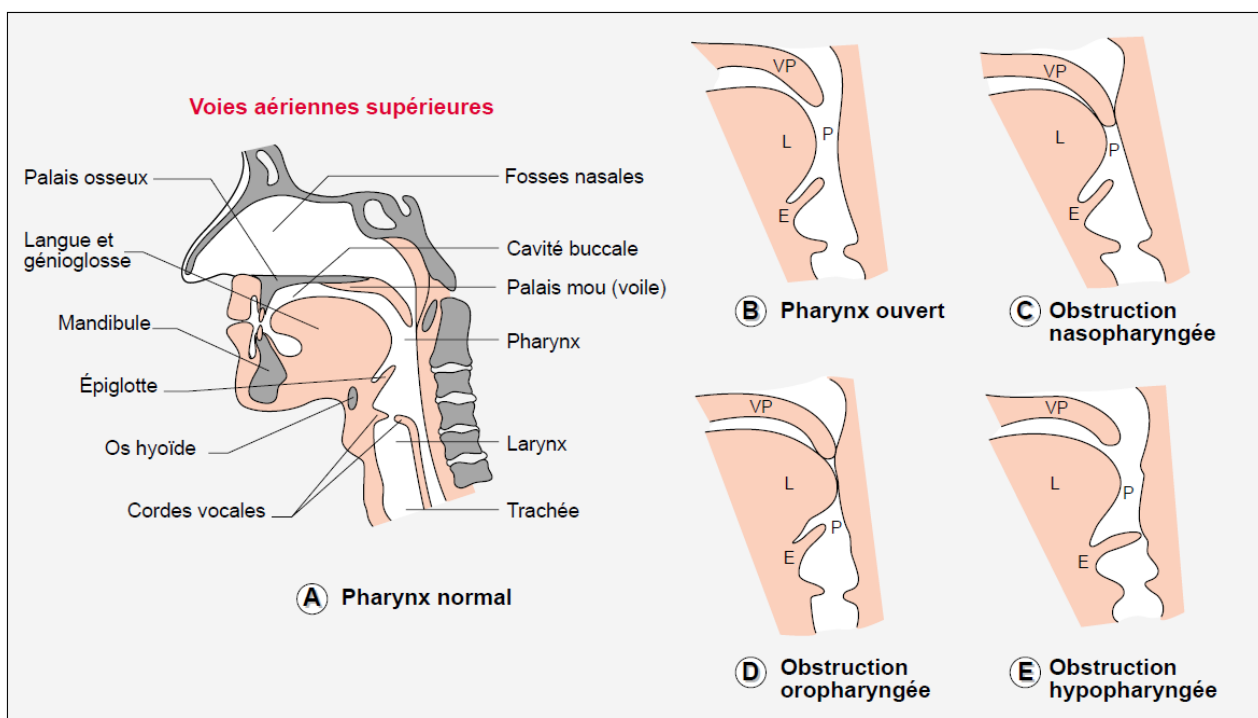
#### 3.1. Anatomie

Les voies aériennes supérieures (VAS) (figure 1) présentent une structure complexe. Elles s'étendent des fosses nasales à la trachée cervicale. Le segment impliqué dans la pathogénie du SAHOS est le **pharynx**.

L'obstruction lors du SAHOS peut siéger au niveau d'un ou plusieurs sites du pharynx :

- le voile du palais : **obstacle nasopharyngé** ou vélopharyngé (Figure 1C) ;
- en arrière de la base de la langue : **obstacle oropharyngé** ou rétro-lingual (Figure 1D) ;
- l'hypopharynx : **obstacle hypopharyngé** (Figure 1E) (24–26).

**Figure 1** : schéma des voies aériennes supérieures et des différents sites d'obstructions (27)



VP : voile du palais ; L : langue ; P : pharynx ; E : épiglotte

Le pharynx n'est pas circonscrit par une armature rigide osseuse ou cartilagineuse maintenant son ouverture au repos pour la respiration. Son ouverture dépend essentiellement de la contraction coordonnée des muscles dilatateurs du pharynx. Ces derniers ont une activité tonique permanente et une activité phasique inspiratoire qui lutte

contre la pression inspiratoire générée par le diaphragme et qui tend à fermer la lumière du pharynx (28).

*Pour rappel, chaque muscle est capable de fournir une activité tonique : permet le maintien d'une position d'un segment osseux (ex : garder le bras tendu vers l'avant) en ne nécessitant pas beaucoup de force et peu d'énergie et une activité phasique : permet la mobilisation de segments osseux (ex : faire des tractions) en nécessitant de la force et plus d'énergie (29).*

### 3.2. Durant l'éveil

Les **activités** toniques et phasiques sont **coordonnées** pour assurer un diamètre suffisant des VAS et une mobilisation du volume pulmonaire adapté aux besoins ventilatoires que ce soit chez les patients sains ou les patients atteints de SAHOS. Ces derniers ont peu ou pas de troubles des VAS pendant l'éveil, cela est dû notamment à une activité phasique des muscles dilateurs du pharynx augmentée pour compenser l'obstruction (28,30).

### 3.3. Durant le sommeil

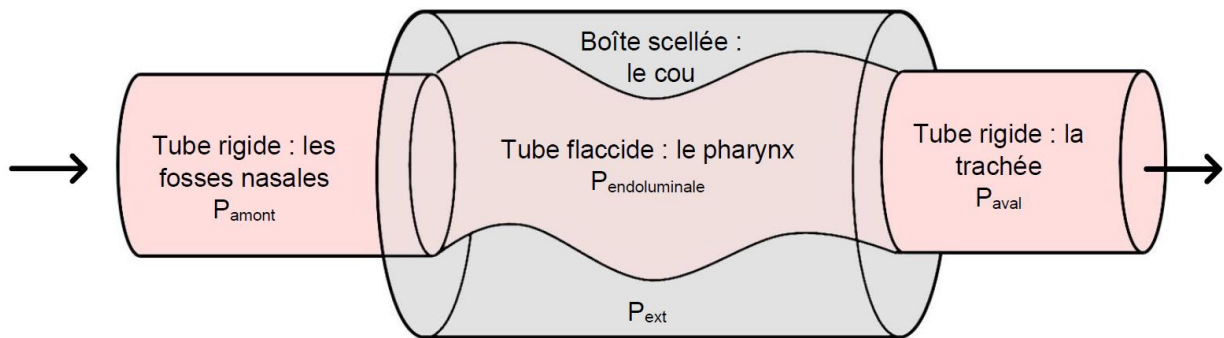
L'activité musculaire tonique et phasique des muscles dilateurs du pharynx diminue progressivement de l'état de veille au sommeil non paradoxal, puis au sommeil paradoxal où l'activité tonique atteint seulement 20 à 30 % de l'activité de l'éveil (31).

Cette **diminution du tonus dilateur** des VAS est accompagnée d'une diminution de l'activité du diaphragme et des muscles intercostaux, avec une pression inspiratoire qui décroît, permettant le maintien d'une perméabilité des VAS (4).

Chez les patients atteints de SAHOS le pharynx se collapse entraînant des apnées. Gold et Schwartz en 1996 (32) proposaient de modéliser le pharynx par un tube souple de section variable permettant à l'aide de plusieurs lois physiques d'expliquer comment ce collapsus peut se créer :

- La **loi de Poiseuille** dit que le débit d'un liquide ou d'un gaz en flux laminaire à travers un tube dépend de :
  - la **différence de la pression** entre les deux extrémités rigides du tube ;
  - du **rayon** ( $r^4$  : une petite diminution du rayon entraîne une grosse diminution débit) ;
  - de la **longueur du tube** ;
  - de la **viscosité**.

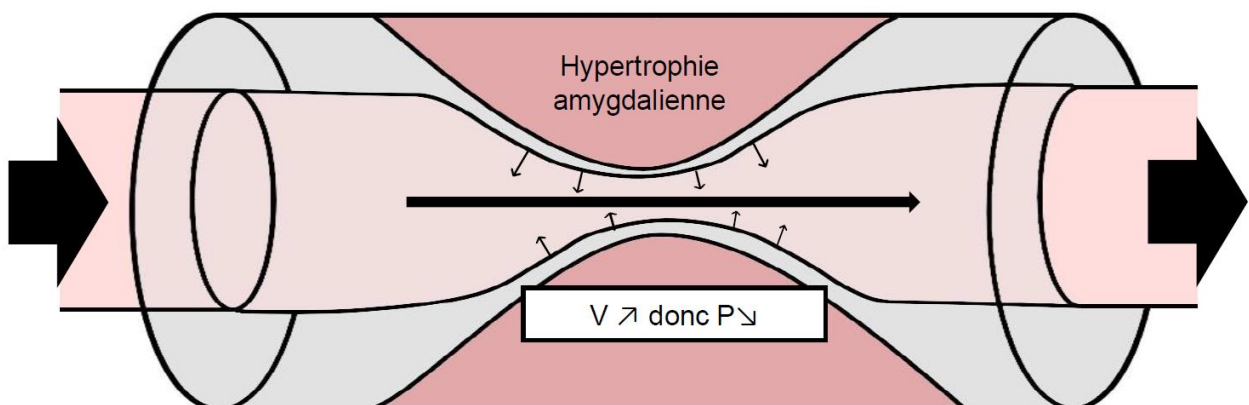
**Figure 2** : illustration du modèle de Starling qui peut s'appliquer pour modéliser le pharynx au cours du sommeil (composition personnelle)



- Si le calibre n'est pas régulier comme dans le cas d'une obstruction, **l'effet Venturi** s'applique :
  - **vitesse du flux augmentée** au niveau du rétrécissement et le régime d'écoulement n'est plus laminaire mais turbulent ;
  - Or **le théorème de Bernoulli** dit que la **pression diminue** lorsque le flux est accéléré, cela facilite le **collapsus** des parois du tube si celles-ci sont souples.

⇒ C'est le premier élément responsable de la fermeture du pharynx (4).

**Figure 3** : modélisation d'une hypertrophie conduisant au collapsus du pharynx via l'augmentation de la vitesse et donc de la baisse de la pression endoluminale (composition personnelle)



**V** : vitesse de l'air inspiré. **P** : pression endoluminale.

### 3.4. Causes de l'obstruction dans le SAHOS pédiatrique

#### 3.4.1. Obésité

L'**obésité** apparaît comme le principal facteur de risque de SAHOS (5). Sa fréquence est estimée entre 19 et 61 % chez l'enfant (3). De plus, la sévérité du SAHOS serait proportionnelle au degré d'obésité (33).

Chez l'adolescent obèse le risque de survenue de SAHOS est multiplié par un facteur de 4 à 5 (34,35).

L'obésité contribuerait de plusieurs manières à la réduction du calibre des VAS :

- En induisant des **dépôts excessifs de graisse** dans les parois latérales du pharynx, mais aussi sous la mandibule, dans la langue, dans le palais mou et dans la luette (36) ;
- En entraînant une **augmentation tissulaire non graisseuse** qui tend à épaissir les parois des VAS. Son effet sur le thorax agit indirectement sur les VAS : l'ensemble des structures intrathoraciques est refoulé vers le haut par la masse graisseuse abdominale, surtout en décubitus. La trachée n'exerçant plus sa traction des VAS vers le bas, cela induit un épaississement de leurs parois par un **effet accordéon** (37).

#### 3.4.2. L'hypertrophie amygdalienne

**Figure 4** : hypertrophie amygdalienne de grade III chez un enfant de 4 ans (Centre Hospitalier Universitaire de Nice (CHUN))



La physiopathologie du SAHOS chez l'enfant reste encore mal comprise mais pour les enfants non obèses l'**hypertrophie amygdalienne** (Figure 4) est de loin la **cause majeure** (9,38,39).

Le système immunitaire est composé d'organes et de tissus dits lymphoïdes dévolus à la production de lymphocytes et aux fonctions immunitaires. Les **organes lymphoïdes primaires** servent à la différenciation et à la maturation des lymphocytes B et T. Les

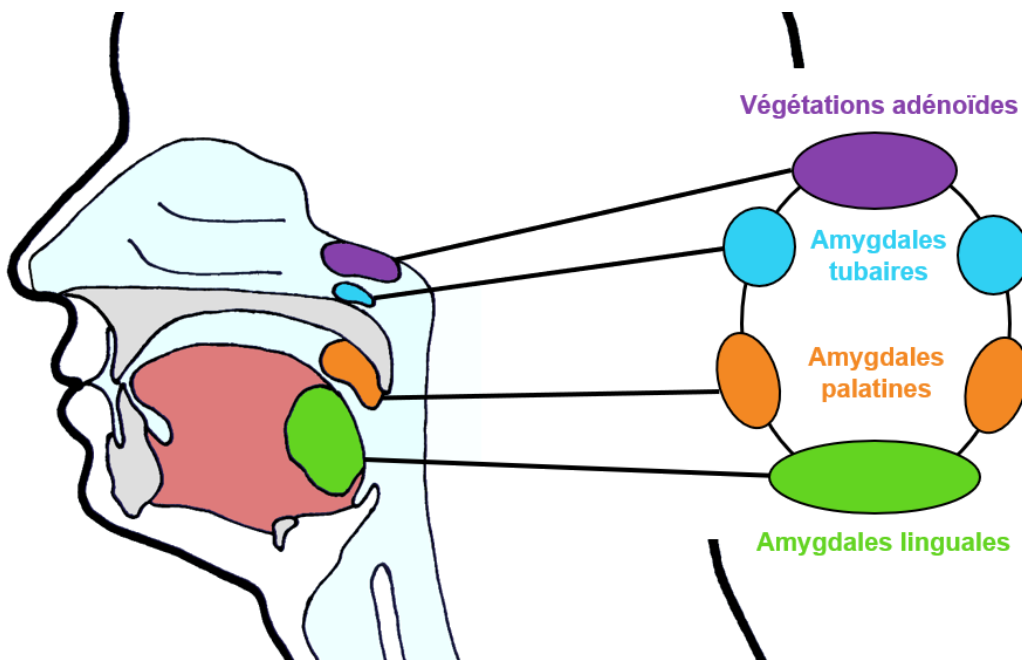


**organes lymphoïdes secondaires** sont peuplés de ces cellules et sont le lieu des coopérations cellulaires aboutissant à la réponse immunitaire adaptative.

Ces organes lymphoïdes secondaires ou périphériques sont classés en **organes systémiques** et **muqueux**. Ces derniers regroupent sous le nom de tissu lymphoïde associé aux muqueuses ou **MALT** (Mucosae Associated Lymphoid Tissue), des entités organiques nombreuses et variées comme la muqueuse respiratoire, digestive ou encore l'anneau de Waldeyer (Figure 5)(40).

**L'anneau de Waldeyer** est le nom donné à l'ensemble du tissu lymphatique entourant de façon circulaire le pharynx. Il comprend les **amygdales** pharyngées (aussi appelées végétations adénoïdes), palatines, tubaires et linguales (Figure 5)(41). En cas d'infection, les amygdales pharyngées peuvent présenter une modification de leur aspect, une augmentation de leur volume et être douloureuses.

**Figure 5** : anneau de Waldeyer (composition personnelle)



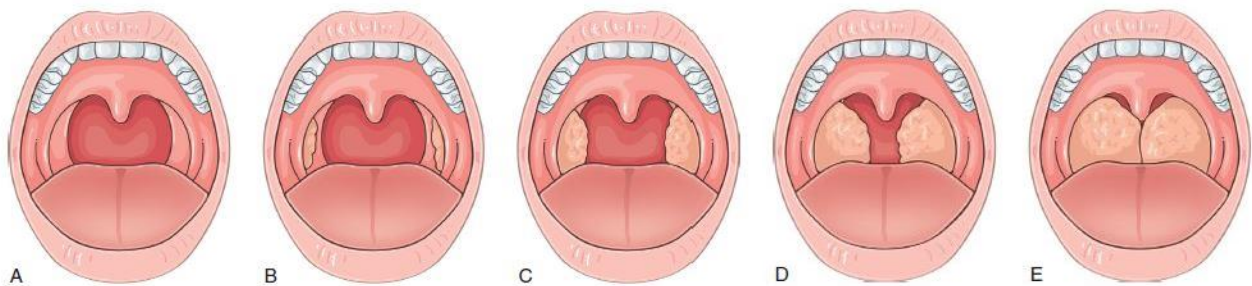
L'anneau de Waldeyer est le plus développé entre l'âge de 3 et 6 ans, cela est dû aux infections virales récurrentes chez l'enfant de cet âge (42). Or entre 2 et 8 ans l'augmentation du volume adéno-amygdalien est plus rapide que la croissance du nasopharynx (23). Il peut donc se produire une **hypertrophie relative au contenant**. Les organes lymphoïdes croissent pour causes infectieuses mais à cause du contenant trop petit, des anomalies de la respiration peuvent se produire due à la réduction trop importante

de la lumière pharyngée. C'est ainsi que le pic de croissance de l'anneau de Waldeyer concorde avec celui d'incidence du SAHOS (43,44). Ce **phénomène physiologique** est présent chez tous les enfants mais de manière **plus marquée** chez les patients atteints de SAHOS pour cause d'hypertrophie.

Puis le diamètre des VAS croît proportionnellement aux tissus mous jusqu'à l'âge de 11 ans. Après cet âge, le diamètre des VAS augmente plus vite que les tissus adéno-amygdaliens expliquant la baisse du rôle étiologique de l'hypertrophie adéno-amygdalienne dans la genèse du SAHOS chez l'adolescent (43).

L'hypertrophie des AP est évaluée à l'aide des grades de Friedman et *al.* (Figure 6) ou à l'aide du score de Brodsky (45).

**Figure 6** : classification de l'hypertrophie amygdalienne selon les grades de Friedman et *al.* (45)



- A. Grade 0** : la luette et les piliers de la loge amygdalienne sont visibles
- B. Amygdales Grade I** : les amygdales sont cachées dans la loge
- C. Amygdales Grade II** : les amygdales dépassent la loge
- D. Amygdales Grade III** : les amygdales dépassent largement la loge sans dépasser le milieu
- E. Amygdales Grade IV** : les amygdales sont jointives au niveau de la luette

Les enfants présentant un grade IV (Figure 6E) ont beaucoup plus de risques de développer des TROS à cause du rétrécissement oropharyngé et du collapsus latéral (46). Cependant les études n'ont pas réussi à mettre en évidence une corrélation entre la sévérité du SAHOS et le degré d'hypertrophie amygdalienne (23).

De plus une étude de Guillemainault et *al.* prouvait que le SAHOS peut se reproduire des années après l'amygdalectomie (47).

#### 3.4.4. Rhinites allergiques

Les rhinites allergiques peuvent affecter le sommeil par différents mécanismes. En effet, la **congestion nasale** secondaire à l'inflammation de la muqueuse nasale induit une augmentation de la résistance des voies respiratoires, une augmentation de la pression dans les fosses nasales et donc en conséquence un collapsus possible du pharynx entraînant un SAHOS (48).

De plus, les **médiateurs inflammatoires** lors du processus allergique tels que l'histamine et certaines cytokines, peuvent agir directement sur le système nerveux central en modifiant le rythme du sommeil (49) mais aussi entraîner l'hypertrophie amygdalienne (50,51).

#### 3.4.5. Langue

A l'**adolescence** survient une **croissance** de la langue plus importante chez les garçons que chez les filles pouvant être responsable d'un obstacle respiratoire (47,52).

La langue peut être aussi hypertrophique à cause d'un **désordre génétique** (syndrome de Beckwith-Widemann, trisomie 21), d'une **tumeur** bénigne ou maligne ou d'une **malformation** veino-lymphatique et donc conduire à un rétrécissement des VAS susceptible de se majorer en inspiration lors du sommeil (4).

#### 3.4.6. Anomalies des bases osseuses

Les structures osseuses peuvent entraîner un rétrécissement des VAS. Parmi 400 enfants et adolescents atteints de SAHOS et non obèses, Kim et Guilleminault ont mis en évidence des **troubles anatomiques** (rétrognatisme, hypomandibulie, et palais ogival) dans **87 %** des cas, alors que l'hypertrophie amygdalienne avec un grade supérieur à II du score de Friedman n'existaient que chez 72 % d'entre eux (53).

Les anomalies des bases osseuses peuvent s'intégrer dans un cadre génétique malformatif présent dès la naissance ou alors s'exprimer lors de la croissance.

Dès la naissance :

C'est le cas des **malformations craniofaciales** (Crouzon, Apert, autres craniosténoses).

Moraleda-Cibrián et *al.* décrivaient la présence de SAHOS chez 58 % d'enfants atteints de malformation crâniofaciale (87 sur 151)(15).

La **mandibule** peut également être responsable d'un rétrécissement des VAS essentiellement par **glossoptose** (*langue qui chute en arrière dans la gorge*) dans le cas de syndromes tels que Pierre Robin (Figure 7), Goldenhar (4).

**Figure 7** : nouveau-né diagnostiqué avec le syndrome de Pierre Robin (48), une rétrognathie mandibulaire et une glossoptose sont présents



Lors de la croissance :

Le syndrome de Marfan ou d'Ehlers-Danlos dans lesquels on retrouve une anomalie de croissance du maxillaire se traduisent par un **palais anormalement haut et étroit** (Figure 8)(4).

**Figure 8** : palais haut et étroit chez un enfant de 9 ans (CHUN)



La croissance du maxillaire va être influencée par des forces musculaires appliquées essentiellement par la langue avant l'âge de 6 ans. Cette dernière ne s'appuie pas sur le palais chez les enfants respirateurs buccaux exclusifs (déglutition primaire) entraînant une largeur maxillaire diminuée (54).

Les patients présentant un frein lingual court sont plus fréquemment atteints du SAHOS contrairement aux enfants possédant un frein lingual de taille normale (35% d'enfants avec SAHOS avaient un frein lingual court alors que la fréquence de celui-ci est de 2 à 10% dans la population pédiatrique (4)) :

- Frein labial maxillaire (Figure 9) limitant l'expansion antérieure du maxillaire (4) ;
- Frein lingual entraînant une ankyloglossie (Figure 10) et donc une largeur maxillaire diminuée.

**Figure 9** : frein labial maxillaire à insertion papillaire (CHUN)



**Figure 10** : brièveté du frein lingual (CHUN)



#### 3.4.6.1. Tonus dilatateur du pharynx diminué

Certains états neurologiques (infirmité cérébrale), musculaires (myopathies, trisomie 21) (55) ou la prise de certains médicaments (benzodiazépines) ou de toxiques (alcool) (56) diminuent le tonus des muscles dilatateurs du pharynx.

#### 3.4.6.2. Autres anomalies

L'abaissement de l'os hyoïde et l'allongement du conduit aérien (du palais dur à la base de l'épiglotte) est parfois aussi retrouvé comme cause de SAHOS (57,58).

### 3.5. Autres facteurs de risques

On retrouve d'autres facteurs de risque tels que l'exposition au **tabac**, la **prématurité**, l'**asthme** ainsi que le **reflux gastro-œsophagien** (4).

L'hypertrophie amygdalienne est ainsi peu susceptible d'être suffisante à elle seule pour entraîner un SAHOS chez l'enfant. Cette hypertrophie semble plutôt précipiter un SAHOS chez les enfants possédant des anomalies sous-jacentes des VAS (52).

#### 4. Conséquences cliniques du SAHOS

Les complications potentielles du SAHOS chez l'enfant sont essentiellement neurocognitives, comportementales, cardiovasculaires et métaboliques.

Il existe une augmentation de la prévalence des **troubles neurocognitifs**. Le manque d'oxygénation lié au SAHOS associé à la fatigue chronique peut affecter les capacités intellectuelles et cognitives de l'enfant (21). Des troubles de l'attention, du langage, des apprentissages (écriture, calcul), troubles de la mémoire, anomalies des fonctions exécutives ont été mis en évidence (59). Les enfants sont plus endormis durant la journée, sont moins capables de se concentrer à l'école et plus irritables (60). Par ailleurs le SAHOS est parfois décrit comme facteur favorisant l'hyperactivité (4). Si les troubles comportementaux s'améliorent après la prise en charge du SAHOS, les troubles cognitifs semblent irréversibles (61).

Le SAHOS chez l'enfant peut conduire à des **perturbations autonomiques et cardiovasculaires** : insuffisance cardiaque droite et gauche (62) et une hypertension artérielle. Cette hypertension serait favorisée par l'activation du système nerveux autonome, les épisodes d'hypoxie répétés et la fragmentation du sommeil (63). Un **retard de croissance** staturo-pondérale peut être retrouvé. En effet, un trouble respiratoire du sommeil non traité peut générer une diminution de la sécrétion des hormones de croissance (5).

Chez les enfants obèses, des **perturbations métaboliques** telles qu'une augmentation de la protéine C réactive (CRP), du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), du facteur de nécrose tumorale (TNF $\alpha$ ), de l'interleukine 6 (IL6) ont été rapportées. Celles-ci se normaliseraient après adéno-amygdalectomie (64–66). Indépendamment de l'obésité, le SAHOS peut être à l'origine d'une cascade de **réactions inflammatoires** conduisant à une dysfonction endothéliale qui favoriserait la formation des plaques d'athéromes (67). D'autres répercussions ont été aussi rapportées : risque d'obésité majoré, vieillissement prématuré et diminution du système immunitaire (68).

Chez l'adolescent le SAHOS favorise les mêmes complications que chez l'enfant mais peut conduire en plus à des syndromes dépressifs avec parfois des tendances suicidaires associées à des conduites à risque (69,70).

## 5. Rôle de l'odontologiste pédiatrique dans la démarche diagnostique

Le chirurgien-dentiste (CD) joue un rôle déterminant dans la prise en charge pluridisciplinaire du SAHOS de l'enfant en permettant son dépistage précoce.

### 5.1. Interrogatoire et anamnèse

Lors du questionnaire médical préalable à toute consultation, le CD doit rechercher des signes évocateurs d'un SAHOS chez l'enfant, notamment via un interrogatoire précis des parents. Les symptômes du SAHOS varient durant la journée (71).

Les symptômes nocturnes incluent **ronflement**, **apnée** ou **pauses respiratoires** constatées, **sueurs** nocturnes, interruptions du sommeil (**cauchemars**, agitation durant le sommeil), **énurésie** secondaire.

Les symptômes diurnes incluent **l'obstruction nasale**, la **respiration buccale**, les problèmes de **comportement** (hyperactivité ou hypoactivité), la **somnolence** diurne excessive, la réapparition de **siestes**.

L'interrogatoire recherche des facteurs **sociaux**, **environnementaux** (pollution, allergènes, tabagisme passif, sommeil des parents et de la fratrie) et **pharmacologiques** (antihistaminiques). Parfois, on pourra s'aider de films ou d'enregistrements sonores réalisés par les parents avec un smartphone (4).

### 5.2. Examen clinique

L'examen clinique recherche les facteurs prédisposant au SAHOS, notamment (72,73) :

- Obstruction nasale (rhinite, sinusite, déviation septale...)
- Obstruction oropharyngée (amygdale, voile du palais, macroglossie, micrognathie et rétrognathie) ;
- Obstruction laryngée ;
- Le type de respiration spontanée (respirateur buccal prédominant) ;
- L'équilibre facial (faciès adénoïdien)(Figure 11) ;
- La taille des AP évaluée avec le score de Friedman (Figure 6)(45) ;
- La classe d'Angle (classe 2 prédominante avec une tendance à la rétrognathie).

**Figure 11** : faciès adénoïdiens de face et de profil (CHUN)

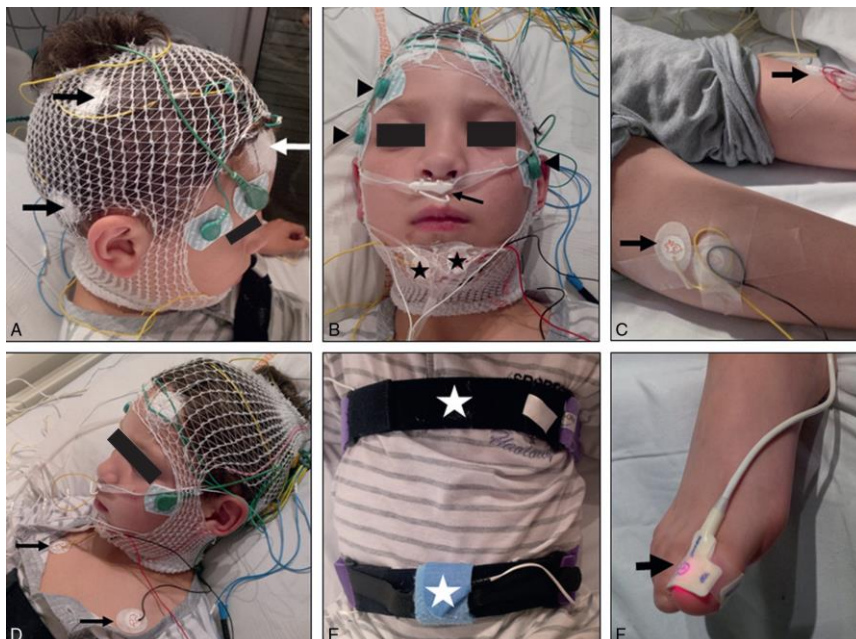


Différents modèles de questionnaires sont disponibles et aucun ne fait réellement consensus. Toutefois le questionnaire proposé par Franco et *al.* en 2000 est fréquemment utilisé comme référence pour évaluer la qualité de vie de l'enfant souffrant de SAHOS (Annexe 1)(71).

### 5.3.Examens complémentaires

**L'enregistrement nocturne par polysomnographie (PSG)** en laboratoire de sommeil constitue le gold standard (Figure 12)(3,8). Elle permet de mesurer des valeurs objectives du sommeil. Néanmoins, il existe un problème d'accessibilité à cet examen, puisque le nombre de laboratoires du sommeil en mesure d'enregistrer le sommeil chez l'enfant en France est estimé à une centaine uniquement (74).

**Figure 12** : enfant avec les capteurs de polysomnographie au laboratoire de sommeil (4)





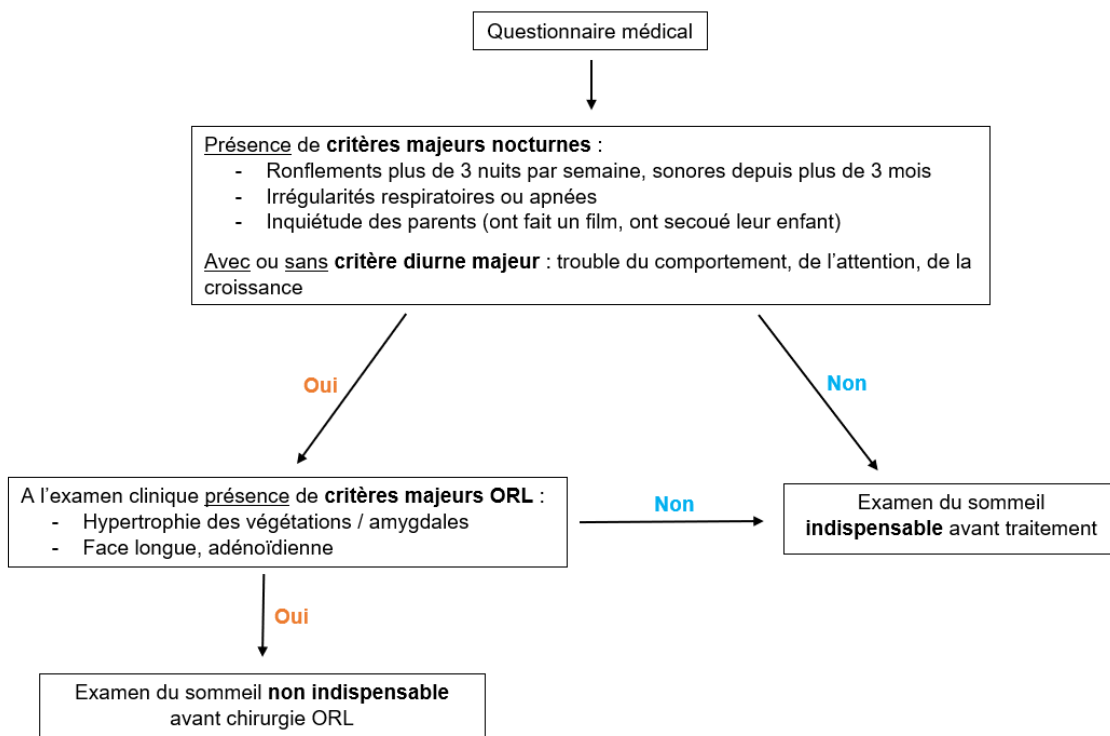
Même en se limitant strictement aux indications d'enregistrement définies par la Haute Autorité de Santé (HAS) en 2012 (74), l'inadéquation entre les besoins de PSG et l'offre de soins mène à des délais allant de 3 à 6 mois, préjudiciables pour les patients et leur famille. En raison de cet obstacle logistique, des méthodes d'enregistrement simplifiées ont été proposées telles que la **PSG à domicile** (Figure 13)(4).

**Figure 13** : enfant de 8 ans bénéficiant d'une polygraphie ventilatoire à domicile (2)



En cas d'obstruction ORL sévère associée à un tableau clinique évident de SAHOS et sans comorbidité associée, la polysomnographie avant la chirurgie n'est pas nécessaire compte tenu du caractère urgent de la prise en charge thérapeutique (Figure 14), en pratique elle n'est réalisée que chez 10% des patients subissant une chirurgie (8,75).

**Figure 14** : proposition de diagramme décisionnel par Aubertin et *al.* pour la réalisation d'un examen du sommeil chez l'enfant de 3 à 8 ans suspecté de syndrome d'apnées obstructives du sommeil sans comorbidité associée (75)



**L'examen fibroscopique**, réalisé par un ORL, sert à préciser la taille des végétations adénoïdes, la position du voile, la mobilité laryngée, ainsi que la taille de la base de langue (4).

## **6. Prise en charge thérapeutique du SAHOS**

À ce jour, il n'existe pas de consensus concernant la prise en charge thérapeutique du SAHOS. Cependant, elle se doit d'être nécessairement pluridisciplinaire (médecine du sommeil, ORL, pneumo-allergologue, orthodontiste, chirurgien-dentiste...)(76).

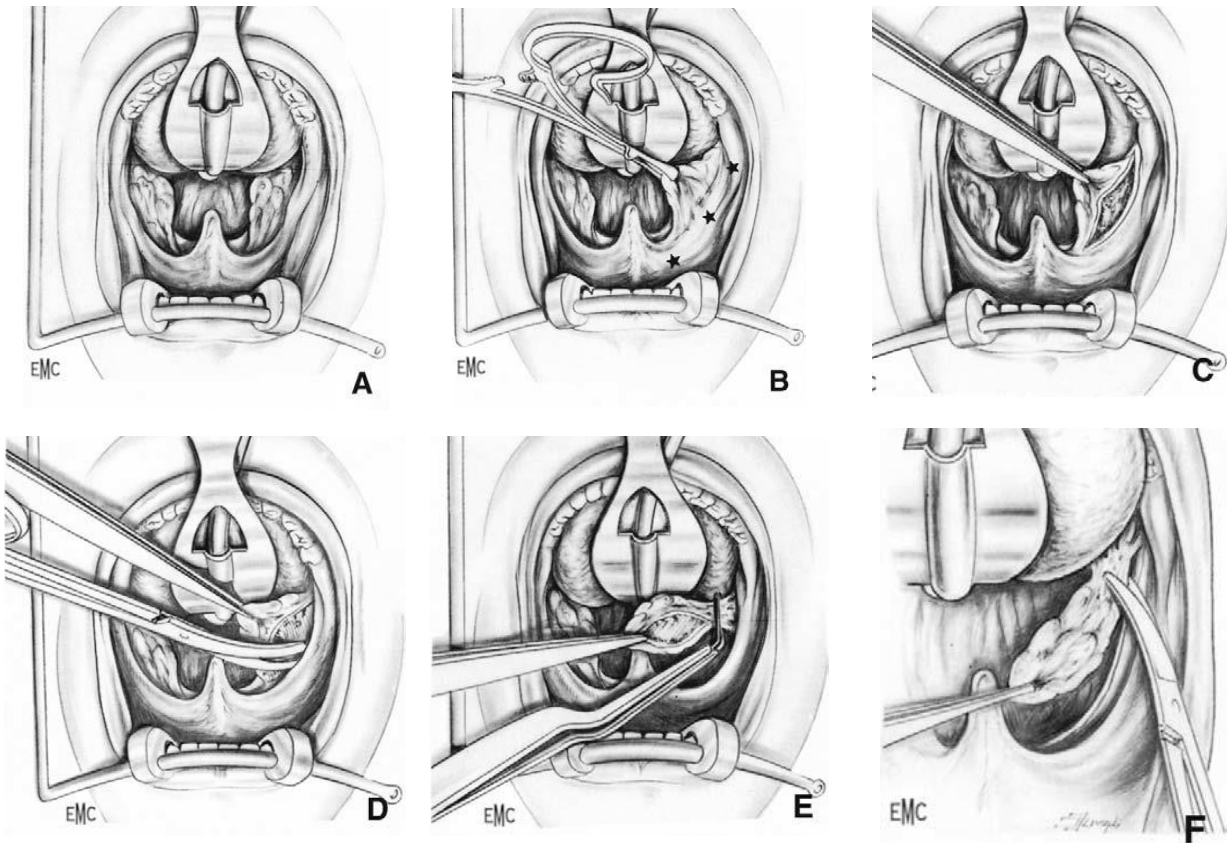
### **6.1. Prise en charge chirurgicale**

L'hypertrophie des végétations adénoïdes et/ou des amygdales est la principale cause du SAHOS (77). Même si cette hypertrophie est modérée la prise en charge chirurgicale est le traitement de choix. L'**amygdalectomie par chirurgie subtotale intracapsulaire** par radiofréquence (Figure 16) consiste à retirer la partie obstructive des deux amygdales palatines (uniquement le tissu hypertrophique qui dépasse du plan des piliers, en respectant une lame de tissu amygdalien pour protéger la capsule), sous anesthésie générale associée à une adénoïdectomie (exérèse des végétations adénoïdes). L'hémostase est soigneusement contrôlée car des risques hémorragiques existent (responsables d'un décès par an en moyenne soit 1/100 000) (4). Cette opération est efficace dans 80% des cas chez les enfants de poids normal sans comorbidité associée (78).

L'amygdalectomie intracapsulaire est désormais la technique chirurgicale la plus fréquente par rapport à l'**amygdalectomie totale** (Figure 15), durant laquelle la totalité des deux AP est retirée, car les suites opératoires sont plus simples : moins de saignements (1,8% de saignements primaires lors d'amygdalectomies totales contre 0,3% lors d'amygdalectomies subtotaux)(79), moins de douleurs et retour à la vie sociale normale plus rapide (80,81).

Mais une revue *Cochrane* publiée en 2020 a conclu que le chirurgien ORL pédiatrique devrait choisir la technique chirurgicale de son choix car il existe un risque encore trop peu étudié de récurrences de l'hypertrophie amygdalienne dans le cas de l'amygdalectomie subtotale avant de pouvoir statuer sur un gold standard (82).

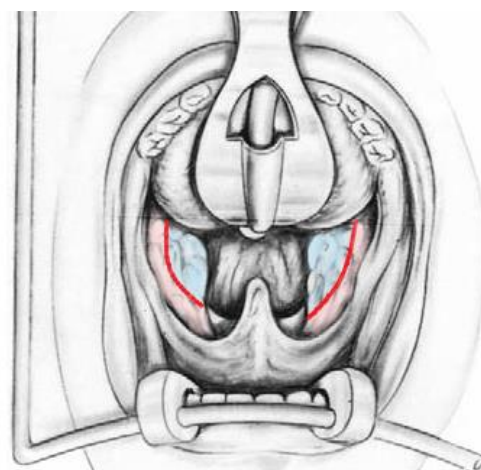
**Figure 15** : amygdalectomie totale par dissection à la lame froide (vue opératoire inversée) (83)



**A, B** : Exposition de l'oropharynx : la traction médiale de l'amygdale laisse deviner sous le pilier antérieur la région capsulaire et la localisation des points d'injection de la solution d'anesthésie locale. **C** : Incision de la muqueuse le long du bord libre du pilier antérieur. **D** : Recherche et décollement du plan capsulaire. **E, F** : Libération de l'amygdale dont il ne reste plus qu'à dégager le pôle inférieur par une coagulation bipolaire et une section avec ciseaux.

**Figure 16** : amygdalectomie subtotale intracapsulaire

Un appareil de radiofréquence incisera au niveau de la ligne rouge pour retirer toute la partie en bleu et laisser la partie en rose de l'amygdale en place.



## 6.2. Prise en charge médicale

Pour un SAHOS léger (IAH < 5) ou résiduel après une prise en charge chirurgicale, un traitement médicamenteux d'au moins 3 mois associant une corticothérapie par voie nasale (budésonide ; fluticasone) et des antileucotriènes par voie orale (montélukast) peut être proposé (84,85). La disparition du SAHOS sera alors vérifiée par un contrôle de l'examen du sommeil.

Si l'enfant présente des allergies, un traitement local par corticoïdes nasaux (béclométasone, budésonide), parfois associé aux antihistaminiques oraux (desloratadine, loratadine, cétérizine) peut être mis en place (77,86).

Chez un enfant en surpoids, la mise en place de mesures hygiéno-diététiques est indispensable.

## 6.3. Prise en charge orthodontique

Lorsque la croissance oro-faciale est perturbée par une ventilation incorrecte, le risque de collapsus des VAS durant le sommeil est augmenté. Il est important de les repérer le plus rapidement possible afin de pouvoir y remédier et de prévenir les conséquences délétères sur la croissance oro-faciale (87).

En présence d'anomalie crânio-faciale le **traitement orthodontique** peut être recommandé comme traitement de première intention ou le plus souvent comme traitement complémentaire d'un traitement de première intention (ORL, médicamenteux ou chirurgical...).

Les deux dispositifs les plus utilisés sont **l'expansion maxillaire rapide** (Figure 17) et **l'orthèse d'avancée mandibulaire**. Une rééducation musculaire oro-faciale peut être aussi associée en parallèle au traitement global (3).

**Figure 17** : matériel d'expansion rapide du maxillaire par disjonction (CHUN)



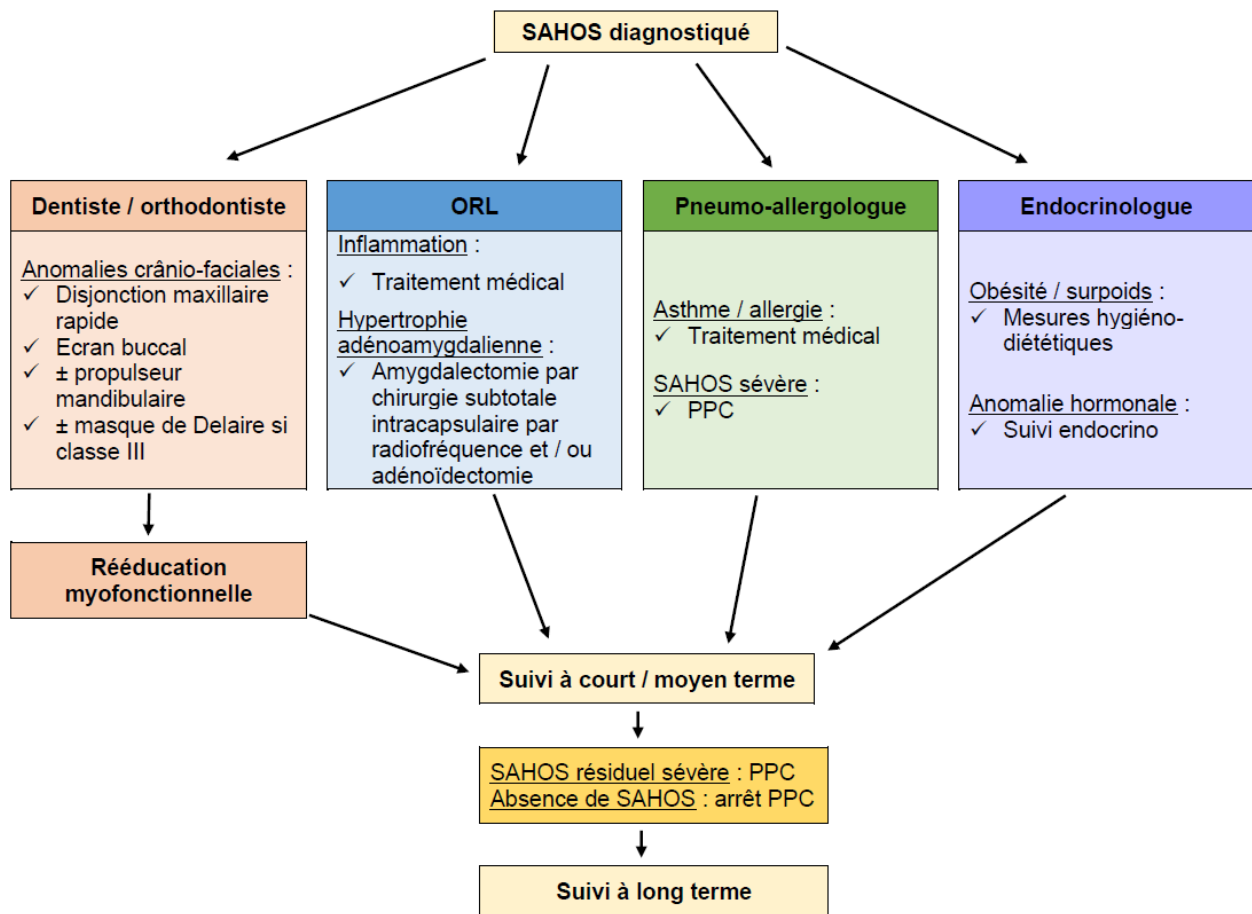
#### 6.4. Prise en charge ventilatoire

**L'assistance ventilatoire** est le traitement de choix des SAHOS sans hypertrophie et des SAHOS persistants après traitement chirurgical. Elle permet une diminution des résistances des VAS en faisant une attelle pneumatique augmentant le calibre des VAS. Un ventilateur simple qui délivre une pression positive continue (PPC) est généralement utilisé via un masque nasal ou une enveloppe narinaire (Figure 18) (77).

**Figure 18** : enveloppe narinaire de ventilation non invasive, à fuites (77)



**Figure 19** : schéma résumant la prise en charge pluridisciplinaire du SAHOS chez l'enfant (2)



ORL : oto-rhino-laryngologiste. PPC : pression positive continue

## 7. Conclusion

Du fait de sa physiopathologie, le SAHOS pédiatrique nécessite une prise en charge pluridisciplinaire (Figure 19). En tant que chirurgien-dentiste exerçant en odontologie pédiatrique, notre position privilégiée nous permet de dépister (prévention primaire) les patients les plus à risque de SAHOS (4) et de poser un diagnostic présomptif (prévention secondaire). Dans le but de le confirmer ou de l'infirmer, notre patient sera adressé à un ORL pédiatrique (Annexe 2) afin qu'une polysomnographie (enregistrement nocturne du sommeil et de la respiration), gold standard pour le diagnostic positif du SAHOS, soit réalisée (5). La littérature scientifique a mis en évidence chez la plupart des enfants en bonne santé, que le rétrécissement des VAS est principalement dû à une hypertrophie adéno-amygdalienne (72). En effet c'est entre 2 et 8 ans que les infections ORL sont les plus fréquentes faisant augmenter le volume des amygdales palatines. C'est pourquoi, les académies et sociétés savantes nationales et internationales recommandent l'adénotonsillectomie comme traitement de première intention (4–8).

## **PARTIE II : REVUE NARRATIVE DE LA LITTÉRATURE**

La liste des virus respiratoires causant la majorité des infections ORL et des VAS est longue et comprend des agents infectieux courants comme les adénovirus (AdV), le virus Boca, les coronavirus (CoV), les entérovirus (EV), l'Epstein-Barr Virus (EBV), l'human métapneumovirus (hMPV), les virus influenza (InfV), les virus parainfluenza (VPI), le virus respiratoire syncytial (VRS) et les rhinovirus (RV)(88).

D'autres virus sont aussi fréquemment détectés dans les AP ayant été ablatées notamment le cytomégalo virus (CMV), les human herpes virus (HHV) 6-8, les virus de l'herpès simplex (HSV), l'humain papillomavirus (HPV), le parvovirus humain B19 et le polyomavirus (PoV)(88).

Existe-t-il un lien entre infection virale et SAHOS pédiatrique et lequel serait-il ?

### **1. Revue narrative de la littérature**

#### **1.1. Identification des articles**

Une recherche électronique a été effectuée sur les bases de données *PubMed [MEDLINE]* et *The Cochrane Library*, le 2 avril 2021, en utilisant les mots-clés suivants : (Child OR Children OR (Child [MeSH Terms]) OR Infant OR Infants OR (Infant [MeSH Terms]) OR Adolescent OR Adolescents OR (Adolescent [MeSH Terms])) AND (virus OR (Viruses [MeSH Terms])) AND ((Sleep apnea, obstructive [MeSH Terms]) OR (Sleep apnea obstructive syndrome) OR (sleep apnea) OR (OSA) OR (tonsillar hypertrophy) OR (palatine tonsil [MeSH Terms]) OR (palatine tonsil)).

La recherche électronique a été mise à jour sur les bases de données *PubMed [MEDLINE]* et *The Cochrane Library* le 15 septembre 2021 mettant en évidence seize nouvelles références. Après lecture des titres et résumés aucune n'a pu être incluse.

**Tableau II** : résultats de la recherche électronique effectuée sur les bases de données PubMed et The Cochrane Library

Numéro	Terme	PubMed	The Cochrane Library
#1	Child	2 800 542	171 034
#2	Children	2 800 542	171 032
#3	Child [MeSH Terms]	1 957 163	56 872
#4	Infant	1 281 096	52 088
#5	Infants	1 281 096	35 015
#6	Infant [MeSH Terms]	1 162 982	32 519
#7	Adolescent	2 193 320	133 877
#8	Adolescents	2 193 320	23 016
#9	Adolescent [MeSH Terms]	2 081 620	105 120
#10	#1 OR #2 OR #3 OR #4 OR #5 OR #6 OR #7 OR #8 OR #9	4 356 423	281 176
#11	virus	1 211 380	33 819
#12	Viruses [MeSH Terms]	850 850	9 400
#13	#11 OR #12	1 211 380	36 996
#14	Sleep apnea, obstructive [MeSH Terms]	22 137	1 999
#15	Sleep apnea obstructive syndrome	34 743	1 707
#16	Sleep apnea	50 284	7 471
#17	OSA	16 017	3 375
#18	Tonsillar hypertrophy	1 460	113
#19	Palatine tonsil [MeSH Terms]	10 291	138
#20	Palatine tonsil	10 751	177
#21	#14 OR #15 OR #16 OR #17 OR #18 OR #19 OR #20	9 170	8 059
#22	#10 AND #13 AND #21	387	15

## 1.2. Sélection des articles

Les études étaient incluses si elles répondaient aux critères d'inclusion suivants :

- Etudes cas-témoins ;
- Etudes de cohorte (prospectives et rétrospectives) ;
- Etudes descriptives ;
- Enfants ayant eu une infection virale symptomatique ou chez lesquels des virus ont été identifiés dans les AP après amygdalectomie ;
- Etudes portant sur les AP d'enfants et d'adolescents ;
- Articles rédigés en français ou en anglais.

Les critères de non inclusion étaient :

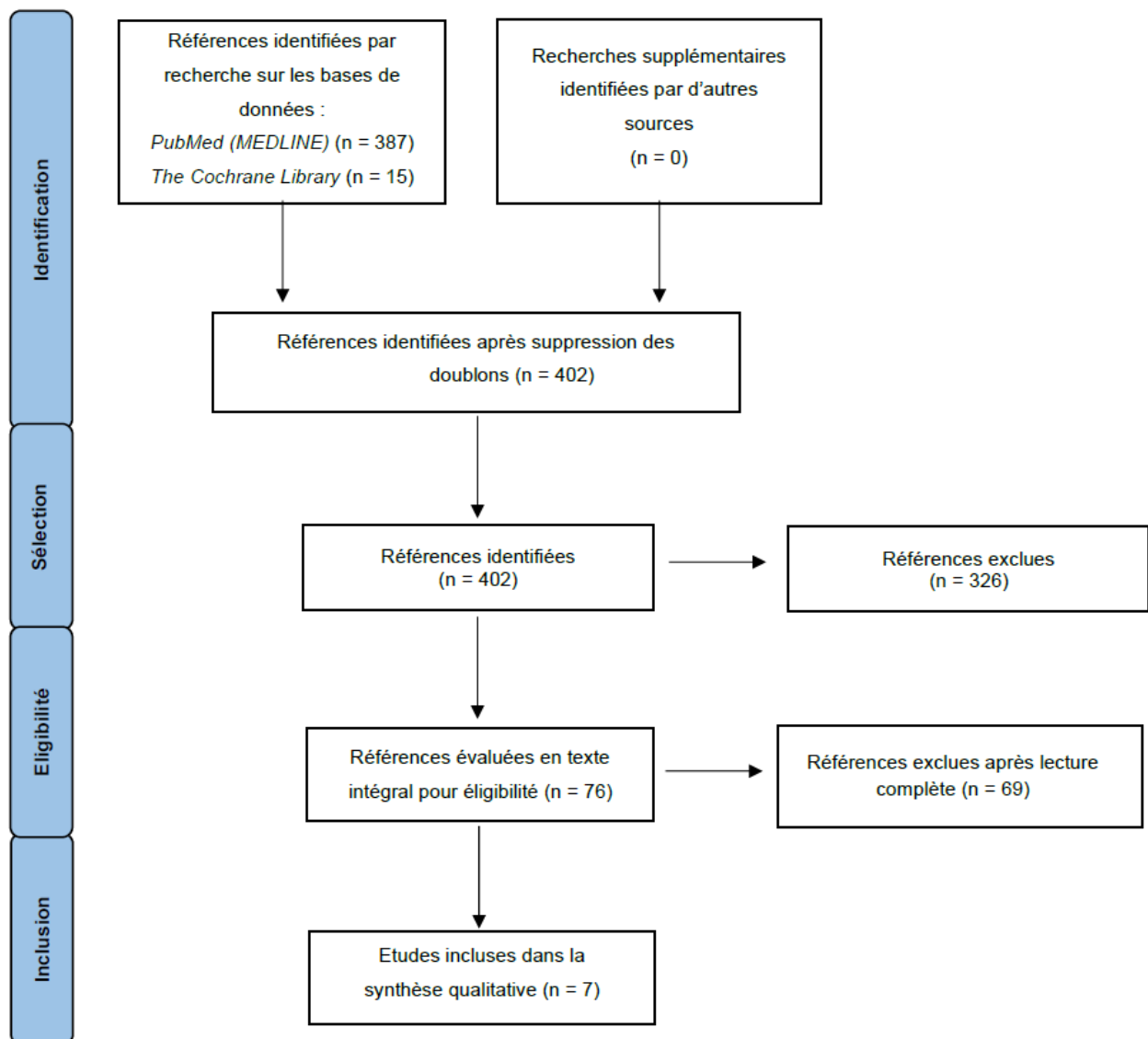
- Cas cliniques ou séries de cas ;
- Etudes in vitro ;
- Revue narrative de la littérature ;
- Etudes portant sur les AP d'adultes ;
- Etudes portant uniquement sur les végétations adénoïdes.



### 1.2.1. Présélection et inclusion des articles

Après la recherche électronique (Tableau II) sur les bases de données *PubMed* et *The Cochrane Library* et, après élimination des doublons, 402 références ont été identifiées. Après lecture des titres et des résumés 326 références ont été éliminées. Après lecture complète des 76 articles présélectionnés, sept articles (89–95) ont été inclus.

**Figure 20** : diagramme de flux des références d'après Page *et al.* (96)



### 1.2.2. Résultats

Les résultats de cette recherche sont présentés par catégories de virus (Annexe 3) retrouvés dans les AP. Deux références (92,93) étaient de grade B (présomption

scientifique) et cinq références (89–91,94,95) de grade C (faible niveau de preuve scientifique) selon les recommandations de la HAS (Tableau III)(97).

**Tableau III** : niveau de preuve et grade des recommandations des sept études incluses, selon la HAS (97)

Auteurs, année (référence)	Type d'étude	Niveau de preuve	Grade des recommandations
Goldbart et <i>al.</i> , 2007 (89)	Cas-témoins	Niveau 3	C
Snow et <i>al.</i> , 2009 (90)	Cohorte rétrospective	Niveau 4	C
Yeshuroon et <i>al.</i> , 2015 (91)	Cas-témoins	Niveau 3	C
Faden et <i>al.</i> , 2016 (92)	Cohorte prospective	Niveau 2	B
Chen et <i>al.</i> , 2018 (93)	Cohorte prospective	Niveau 2	B
Kourieh et <i>al.</i> , 2019 (94)	Descriptive	Niveau 4	C
Proenca-Modena et <i>al.</i> , 2019 (95)	Descriptive	Niveau 4	C

**Grade A** : preuve scientifique établie. **Grade B** : présomption scientifique. **Grade C** : faible niveau de preuve scientifique.

## 2. Adénovirus, rhinovirus, hMPV

Yeshuroon et *al.* (91) dans leur étude cas-témoin s'étaient intéressés à la présence de génome viral (VRS, InfV A et B, hMPV, AdV, VPI3, RV, CoV NL63) dans les AP d'enfants, enlevées soient pour cause de SAHOS (n=34) soit pour cause d'amygdalite chronique (AC) (groupe contrôle)(n=22). Les auteurs avaient mis en évidence la présence de génome viral chez 17 patients (50%) du groupe SAHOS contrairement au groupe contrôle où aucun génome viral n'a été retrouvé ( $p < 0,0001$ ). Les virus détectés de manière significative étaient le RV (33,3% ( $p = 0,013$ )), l'AdV (29,2% ( $p = 0,024$ )) et l'hMPV (25,0% ( $p = 0,041$ )). Ces résultats indiqueraient que les virus respiratoires auraient tendance à rester pendant une longue période de temps dans les AP des patients atteints de SAHOS contrairement à ceux ayant une amygdalite chronique. La théorie proposée par les auteurs était que les infections virales déclencheraient une cascade moléculaire qui amplifierait la prolifération

des tissus lymphoïdes induisant un rétrécissement des VAS entraînant un SAHOS chez l'enfant.

Ces résultats sont à nuancer du fait de l'absence d'information concernant le calcul du nombre de sujets nécessaires. En effet, le fait qu'aucun virus n'ait été retrouvé dans le groupe contrôle (n=22) peut être dû à un nombre insuffisant de sujets inclus. Cette étude peut être mise en parallèle avec l'étude transversale de Silvonemi et *al.* en 2020 (98) qui avaient étudié la prévalence de 27 virus (dont ceux étudiés par Yeshuroon et *al.*) dans des AP réséquées pour causes diverses dont d'amygdalite chronique (le SAHOS n'a pas été mentionné). Les auteurs (98) montraient qu'un virus ou plus étaient retrouvés dans les AP de 94,6% (p=0,009) des patients de moins de 16 ans (n=37), résultats différant de ceux retrouvés dans l'étude de Yeshuroon et *al.* (91).

*Pour rappel : l'amygdalite chronique est une infection chronique des AP se manifestant par des angines à répétition avec des adénopathies importantes et une asthénie durable. Elle est secondaire à une perturbation immunologique locale au cours des premières années de vie et peut être favorisée par une antibiothérapie abusive. Le traitement préconisé est l'amygdalectomie (80). Les amygdales retirées dans le cadre de cette pathologie peuvent donc servir de groupe contrôle lors d'études comparant les différentes causes d'amygdalectomie.*

En 2019, Proenca-Modena et *al.* (95) dans leur étude transversale avaient conclu que la détection de l'AdV n'était pas significativement (p<0,05) corrélée avec la sévérité de l'hypertrophie amygdalienne chez l'enfant (n=180). Cependant une plus grande charge virale d'AdV (nombre de copies par gramme) était associée de manière significative au SAHOS (p=0,03).

### **3. Le virus d'Epstein-Barr**

Faden et *al.* (92) avaient étudié la fréquence de neuf virus respiratoires (EBV, RSV, InfV A et B, hMPV, AdV, VPI, RV, CoV NL63, EV) dans les tissus amygdaliens après exérèse pour causes diverses chez des enfants (n=59) dans le but de déterminer l'effet d'infections asymptomatiques sur le degré d'obstruction respiratoire. Dans les AP l'EBV était le plus souvent retrouvé (40,0%) et c'était le seul associé avec un score de Broadsky plus élevé (3 ou 4)(p=0,03). Cependant les causes d'hypertrophies n'étaient pas individualisées dans les résultats. De plus 62,7% (n=38) des enfants inclus présentaient un TROS sans préciser parmi ceux-ci lesquels étaient atteints de SAHOS.

Dans leur étude de 2019 Kourieh et *al.* (94) étudiaient la prévalence des virus de la famille des herpès en écouvillonnant des AP non tumorales d'enfants (n=133) de moins de 15 ans, réséquées pour causes bénignes (27,1% de SAHOS). Il en résultait que l'EBV était présent dans 40,6% des AP et HHV6B dans 66,1% des cas ( $p<0,05$ ). Malheureusement les résultats présentaient la prévalence de ces virus selon le sexe et non selon de la cause de l'amygdalectomie.

#### **4. Le virus respiratoire syncytial**

Avant quatre ans tous les enfants ont été infecté au moins une fois par le VRS, dont plus de la moitié durant leur première année de vie (99,100).

Goldbart et *al.* (89) dans leur étude de 2007 avaient trouvé une surexpression significative ( $p<0,001$ ) du taux d'acide ribonucléique messenger (ARNm) du facteur de croissance nerveuse (NGF) et de son récepteur de haute affinité tyrosine kinase (trkA) dans des échantillons de végétations et d'AP d'enfants extraites pour cause de SAHOS (n=34) comparé au taux du groupe témoin souffrant de d'amygdalite chronique (n=25). Par ailleurs l'ARNm du récepteur neurokinine-1 (NK1) à la substance P ainsi que cette dernière avaient une concentration significativement plus élevée ( $p<0,01$ ) dans le groupe SAHOS.

Les auteurs postulaient que ces surexpressions entraînent très probablement des réponses neuro-immuno-modulatrices qui prédisposent à une augmentation du processus inflammatoire des tissus amygdaliens conduisant à leur hypertrophie, celle-ci même favorisant le SAHOS chez l'enfant.

Il est à noter que ces résultats sont très similaires aux changements constatés dans les tissus lymphoïdes des bronches pulmonaires de rats infectés par le VRS (101–103) ainsi que dans des échantillons de sécrétions broncho-alvéolaires d'enfants intubés au cours d'une infection sévère par le VRS (104).

En 2009, Snow et *al.* (90) avaient mis en évidence que les enfants (n=21) ayant eu une bronchiolite à VRS durant leur première année de vie avait un IAH significativement plus élevé ( $p<0,05$ ) que dans le groupe contrôle (n=63). Cela suggère le rôle des infections virales précoces dans le développement d'un SAHOS chez l'enfant.

## 5. Les entérovirus

Chen et *al.* (93) dans leur étude de cohorte prospective à l'échelle de la population taïwanaise avaient pour objectif de déterminer s'il existait une association entre l'infection à entérovirus et l'incidence des TROS dans la population pédiatrique. Ils démontraient que les enfants ayant eu une hospitalisation due à une infection sévère à entérovirus (n=47859) avaient un risque significativement plus élevé ( $p=0,003$ ) de développer un SAHOS, surtout chez ceux faisant des rhinites allergiques par rapport au groupe contrôle (n=47859).

## 6. Conclusion

De nombreux virus respiratoires tels que l'AdV, l'EBV, le VRS et l'EV contractés pendant les premières années de vie semblent être responsables de mécanismes moléculaires prédisposant aux TROS, et encore plus particulièrement lorsque les infections ont été sévères (89–95).

Dans la littérature scientifique, il existe un manque d'information concernant les indications des amygdalectomies dans la partie matériel et méthode ou alors quand elles sont évoquées les résultats ne sont pas individualisés selon le type d'indication (SAHOS ou autre).

C'est pourquoi afin d'améliorer les connaissances sur la physiopathologie du SAHOS, il serait intéressant d'étudier la présence de virus respiratoires dans les AP en faisant la dichotomie entre amygdalectomie pour cause de SAHOS diagnostiqué au moins cliniquement *versus* amygdalectomie pour une autre cause telle que l'amygdalite chronique.

# **PARTIE III : PROPOSITION D'UN PROTOCOLE DE RECHERCHE EXPERIMENTALE**

## **1. Justification scientifique**

Les différents éléments, détaillés dans les parties I et II, justifient la réalisation d'une étude cas-témoins dans le but de détecter et quantifier le nombre de copies d'ADN (Acide DésoxyriboNucléique) d'Herpèsvirus (notamment de l'EBV) dans des AP reséquées chez des enfants atteints de SAHOS *versus* celles reséquées pour cause d'amygdalite chronique. Le but étant d'améliorer nos connaissances dans la physiopathologie du SAHOS pédiatrique.

## **2. Qualification de la recherche**

Il s'agit d'une recherche dans le domaine de la santé, hors recherche impliquant la personne humaine étant donné que le prélèvement d'AP, considéré comme un résidu opératoire, est réalisé strictement dans le cadre du soin.

Le protocole a été enregistré dans le registre d'activités de traitements du Centre Hospitalier Universitaire de Nice (CHUN, R04-020) ainsi que dans le registre public de l'Institut national des données de santé (INDS, MR1913210220).

## **3. Hypothèse de recherche**

L'hypothèse d'un mécanisme synergique combinant infection à Herpèsvirus, plus particulièrement l'EBV, et inflammation des AP a été proposée pour le SAHOS pédiatrique. Selon ce modèle, l'action complémentaire de cette famille virale sur le microenvironnement immunitaire des AP favoriserait l'apparition de SAHOS chez les enfants.

## **4. Lieu d'étude**

Le projet de recherche est mené au sein du laboratoire de Microbiologie Orale, Immunothérapie et Santé (MICORALIS) UPR7354 situé au quatrième étage de la Faculté de Chirurgie Dentaire au sein du Pôle Universitaire de St Jean d'Angély, appartenant à l'Université Côte d'Azur. L'équipe de recherche transdisciplinaire, dirigé par le Docteur Alain Doglio, est constituée de chirurgiens-dentistes et de scientifiques. La mission principale de MICORALIS est d'établir de nouvelles connaissances à partir d'études

fondamentales et cliniques portant sur la cavité orale et d'en assurer le transfert vers des applications cliniques et la proposition de traitements innovants. L'axe scientifique majeur concerne la microbiologie orale (virus, bactéries, champignons). De plus, MICORALIS a développé une expertise dans la manipulation des AP (105) et des Herpèsvirus, plus particulièrement de l'EBV (106).

## **5. Population et méthodes**

### **5.1. Schéma d'étude**

Étant donné que notre hypothèse de recherche a pour objet de comparer des groupes d'AP d'enfants atteints et non atteints de SAHOS pédiatrique, une étude analytique observationnelle rétrospective de type cas-témoins est réalisée.

### **5.2. Population étudiée**

#### **5.2.1. Critères d'inclusion et d'exclusion**

Les enfants sont inclus s'ils répondent aux critères d'inclusion suivants :

- Enfant âgé de 2 à 8 ans ;
- Enfant âgé de 2 à 8 ans ayant eu un diagnostic clinique de SAHOS ou d'amygdalite chronique par un des praticiens du service d'ORL et de chirurgie cervico-faciale des Hôpitaux Pédiatriques de Nice CHU-LENVAL (HPNCL) et dont l'indication d'amygdalectomie est posée ;
- Enfants ne présentant pas de malformations crâniofaciales ;
- Enfant dont les parents ou représentants légaux ont donné leur consentement éclairé pour participer à l'étude (Annexe 4).

Les enfants seront exclus s'ils répondent aux critères d'exclusion suivants :

- Opposition des parents ou des représentants légaux à la participation de l'étude.

#### **5.2.2. Le nombre de sujets nécessaires**

Le calcul du nombre de sujets nécessaires a été effectué à l'aide du logiciel BiostatTGV (107) en partant des données de la littérature scientifique. Avec une puissance de 80 %, un risque alpha de 5 % (test bilatéral), un *odds ratio* de 8 en faveur du groupe SAHOS, et une proportion attendue de témoins exposés d'environ 40% avec un témoin par cas, le nombre de sujets nécessaires à la vérification de l'hypothèse à tester devrait être de 44, soit 22 dans chaque groupe.

## **6. Protocole de recherche**

### **6.1. Récupération et préparation des AP**

#### **6.1.1. Hôpitaux Pédiatriques de Nice CHU-LENVAL**

Les AP réséquées sont enveloppées d'une compresse stérile imbibée de sérum physiologique afin d'éviter leur dessiccation. Puis elles sont placées immédiatement dans un falcon de 50 ml, sur lequel uniquement les initiales en majuscule du nom et du prénom, la date de naissance du patient ainsi que l'indication de l'amygdalectomie (SAHOS *versus* AC) sont mentionnées. Le falcon est ensuite placé dans un sachet stérile et conservé dans un réfrigérateur à 4°C au sein du bloc opératoire, situé au 1<sup>er</sup> étage des HPNCL.

Le prélèvement est récupéré directement à l'entrée du bloc opératoire et transporté immédiatement au laboratoire MICORALIS dans une boîte réfrigérée, afin de le protéger des ARNases.

#### **6.1.2. Laboratoire MICORALIS (UPR7354)**

Tout d'abord, une analyse macroscopique (mesure du poids et de la taille) des AP est effectuée. Puis, une des deux AP est congelée à -80°C alors que l'autre est découpée en très petits morceaux avec un bistouri stérile lame 15 afin d'obtenir 25 mg dans chacun des deux tubes eppendorfs de 0,5 ml marqués à l'aide d'un marqueur indélébile (groupe cas *versus* témoins et numéro du patient). Ces deux eppendorfs placés dans le congélateur à -80°C sont utilisés pour l'extraction et la purification des acides nucléiques (Acide Ribonucléique (ARN) / ADN).

La détection du génome viral repose sur des techniques de biologie moléculaire. Nous détaillerons uniquement le protocole d'extraction et de purification de l'ADN contenu dans les AP.



## 6.2. Extraction et purification de l'ADN

L'extraction d'ADN a pour objectif d'isoler les molécules d'ADN présentes dans les AP. Elle est réalisée, sous hotte, à l'aide du QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) comportant quatre étapes illustrées Figure 21 : la **lyse cellulaire** (étapes 1 à 6), la **fixation de l'ADN** (étapes 7 à 15), le **lavage** (étapes 16 à 22), et l'**élution de l'ADN**, (étapes 23 à 26).

Cette **technique d'immobilisation réversible en phase solide** utilise des colonnes contenant un support solide : une **matrice de silice**. Les molécules d'ADN chargées négativement en solution vont se lier à la matrice de silice chargée positivement alors que les protéines ne seront pas retenues par la colonne et seront éliminées par centrifugation et lavage de la colonne avec un tampon de lavage. À l'étape d'élution, les molécules d'ADN sont décrochées de la matrice de silice par inactivation de la charge de la silice en passant de l'eau distillée ne contenant pas de sel sur la colonne (Figure 22).

### 6.2.1. Destruction des AP et lyse cellulaire (Figure 21.1)

La première étape permet de lyser les AP tout en préservant l'intégrité des molécules d'ADN. Le but étant de disperser les bicouches lipidiques des membranes et de dénaturer les histones qui sont les protéines autour desquelles s'enroule l'ADN.

1. Afin d'éviter que les morceaux du prélèvement d'AP soient trop importants et entraînent un colmatage du filtre dans la suite du protocole, une étape de broyage a été rajoutée (Figure 21.0). Celle-ci est effectuée en plaçant le prélèvement dans un tube M stérile gentleMACS™ avec 500 µl de tampon ATL (tampon de lyse tissulaire) et 1 µl d'Anti-Foam Reagent afin d'éviter l'apparition de mousse. Le tube M est ensuite placé dans le gentleMACS™ Dissociator, sur lequel est sélectionné le programme m-intestine-01 puis le programme RNA-02-01. Centrifuger au maximum 5 minutes en mettant le RCF (relative centrifugal force) au maximum ;
2. Prélèver 50 µl du tube M gentleMACS™ pour le mettre en suspension dans un eppendorf 1,5 ml contenant 130 µl de tampon ATL dans le but de détruire les bicouches lipidiques ; sonifier pendant 1 minute ;
3. Ajouter 40 µl de protéinase K pour détruire les histones, ADNases et nucléases ;
4. Mélanger au vortex pendant 5 secondes ;
5. Incuber à 56°C pendant 1 heure environ ;

6. Centrifuger brièvement le tube afin d'éliminer les gouttes présentes dans le bouchon.

### **6.2.2. Fixation de l'ADN (Figure 21.2)**

Le but de cette étape est de retenir l'ADN sur la membrane et d'évacuer les contaminants.

7. Ajouter 400 µl de tampon AL (tampon de lyse qui contient du chlorhydrate de guanidine, de l'acide maléique et du sel) (Figure 22B) ;

8. Mélanger au vortex pendant 15 secondes ;

9. Incuber à 70°C pendant 10 minutes ;

10. Centrifuger brièvement le tube afin d'éliminer les gouttes présentes dans le bouchon ;

11. Ajouter 400 µl d'éthanol (96 à 100%) et mélanger au vortex pendant 15 secondes. Un précipité blanc peut se former (Figure 22C) ;

12. Centrifuger brièvement le tube afin d'éliminer les gouttes présentes dans le bouchon ;

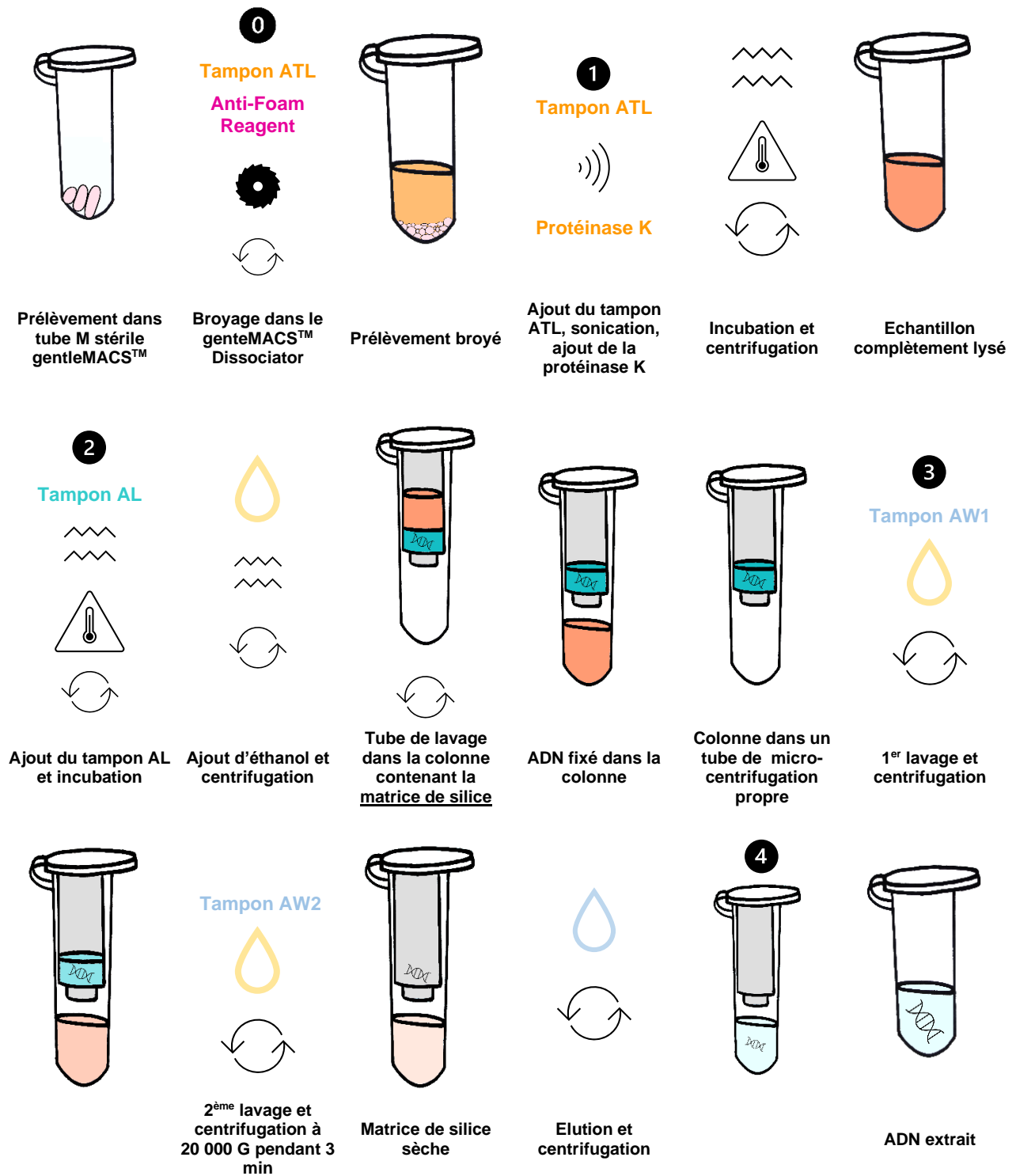
13. Déposer avec précaution le mélange obtenu à l'étape 11 dans la colonne QIAamp Mini spin\* (placée dans un tube collecteur de 2 ml) sans en mouiller le bord puis fermer le bouchon (Figure 22D) ;

14. Centrifuger à 6000G (8 000 rpm = revolutions per minute) pendant 1 minute ;

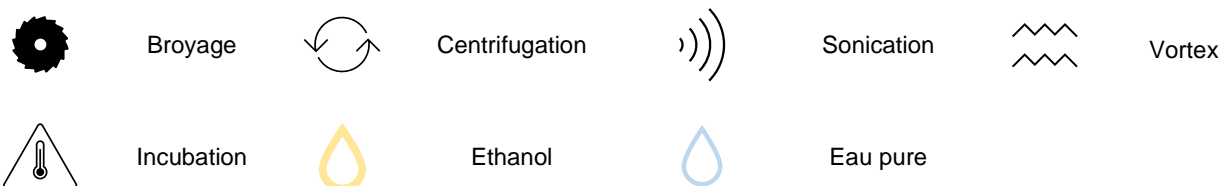
15. Transférer la colonne QIAamp Mini spin dans un tube de microcentrifugation propre de 2 ml (fourni avec le kit) jeter le tube collecteur contenant l'effluent.

*\* les colonnes QIAamp Mini spin présentent une capacité maximale de 700 µl.*

**Figure 21** : procédure illustrée du QIAamp DNA Mini Kit (composition personnelle)



Légende :



### 6.2.3. Lavage (Figure 21.3)

Les contaminants résiduels sont éliminés par lavage. L'éthanol étant un solvant moins polaire que l'eau, il ne casse pas les liaisons hydrogènes ADN – silice, l'ADN ne repasse pas en solution.

16. Ajouter 500 µl de tampon AW1 reconstitué (additionné d'éthanol à 95-100%) dans la colonne QIAamp Mini spin column, sans en mouiller le bord (Figure 22E) ;
17. Centrifuger à 6 000 G (8 000 rpm) pendant 1 minute ;
18. Transférer la colonne QIAamp Mini spin column dans un tube de microcentrifugation propre de 2 ml (fourni avec le kit) et jeter le tube collecteur contenant l'effluent ;
19. Ajouter 500 µl de tampon AW2 reconstitué (additionné d'éthanol à 95-100%) dans la colonne QIAamp Mini spin column, sans en mouiller le bord (Figure 22E) ;
20. Centrifuger à vitesse maximale (environ 20 000 G ; 14 000 rpm) pendant 3 minutes pour sécher la membrane ;
21. Transférer la colonne QIAamp Mini spin column dans un nouveau tube de microcentrifugation propre de 2 ml (non fourni avec le kit) et jeter le tube collecteur contenant l'effluent ;
22. Centrifuger à vitesse maximale (environ 20 000 G ; 14 000 rpm) pendant 1 minute pour sécher la membrane.

### 6.2.4. Éluion de l'ADN (Figure 21.4)

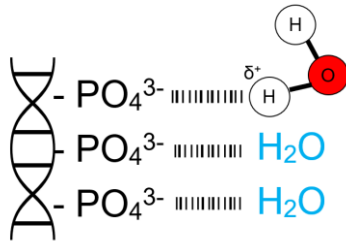
L'ADN pur et concentré est élué de la membrane.

23. Transférer la colonne QIAamp Mini spin dans un nouveau tube de microcentrifugation propre de 1,5 ml (non fourni avec le kit) et jeter le tube collecteur contenant l'effluent ;
24. Ajouter 100 µl d'eau distillée (Figure 22F) ;
25. Incuber à température ambiante pendant 1 minute ;
26. Centrifuger à 6 000 G (8 000 rpm) pendant 1 minute.

En rajoutant de l'eau pure les liaisons hydrogènes ADN – eau se recréent, l'ADN s'hydrate et repasse en solution. Cette étape d'éluion peut être répétée pour augmenter le rendement de la quantité d'ADN obtenue.

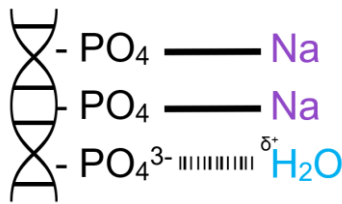
**Figure 22** : extraction d'ADN par adsorption sur colonne de silice (composition personnelle)

**A) ADN présent dans l'eau (H<sub>2</sub>O)**



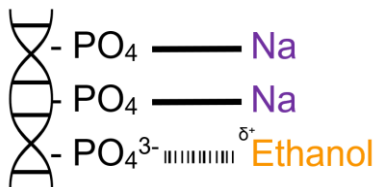
Eau, molécule polaire (*son action à distance est assimilable à celle d'un dipôle électrique*), crée des liaisons hydrogènes avec les groupements phosphates négatifs de l'ADN.

**B) Ajout de sel (NaCl)**



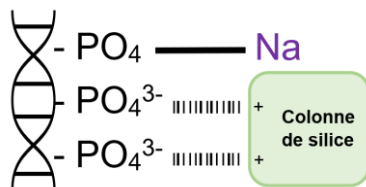
Les cations Na<sup>+</sup> se lient aux groupements phosphates de l'ADN. La molécule d'ADN a moins d'interactions avec l'eau, elle est moins hydratée.

**C) Ajout d'éthanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)**



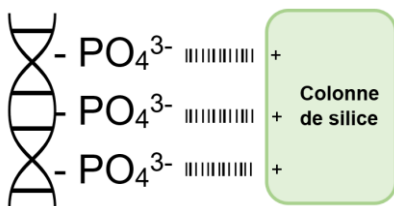
L'ADN ne fait plus de liaison avec l'eau : il précipite.

**D) Insertion dans la colonne de silice**



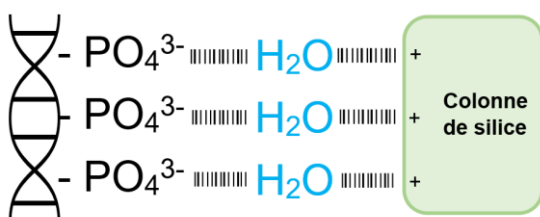
Les groupements phosphates se lient à la colonne de silice qui est très polaire. Centrifuger pour éliminer ce dont on ne veut pas (protéines...) et rincer à l'éthanol pour éliminer les restes de sel.

**E) Rinçage à l'éthanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)**



Après un rinçage effectué plusieurs fois, l'ADN pur est adsorbé à la colonne de silice sèche.

**F) Elution à l'eau (H<sub>2</sub>O)**



La silice devient moins polaire quand elle est hydratée. L'ADN refait des liaisons hydrogènes avec l'eau, il est de nouveau soluble. Il se détache de la silice et peut être centrifugé dans le tube d'élution.

PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> : groupement phosphate. Na<sup>+</sup> : cation sodium. ······· : liaison hydrogène. — : liaison covalente.

### 6.3. Quantification des acides nucléiques

*Rappel : Il existe trois bases pyrimidiques : l'uracile (ARN), la cytosine (ADN et ARN) et la thymine (ADN) ainsi que deux bases puriques : l'adénine (ADN et ARN) et la guanine (ADN et ARN).*

Les bases purines et pyrimidines constituant l'ADN et l'ARN absorbent fortement à la longueur d'onde de 260 nm, la **qualité** et la **quantité** (ng/ $\mu$ l) des ADN peuvent être **évaluées** à la fin de l'extraction par dosage d'absorbance au spectrophotomètre (108).

La mesure de l'absorbance (appelée aussi densité optique (DO)) au spectrophotomètre permet un dosage de l'ADN à condition que celui-ci soit **pur** et en **quantité suffisante**. L'absorbance à **260 nm** permet de quantifier l'ADN : une unité d'absorbance correspond à une solution d'ADN double brin de 50  $\mu$ g/ml ou à une solution d'ARN de 40  $\mu$ g/ml (109).

La DO à 280 nm permet d'estimer la présence de contaminants protéiques ; la mesure de l'absorbance à **230 nm** permet d'estimer la présence de **contaminants phénoliques**. Les deux ratios  $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$  et  $A_{260\text{nm}}/A_{230\text{nm}}$  permettent donc d'estimer la qualité et la pureté de l'échantillon d'ADN obtenu. Une solution pure d'ADN doit avoir :

- un ratio de  $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$  compris entre 1,8 et 2 (un ratio inférieur à 1,7 indique une contamination protéique) ;
- un ratio  $A_{260\text{nm}}/A_{230\text{nm}}$  compris entre 2 et 2,2 (un ratio inférieur à 2 indique une contamination par des sucres, du phénol ou des sels).

La quantification des acides nucléiques a été effectuée à l'aide du spectrophotomètre microvolume SimpliNano, Biochrom<sup>TM</sup>, avec imprimante.

1. Allumer le spectrophotomètre et sélectionner le programme DNA ;
2. Appuyer sur le bouton OA/100%T pour réaliser un blanc en utilisant 2  $\mu$ l d'eau distillée ; la valeur obtenue doit être 0 ;
3. Nettoyer délicatement le capteur entre chaque solution ;
4. Pipetter 2  $\mu$ l de la solution obtenue à la fin de l'étape d'élution de l'ADN ;
5. Garder précieusement le ticket imprimé par le spectrophotomètre et analyser les valeurs obtenues (Figure 23) ;
6. Stocker le tube dans un congélateur entre -80°C et -20°C.

**Figure 23** : exemple de ticket obtenu à l'aide du spectrophotomètre Biochrom™ SimpliNano

Ticket présentant les valeurs obtenues pour deux de nos 15 échantillons, des acides nucléiques (ADN) ont été détectés en grande quantité (de 465,2 à 647,1 ng/μl) et la purification était satisfaisante d'après les rapports  $A_{260nm}/A_{280nm}$  et  $A_{260nm}/A_{230nm}$ .

**DNA**

Product SimpliNano  
 Version 4585 U3.0.1  
 Serial Number 132952  
 Date 11 February 2021  
 Time 14:18:38

Instrument Calibration Pass  
 11 February 2021 14:16:57

Pathlength 0.5 mm  
 Dilution Factor 1.000  
 Background 0n  
 Factor 50.0  
 Units ng/μl

Sample Reference  
 échantillon 6

Sample 1  
 Concentration 647.1 ng/μl

A230	A260	A280	A320
5.73	13.01	6.83	0.07

A260/A280	A260/A230
1.914	2.286

échantillon 7

Sample 2  
 Concentration 465.2 ng/μl

A230	A260	A280	A320
3.92	9.27	4.72	-0.03

A260/A280	A260/A230
1.957	2.353

#### 6.4. Identification de l'EBV dans les AP par PCR quantitative (qPCR)

La PCR est la technique de choix pour détecter et quantifier le nombre de copies d'ADN de l'EBV (110).

##### 6.4.1.1. Principe de la PCR

La Polymerase Chain Reaction (PCR) est une technique utilisant une ADN polymérase afin **d'amplifier** in vitro des **séquences d'ADN**, étape indispensable pour pouvoir analyser les acides nucléiques extraits qui initialement sont en quantité extrêmement faible.

L'amplification est faite par répétition de réactions d'élongation en présence d'un couple d'amorces de quelques dizaines de nucléotides (aussi appelées oligonucléotides ou primers forward et reverse). L'ADN polymérase utilisée est celle d'une eubactérie thermophile : *Thermus aquaticus* ayant la particularité d'être stable jusqu'à des températures proches de 100°C.

Le principe de l'amplification in vitro repose sur la répétition d'un cycle constitué de trois étapes :

1. **la dénaturation** des deux brins de la molécule d'ADN réalisée à 95°C qui permet d'obtenir des molécules d'ADN simple brin ;
2. **l'hybridation** des amorces oligonucléotidiques complémentaires d'une séquence de l'ADN simple brin cible est réalisée à une température comprise entre 40°C et 65°C. La température est calculée en fonction du couple d'amorces choisi ;
3. **la polymérisation** par une ADN polymérase thermostable : la Taq polymérase dont la température optimale de fonctionnement est de 72°C (108).

L'ensemble de ce cycle est répété plusieurs fois. À chaque cycle, le nombre de copies du fragment d'ADN est doublé :  $2^n$  molécules sont ainsi obtenues après n cycles, soit plus d'un million de molécules après 20 cycles. Ainsi, ces étapes sont automatisées dans des robots de PCR appelés thermocycleurs.

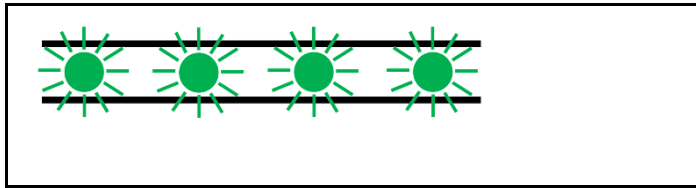
#### **6.4.1.2. Principe de la PCR quantitative**

Aussi appelée PCR en temps réel, la PCR quantitative est une technique basée sur la PCR classique qui permet de suivre en temps réel les produits PCR au fur et à mesure de leur synthèse et de les quantifier grâce à l'incorporation d'une molécule fluorescente intercalante de l'ADN. A l'état libre cet agent intercalent n'émet pas de fluorescence donc l'émission d'un signal fluorescent signifie que cette molécule a été incorporée lors de la PCR. Dans notre protocole, une sonde fluorescente, SYBR Green (Power SYBR® Green PCR Master Mix, Applied Biosystems™), qui se fixe sur l'ADN double brin a été utilisée (Figure 24).

La quantité de SYBR Green intercalée dans l'ADN étant proportionnelle à la quantité et à la longueur d'ADN présentes dans la solution, une mesure de fluorescence permet de connaître la quantité d'ADN cible présente en solution (Figure 24).



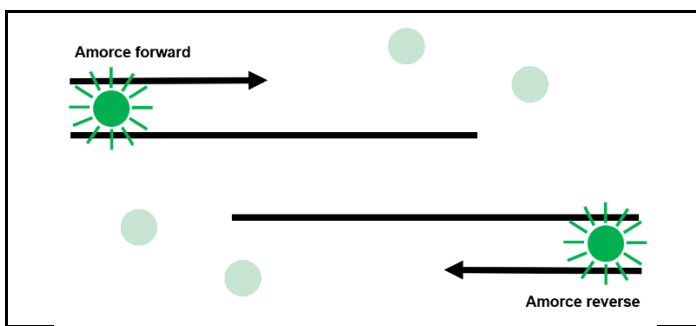
**Figure 24** : procédé de la sonde fluorescente SYBR Green (composition personnelle)



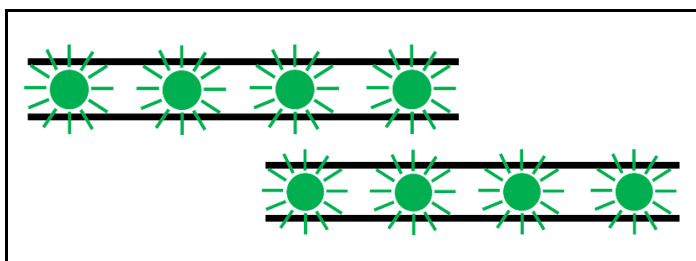
Lorsque le fluorochrome SYBR Green est ajouté à l'échantillon, il se lie immédiatement à tous les ADN double brin présents dans celui-ci.



Dénaturation : les deux brins d'ADN sont séparés, le SYBR Green est relâché et la fluorescence décroît énormément.



Polymérisation : l'ADN polymérase amplifie la séquence cible. Le fluorochrome SYBR Green se lie à chaque nouvelle copie d'ADN double brin.



Quand la polymérisation est terminée la fluorescence a augmenté proportionnellement à la quantité de produits PCR générés.

### 6.4.1.3. Protocole de qPCR

Toutes les étapes suivantes doivent être réalisées sous une hotte à irradiation UV conçue spécialement pour les applications de PCR. En effet, il existe un risque de contamination de la PCR en introduisant involontairement de l'ADN dans les microtubes lors de leur ouverture.

Pour la détection et quantification de l'EBV, les gènes **EBNA-1** (Epstein-Barr Nuclear Antigen-1) et **LMP-1** (protéine membranaire latente 1) ont été ciblés. En effet, l'identification de l'EBV repose sur l'utilisation de couples d'amorces (primer forward et reverse) spécifiques à une séquence de ces gènes de la phase de latence. Le couple d'amorces,

spécifiques de la séquence d'ADN de l'EBV recherchée, était disponible au sein du laboratoire MICORALIS. Le gène RPLP0 est considéré comme le contrôle endogène, c'est-à-dire qu'il ne varie pas entre les échantillons.

Le Dr Iris Grosjean nous a aidées à vérifier à l'aide du logiciel Primer-BLAST du NCBI (116), la position et la spécificité des couples d'amorces. Ces derniers ont été validés pour notre protocole. Avant de préparer la plaque 96 puits de qPCR, un plan de plaque a été réalisé à l'aide du logiciel Microsoft Excel v16.53 (Figure 25).

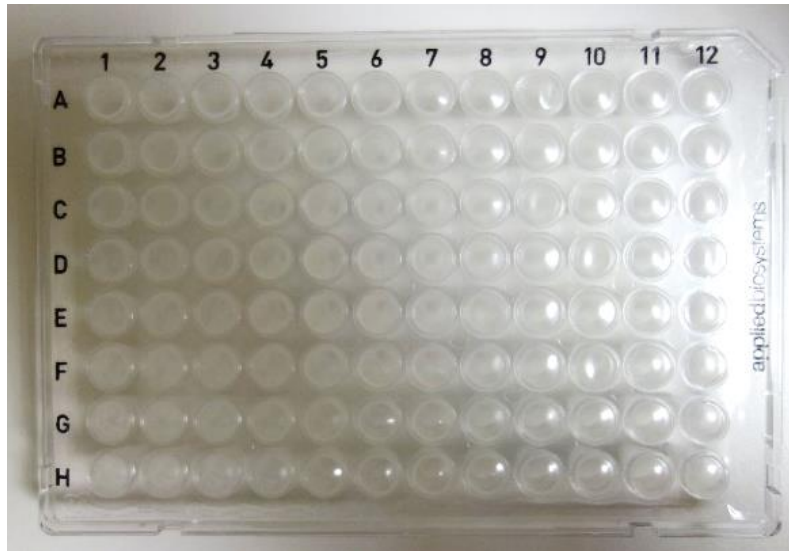
**Figure 25** : plan de plaque pour la qPCR contenant les 15 échantillons ainsi que le contrôle négatif (H<sub>2</sub>O)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Ctrl RPLP0 1	Ctrl RPLP0 2	Ctrl RPLP0 3	Ctrl RPLP0 4	Ctrl RPLP0 5	Ctrl RPLP0 6	Ctrl RPLP0 7	Ctrl RPLP0 8	Ctrl RPLP0 9	Ctrl RPLP0 10	Ctrl RPLP0 11	Ctrl RPLP0 12
B	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat
C	Ctrl RPLP0 13	Ctrl RPLP0 14	Ctrl RPLP0 C1	Ctrl RPLP0 H2O	EBNA-1 1	EBNA-1 2	EBNA-1 3	EBNA-1 4	EBNA-1 5	EBNA-1 6	EBNA-1 7	EBNA-1 8
D	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat
E	EBNA-1 9	EBNA-1 10	EBNA-1 11	EBNA-1 12	EBNA-1 13	EBNA-1 14	EBNA-1 C1	EBNA-1 H2O	LMP1 1	LMP1 2	LMP1 3	LMP1 4
F	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat
G	LMP1 5	LMP1 6	LMP1 7	LMP1 8	LMP1 9	LMP1 10	LMP1 11	LMP1 12	LMP1 13	LMP1 14	LMP1 C1	LMP1 H2O
H	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat	duplicat

1. Préparer dans trois eppendorfs de 1,5 ml annotés (EBNA-1, LMP1 et RPLP0) un mix de 8 µl contenant 5 µl de Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems™), 2 µl d'H<sub>2</sub>O distillée, 0,5 µl de primer forward et 0,5 µl de primer reverse. Attention de bien manipuler le Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems™) avec des gants et de le remettre dès la fin de son utilisation dans le congélateur à -20°C ;
2. Mettre le mix de 8 µl dans son puits respectif en respectant bien le plan de plaque de la qPCR (Figure 25) ; *par exemple le mix contenu dans l'eppendorf EBNA-1 sera mis dans les 32 puits allant de C/D5 à E/F8 ;*
3. Ajouter 2 µl de l'ADN extrait à l'étape 26, c'est-à-dire l'ADN extrait de chaque échantillon, dans chaque puits en respectant le plan de plaque pour la qPCR (Figure 25) ; *par exemple l'ADN extrait de notre échantillon n°1 sera mis dans les puits A/B1, C/D5 et E/F9 ;*
4. Pour le contrôle négatif (H<sub>2</sub>O) situé dans les puits C/D4, E/F8 et G/H12, ajouter 10 µl d'eau distillée ;

5. Sceller la plaque 96 puits (MicroAmp™ EnduraPlate™ Optical 96-Well Clear Reaction Plates with Barcode, Applied Biosystems®) avec un film adhésif (MicroAmp™ Optical Adhesive Film) ;

Figure 26 : plaque 96 puits (MicroAmp™ EnduraPlate™ Optical 96-Well Clear Reaction Plates with Barcode, Applied Biosystems®) scellée avec un film adhésif



6. Centrifuger la plaque pendant 10 secondes afin de bien homogénéiser les puits ;
7. Mettre la plaque au congélateur à -20°C le temps de rentrer les données sur le logiciel. Elle peut y être conservée pendant 24 heures. Les données suivantes ont été rentrées sur le logiciel QuantStudio™ Design & Analysis 2.5.0 :
  - Experiment type : Comparative Ct ( $\Delta\Delta Ct$ )
  - Chemistry : SYBR Green Reagents
  - Method : volume 10  $\mu$
  - Plan de plaque (Figure 27) ;
8. Transférer à l'aide d'une clé USB le fichier créé sur le thermocycleur SensoQuest Labcycler ;
9. Insérer la plaque dans le thermocycleur SensoQuest Labcycler et mettre en route le programme adapté.

**Figure 27** : plan de plaque, des 15 échantillons et du contrôle négatif H<sub>2</sub>O, rentré sur le logiciel QuantStudio™ Design & Analysis 2.5.0

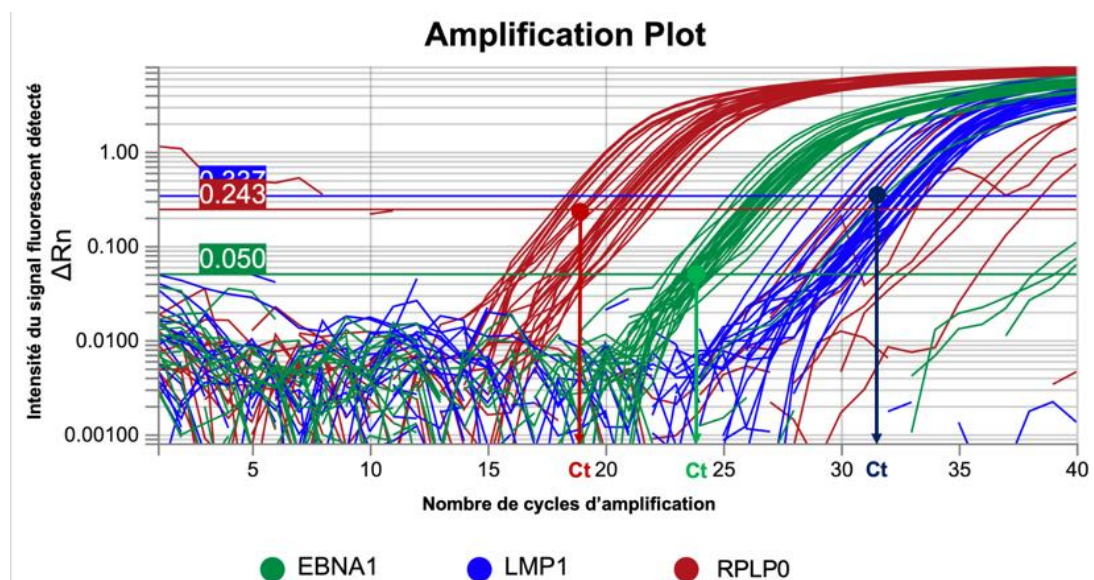


#### 6.4.1.4. Analyse de la qPCR

Lorsque le programme a été terminé (au bout d'une heure et 30 minutes environ), la clé USB a été récupérée pour l'analyse des données à l'aide du logiciel QuantStudio™ Design & Analysis 2.5.0.

L'interprétation de l'Amplification Plot (Figure 28)(Tableau IV) a pour objet de déterminer le cycle seuil Ct (threshold cycle), celui-ci correspond à la valeur - prise dans la phase exponentielle, là où la pente est linéaire - à laquelle la courbe PCR croise le seuil. Plus le Ct est élevé (30-35), moins l'ARNm détecté est présent, car il faut plus de cycles PCR pour pouvoir détecter l'amplification fluorescente. Si le Ct a une petite valeur (10-15), le gène est fortement exprimé. Le seuil est différent pour chaque gène testé, et il est le même pour tous les échantillons testés avec ce gène spécifique (Tableau IV)(111).

**Figure 28** : interprétation de l'Amplification Plot situé l'onglet Quality check du logiciel QuantStudio™ Design & Analysis 2.5.0



Ct : cycle seuil : valeur à laquelle la courbe PCR croise le seuil (ligne horizontale)

**Tableau IV** : résultats du Ct et seuil pour les trois gènes étudiés par qPCR

	Ct	Seuil
<b>LMP1</b>	19	0,237
<b>EBNA-1</b>	24	0,050
<b>RPLP0</b>	32	0,243

L'interprétation de l'amplification plot ainsi que des autres valeurs, non présentées dans ce travail, permettent d'améliorer notre protocole de recherche.

## 7. Conclusion

Afin de pouvoir répondre à notre hypothèse de recherche, notre protocole, détaillé dans ce travail, doit être complété par l'extraction et la purification des ARN présents dans nos échantillons suivi d'une RT-PCR. De plus, des marqueurs de l'inflammation tels que l'IL-6 et le TNF- $\alpha$  ainsi que d'autres virus issus de famille Herpèsvirus (CMV, HSV-1) doivent être recherchés par qPCR dans nos échantillons d'AP. Des techniques d'immunohistochimie (IHC) et d'immunofluorescence (IF) complémentaires des techniques de biologie moléculaire sont nécessaires. Ces dernières impliquent l'utilisation d'anticorps pour cerner des protéines spécifiques (antigènes) dans les cellules d'une coupe tissulaire. Les protéines sont visualisées soit au moyen de la détection chromogénique avec un substrat d'enzyme coloré (IHC) soit au moyen de la détection par fluorescence au moyen de colorants fluorescents (IF).

## **CONCLUSION**

Le SAHOS chez l'enfant est un syndrome fréquent encore trop peu diagnostiqué et pris en charge par les professionnels de santé notamment les chirurgiens-dentistes exerçant en odontologie pédiatrique. Sa cause principale, l'hypertrophie adéno-amygdalienne ne doit pas être considérée comme seule responsable car d'autres facteurs variés rentrent aussi en compte d'où la nécessité d'une prise en charge pluridisciplinaire.

De nombreuses études lient les infections respiratoires virales aux TROS. Elles semblent en effet avoir une incidence sur la survenue du SAHOS surtout lorsqu'elles ont été sévères.

Ce protocole de détection et de quantification d'Herpèsvirus (EBV) et de marqueurs de l'inflammation (Il-6, TNF-alpha) présents dans les AP d'enfants atteints de SAHOS versus ceux atteints d'AC a pour objectif d'apporter des connaissances sur la physiopathologie du SAHOS pédiatrique et de participer à une meilleure compréhension de la latence virale.

## RÉFÉRENCES

1. Guilleminault C, Eldridge FL, Simmons FB, Dement WC. Sleep apnea in eight children. *Pediatrics*. 1976;58(1):23-30.
2. Lê-Dacheux M-K, Aubertin G, Piquard-Mercier C, Delaisi B, Iniguez J-L, Tamalet A, et al. Obstructive Sleep Apnea in Children: A Team effort! *Orthod Fr*. 2020;91(4):323-45.
3. Fédération Française d'Orthodontie (FFO). Place de l'orthodontie dans le dépistage et le traitement du syndrome d'apnées hypopnées obstructives du sommeil (SAHOS) chez l'enfant : recommandations de bonnes pratiques. 2018.
4. Société française d'oto-rhino-laryngologie et de chirurgie de la face et du cou. Syndrome d'apnées-hypopnées obstructives du sommeil de l'enfant: rapport 2016 de la Société française d'ORL et de chirurgie cervico-faciale. Issy-les-Moulineaux (Hauts-de-Seine): Elsevier Masson; 2016.
5. Marcus CL, Brooks LJ, Ward SD, Draper KA, Gozal D, Halbower AC, et al. Diagnosis and Management of Childhood Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Pediatrics*. 2012;130(3):714-55.
6. American Academy of Pediatric Dentistry. Policy on Obstructive Sleep Apnea (OSA). 2021.
7. Behrents RG, Shelgikar AV, Conley RS, Flores-Mir C, Hans M, Levine M, et al. Obstructive sleep apnea and orthodontics: An American Association of Orthodontists White Paper. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2019;156(1):13-28.
8. Baugh RF, Archer SM, Mitchell RB, Rosenfeld RM, Amin R, Burns JJ, et al. Clinical Practice Guideline: Tonsillectomy in Children. *Otolaryngol Neck Surg*. 2011;144:S1-30.
9. Brockbank JC. Update on pathophysiology and treatment of childhood obstructive sleep apnea syndrome. *Paediatr Respir Rev*. 2017;24:21-3.
10. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, Masson PL. Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2020. (Campus référence).
11. Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm). Rythmes de l'enfant : De l'horloge biologique aux rythmes scolaires. 2001. (Paris : Les éditions Inserm).
12. DelRosso LM. Epidemiology and Diagnosis of Pediatric Obstructive Sleep Apnea. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2016;46(1):2-6.
13. Sinha D, Guilleminault C. Sleep disordered breathing in children. *Indian J Med Res*. 2010;311-20.
14. Mitchell RB, Kelly J. Outcome of adenotonsillectomy for obstructive sleep apnea in obese and normal-weight children. *Otolaryngol--Head Neck Surg Off J Am Acad Otolaryngol-Head Neck Surg*. 2007;137(1):43-8.
15. Moraleda-Cibrián M, Edwards SP, Kasten SJ, Buchman SR, Berger M, O'Brien LM. Obstructive sleep apnea pretreatment and posttreatment in symptomatic children with congenital craniofacial malformations. *J Clin Sleep Med JCSM Off Publ Am Acad Sleep Med*. 2015;11(1):37-43.
16. Capdevila OS, Kheirandish-Gozal L, Dayyat E, Gozal D. Pediatric obstructive sleep apnea: complications, management, and long-term outcomes. *Proc Am Thorac Soc*. 2008;5(2):274-82.
17. Johnson EO, Roth T. An Epidemiologic Study of Sleep-Disordered Breathing Symptoms Among Adolescents. *Sleep*. 2006;29(9):1135-42.
18. Sogut A, Yilmaz O, Dinc G, Yuksel H. Prevalence of habitual snoring and symptoms of sleep-disordered breathing in adolescents. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2009;73(12):1769-73.
19. Sánchez-Armengol A, Fuentes-Pradera MA, Capote-Gil F, García-Díaz E, Cano-Gómez S, Carmona-Bernal C, et al. Sleep-Related Breathing Disorders in Adolescents Aged 12 to 16 Years. *Chest*. 2001;119(5):1393-400.
20. Fuentes-Pradera MA, Sánchez-Armengol Á, Capote-Gil F, Quintana-Gallego E, Carmona-Bernal C, Polo J, et al. Effects of sex on sleep-disordered breathing in adolescents. *Eur Respir J*. 2004;23(2):250-4.

21. Goodwin JL, Kaemingk KL, Fregosi RF, Rosen GM, Morgan WJ, Sherrill DL, et al. Clinical outcomes associated with sleep-disordered breathing in Caucasian and Hispanic children--the Tucson Children's Assessment of Sleep Apnea study (TuCASA). *Sleep*. 2003;26(5):587-91.
22. Corbo GM, Forastiere F, Agabiti N, Pistelli R, Dell'Orco V, Perucci CA, et al. Snoring in 9- to 15-Year-Old Children: Risk Factors and Clinical Relevance. *Pediatrics*. 2001;108(5):1149-54.
23. Séailles T, Vecchierini M-F. Le syndrome d'apnées obstructives du sommeil (SAOS): particularités chez l'adolescent. *Médecine Sommeil*. 2012;9(3):110-8.
24. Morrell MJ, Badr MS. Effects of NREM sleep on dynamic within-breath changes in upper airway patency in humans. *J Appl Physiol*. 1998;84(1):190-9.
25. Schwab RJ, Gupta KB, Geffer WB, Metzger LJ, Hoffman EA, Pack AI. Upper airway and soft tissue anatomy in normal subjects and patients with sleep-disordered breathing. Significance of the lateral pharyngeal walls. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152(5 Pt 1):1673-89.
26. Schwab RJ, Pasirstein M, Pierson R, Mackley A, Hachadoorian R, Arens R, et al. Identification of upper airway anatomic risk factors for obstructive sleep apnea with volumetric magnetic resonance imaging. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168(5):522-30.
27. Arnulf I, Derenne J-P. Le syndrome d'apnées du sommeil. *Médecine Sci*. 1999;(15):807-14.
28. Khemliche H, Ouayoun M-C. Physiopathologie du syndrome d'apnées-hypopnées obstructives du sommeil. *Orthod Fr*. 2019;90(3-4):263-71.
29. Moore KL, Agur AMR, Dalley AF. *Essential clinical anatomy*. 4th ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. 703 p.
30. Mezzanotte WS, Tangel DJ, White DP. Waking genioglossal electromyogram in sleep apnea patients versus normal controls (a neuromuscular compensatory mechanism). *J Clin Invest*. 1992;89(5):1571-9.
31. Fogel RB, Malhotra A, White DP. Sleep. 2: pathophysiology of obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome. *Thorax*. 2004;59(2):159-63.
32. Gold AR, Schwartz AR. The pharyngeal critical pressure. The whys and hows of using nasal continuous positive airway pressure diagnostically. *Chest*. 1996;110(4):1077-88.
33. Dayyat E, Kheirandish-Gozal L, Gozal D. Childhood Obstructive Sleep Apnea: One or Two Distinct Disease Entities? *Sleep Med Clin*. 2007;2(3):433-44.
34. Kohler M, Lushington K, Couper R, Martin J, van den Heuvel C, Pamula Y, et al. Obesity and risk of sleep related upper airway obstruction in Caucasian children. *J Clin Sleep Med JCSM Off Publ Am Acad Sleep Med*. 2008;4(2):129-36.
35. Kohler MJ, Thormaehlen S, Kennedy JD, Pamula Y, van den Heuvel CJ, Lushington K, et al. Differences in the association between obesity and obstructive sleep apnea among children and adolescents. *J Clin Sleep Med JCSM Off Publ Am Acad Sleep Med*. 2009;5(6):506-11.
36. Sériès F, Côté C, Simoneau JA, Gélinas Y, St Pierre S, Leclerc J, et al. Physiologic, metabolic, and muscle fiber type characteristics of musculus uvulae in sleep apnea hypopnea syndrome and in snorers. *J Clin Invest*. 1995;95(1):20-5.
37. Tagaito Y, Isono S, Remmers JE, Tanaka A, Nishino T. Lung volume and collapsibility of the passive pharynx in patients with sleep-disordered breathing. *J Appl Physiol*. 2007;103(4):1379-85.
38. Arens R, McDonough JM, Corbin AM, Rubin NK, Carroll ME, Pack AI, et al. Upper Airway Size Analysis by Magnetic Resonance Imaging of Children with Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167(1):65-70.
39. Arens R, Marcus CL. Pathophysiology of upper airway obstruction: a developmental perspective. *Sleep*. 2004;27(5):997-1019.
40. Chevailler A, Fournel S, Gubler B, Lelièvre J-D, Seillès E, Vitte J, et al. *Immunologie fondamentale et immunopathologie: enseignements thématique et intégré : tissu lymphoïde et sanguin, immunopathologie et immuno-intervention*. 2018.
41. Waldeyer. *Dictionnaire médical*. 2021.
42. Nespoli L, Caprioglio A, Brunetti L, Nosetti L. Obstructive sleep apnea syndrome in childhood. *Early Hum Dev*. 2013;89 Suppl 3:S33-37.



43. Marcus CL. Pathophysiology of childhood obstructive sleep apnea: current concepts. *Respir Physiol*. 2000;119(2-3):143-54.
44. Jeans WD, Fernando DC, Maw AR, Leighton BC. A longitudinal study of the growth of the nasopharynx and its contents in normal children. *Br J Radiol*. 1981;54(638):117-21.
45. Friedman M, Tanyeri H, La Rosa M, Landsberg R, Vaidyanathan K, Pieri S, et al. Clinical predictors of obstructive sleep apnea. *The Laryngoscope*. 1999;109(12):1901-7.
46. Gulotta G, Iannella G, Vicini C, Polimeni A, Greco A, de Vincentiis M, et al. Risk Factors for Obstructive Sleep Apnea Syndrome in Children: State of the Art. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(18):32-5.
47. Guilleminault C, Partinen M, Praud JP, Quera-Salva MA, Powell N, Riley R. Morphometric facial changes and obstructive sleep apnea in adolescents. *J Pediatr*. 1989;114(6):997-9.
48. Kimple AJ, Ishman SL. Allergy and sleep-disordered breathing. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2013;21(3):277-81.
49. Di Francesco RC, Alvarez J. Allergic rhinitis affects the duration of rapid eye movement sleep in children with sleep-disordered breathing without sleep apnea. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2016;6(5):465-71.
50. Gozal D, Kheirandish L. Oxidant stress and inflammation in the snoring child: Confluent pathways to upper airway pathogenesis and end-organ morbidity. *Sleep Med Rev*. 2006;10(2):83-96.
51. Bergeron C, Kimoff J, Hamid Q. Obstructive sleep apnea syndrome and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116(6):1393-6.
52. Marcus CL. Sleep-disordered breathing in children. *Curr Opin Pediatr*. 2000;12(3):208-12.
53. Kim JH, Guilleminault C. The nasomaxillary complex, the mandible, and sleep-disordered breathing. *Sleep Breath Schlaf Atm*. 2011;15(2):185-93.
54. Bakor SF, Enlow DH, Pontes P, De Biase NG. Craniofacial growth variations in nasal-breathing, oral-breathing, and tracheotomized children. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2011;140(4):486-92.
55. Padmanabhan V, Kavitha P, Hegde A. Sleep Disordered Breathing in Children – A Review and the Role of a Pediatric Dentist. *J Clin Pediatr Dent*. 2010;35(1):15-21.
56. Robinson RW, Zwillich CW, Bixler EO, Cadieux RJ, Kales A, White DP. Effects of oral narcotics on sleep-disordered breathing in healthy adults. *Chest*. 1987;91(2):197-203.
57. Riley R, Guilleminault C, Herran J, Powell N. Cephalometric analyses and flow-volume loops in obstructive sleep apnea patients. *Sleep*. 1983;6(4):303-11.
58. Malhotra A, Huang Y, Fogel RB, Pillar G, Edwards JK, Kikinis R, et al. The male predisposition to pharyngeal collapse: importance of airway length. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(10):1388-95.
59. Corrêa C de C, Cavalheiro MG, Maximino LP, Weber SAT. Obstructive sleep apnea and oral language disorders. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2017;83(1):98-104.
60. Melendres MCS, Lutz JM, Rubin ED, Marcus CL. Daytime sleepiness and hyperactivity in children with suspected sleep-disordered breathing. *Pediatrics*. 2004;114(3):768-75.
61. Biggs SN, Walter LM, Jackman AR, Nisbet LC, Weichard AJ, Hollis SL, et al. Long-Term Cognitive and Behavioral Outcomes following Resolution of Sleep Disordered Breathing in Preschool Children. *PLoS One*. 2015;10(9):139-42.
62. Amin RS, Kimball TR, Bean JA, Jeffries JL, Willging JP, Cotton RT, et al. Left ventricular hypertrophy and abnormal ventricular geometry in children and adolescents with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165(10):1395-9.
63. Bixler EO, Vgontzas AN, Lin H-M, Liao D, Calhoun S, Fedok F, et al. Blood pressure associated with sleep-disordered breathing in a population sample of children. *Hypertens*. 2008;52(5):841-6.
64. Tauman R, Ivanenko A, O'Brien LM, Gozal D. Plasma C-reactive protein levels among children with sleep-disordered breathing. *Pediatrics*. 2004;113(6):564-9.

65. Gozal D, Sans Capdevila O, McLaughlin Crabtree V, Serpero LD, Witcher LA, Kheirandish-Gozal L. Plasma IGF-1 levels and cognitive dysfunction in children with obstructive sleep apnea. *Sleep Med.* 2009;10(2):167-73.
66. Walter LM, Biggs SN, Nisbet LC, Weichard AJ, Hollis SL, Davey MJ, et al. Improved long-term autonomic function following resolution of sleep-disordered breathing in preschool-aged children. *Sleep Breath.* 2016;20(1):309-19.
67. Kheirandish-Gozal L, Bhattacharjee R, Gozal D. Autonomic alterations and endothelial dysfunction in pediatric obstructive sleep apnea. *Sleep Med.* 2010;11(7):714-20.
68. Blechner M, Williamson AA. Consequences of Obstructive Sleep Apnea in Children. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care.* 2016;46(1):19-26.
69. Andreou G, Agapitou P. Reduced language abilities in adolescents who snore. *Arch Clin Neuropsychol Off J Natl Acad Neuropsychol.* 2007;22(2):225-9.
70. Tseng W-C, Liang Y-C, Su M-H, Chen Y-L, Yang H-J, Kuo P-H. Sleep apnea may be associated with suicidal ideation in adolescents. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 2019;28(5):635-43.
71. Franco RA, Rosenfeld RM, Rao M. First place--resident clinical science award 1999. Quality of life for children with obstructive sleep apnea. *Otolaryngol--Head Neck Surg Off J Am Acad Otolaryngol-Head Neck Surg.* 2000;123(1):9-16.
72. Sateia MJ. International classification of sleep disorders-third edition: highlights and modifications. *Chest.* 2014;146(5):1387-94.
73. Coutier L, Franco P. Troubles respiratoires obstructifs du sommeil chez l'enfant et l'adolescent : diagnostic, conséquences et comorbidités. *Orthod Fr.* 2019;90(3-4):273-87.
74. Haute Autorité de Santé (HAS). Rapport d'évaluation technologique Place et conditions de réalisation de la polysomnographie et de la polygraphie respiratoire dans les troubles du sommeil. 2012.
75. Aubertin G, Schröder C, Sevin F, Clouteau F, Lamblin M-D, Vecchierini M-F. Diagnostic clinique du syndrome d'apnées obstructives du sommeil de l'enfant. *Médecine Sommeil.* 2017;14(2):68-76.
76. Hombourger M, Mortier E, Jager S. Le syndrome d'apnées hypopnées obstructives du sommeil chez l'enfant : Le rôle du chirurgien-dentiste. *Rev Francoph Odontol Pédiatrique.* 2020;187-93.
77. Aubertin G, Taytard J, Corvol H, Clément A. Traitement des apnées obstructives de l'enfant. *Réalités Pédiatriques.* 2014;(183):11-4.
78. Brietzke SE, Gallagher D. The effectiveness of tonsillectomy and adenoidectomy in the treatment of pediatric obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome: a meta-analysis. *Otolaryngol Off J Am Acad Otolaryngol-Head Neck Surg.* 2006;134(6):979-84.
79. Hultcrantz E, Ericsson E, Hemlin C, Hessén-Söderman A-C, Roos K, Sunnergren O, et al. Paradigm shift in Sweden from tonsillectomy to tonsillotomy for children with upper airway obstructive symptoms due to tonsillar hypertrophy. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2013;270(9):2531-6.
80. Collège français d'ORL et de chirurgie cervico-faciale, Mondain M, Debry C, Righini C. ORL. 2017.
81. Walton J. Systematic Review of Randomized Controlled Trials Comparing Intracapsular Tonsillectomy With Total Tonsillectomy in a Pediatric Population. *Arch Otolaryngol Neck Surg.* 2012;138(3):243.
82. Blackshaw H, Springford LR, Zhang L-Y, Wang B, Venekamp RP, Schilder AG. Tonsillectomy versus tonsillotomy for obstructive sleep-disordered breathing in children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;4(4):CD011365.
83. Nicollas R, Bonneru J-J, Roman S, Triglia J-M. Adénoïdectomie. Amygdalectomie. *EMC - Oto-Rhino-Laryngol.* 2004;1(4):301-17.
84. Kheirandish L, Goldbart AD, Gozal D. Intranasal steroids and oral leukotriene modifier therapy in residual sleep-disordered breathing after tonsillectomy and adenoidectomy in children. *Pediatrics.* 2006;117(1):61-6.

85. Brouillette RT, Manoukian JJ, Ducharme FM, Oudjhane K, Earle LG, Ladan S, et al. Efficacy of fluticasone nasal spray for pediatric obstructive sleep apnea. *J Pediatr*. 2001;138(6):838-44.
86. Berger WE, Jacobs RL, Amar NJ, Tantry SK, Li J, Small CJ. Efficacy and safety of beclomethasone dipropionate nasal aerosol in children with perennial allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2015;115(2):130-6.
87. Guilleminault C, Huang Y-S. From oral facial dysfunction to dysmorphism and the onset of pediatric OSA. *Sleep Med Rev*. 2018;40:203-14.
88. Mahy BWJ, Van Regenmortel MHV, éditeurs. *Encyclopedia of virology*. 3rd ed. Amsterdam ; Boston: Academic Press; 2008. 5 p.
89. Goldbart AD, Mager E, Veling MC, Goldman JL, Kheirandish-Gozal L, Serpero LD, et al. Neurotrophins and tonsillar hypertrophy in children with obstructive sleep apnea. *Pediatr Res*. 2007;62(4):489-94.
90. Snow A, Dayyat E, Montgomery-Downs HE, Kheirandish-Gozal L, Gozal D. Pediatric obstructive sleep apnea: a potential late consequence of respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Pediatr Pulmonol*. 2009;44(12):1186-91.
91. Yeshuroon-Koffler K, Shemer-Avni Y, Keren-Naus A, Goldbart AD. Detection of common respiratory viruses in tonsillar tissue of children with obstructive sleep apnea. *Pediatr Pulmonol*. 2015;50(2):187-95.
92. Faden H, Callanan V, Pizzuto M, Nagy M, Wilby M, Lamson D, et al. The ubiquity of asymptomatic respiratory viral infections in the tonsils and adenoids of children and their impact on airway obstruction. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2016;90:128-32.
93. Chen VC-H, Yang Y-H, Kuo T-Y, Huang K-Y, Huang Y-C, Lee Y, et al. Increased Incidence of Obstructive Sleep Apnea in Hospitalized Children After Enterovirus Infection: A Nationwide Population-based Cohort Study. *Pediatr Infect Dis J*. 2018;37(9):872-9.
94. Kourieh A, Gheit T, Tommasino M, Dalstein V, Clifford GM, Lacau St Guily J, et al. Prevalence of human herpesviruses infections in nonmalignant tonsils: The SPLIT study. *J Med Virol*. 2019;91(4):687-97.
95. Proenca-Modena JL, de Souza Cardoso R, Criado MF, Milanez GP, de Souza WM, Parise PL, et al. Human adenovirus replication and persistence in hypertrophic adenoids and palatine tonsils in children. *J Med Virol*. 2019;91(7):1250-62.
96. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021;372:n71.
97. Haute Autorité de Santé (HAS). Niveau de preuve et gradation des recommandations de bonne pratique. 2013.
98. Silvoniemi A, Mikola E, Ivaska L, Jeskanen M, Löyttyniemi E, Puhakka T, et al. Intratonsillar detection of 27 distinct viruses: A cross-sectional study. *J Med Virol*. 2020;92(12):3830-8.
99. Ruuskanen O, Ogra PL. Respiratory syncytial virus. *Curr Probl Pediatr*. 1993;23(2):50-79.
100. Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD, Ray CG, Taussing LM, Lebowitz MD. Risk Factors for Respiratory Syncytial Virus-associated Lower Respiratory Illnesses in the First Year of Life. *Am J Epidemiol*. 1991;133(11):1135-51.
101. Auais A, Adkins B, Napchan G, Piedimonte G. Immunomodulatory effects of sensory nerves during respiratory syncytial virus infection in rats. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*. 2003;285(1):105-13.
102. Hu C, Wedde-Beer K, Auais A, Rodriguez MM, Piedimonte G. Nerve growth factor and nerve growth factor receptors in respiratory syncytial virus-infected lungs. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*. 2002;283(2):494-502.
103. King KA, Hu C, Rodriguez MM, Romaguera R, Jiang X, Piedimonte G. Exaggerated Neurogenic Inflammation and Substance P Receptor Upregulation in RSV-Infected Weanling Rats. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2001;24(2):101-7.
104. Tortorolo L, Langer A, Polidori G, Vento G, Stampachiachere B, Aloe L, et al. Neurotrophin Overexpression in Lower Airways of Infants with Respiratory Syncytial Virus Infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172(2):233-7.

105. De Monte A, Olivieri C-V, Vitale S, Bailleux S, Castillo L, Giordanengo V, et al. CD1c-Related DCs that Express CD207/Langerin, but Are Distinguishable from Langerhans Cells, Are Consistently Present in Human Tonsils. *Front Immunol.* 2016;7:197.
106. Olivieri CV, Raybaud H, Tonoyan L, Abid S, Marsault R, Chevalier M, et al. Epstein-Barr virus-infected plasma cells in periodontitis lesions. *Microb Pathog.* 2020;143:104128.
107. BiostaTGV - Statistiques en ligne.
108. Tagu D, Jaubert-Possamai S, Méreau A. *Principes des Techniques de Biologie Moléculaire et Génomique 3e édition Revue et Augmentée.* Quae; 2018.
109. Biochrom US. SimpliNano™ Product User Manual [Internet]. 2015. Disponible sur: [https://biochromspectros.com/media/wysiwyg/support\\_page/support-simplinano/Simplinano-UM.pdf](https://biochromspectros.com/media/wysiwyg/support_page/support-simplinano/Simplinano-UM.pdf)
110. Amiel C. Le virus Epstein-Barr (EBV) : physiopathogénèse et diagnostic. *Rev Francoph Lab.* 2013;2013(456):47-55.
111. Genomic Platform. Comprendre des résultats de qPCR [Internet]. Disponible sur: [https://genomique.irc.ca/resources/files/Comprendre\\_les\\_resultats\\_qPCR.pdf](https://genomique.irc.ca/resources/files/Comprendre_les_resultats_qPCR.pdf)
112. Louten J, Reynolds N. *Essential human virology.* London ; New York: Elsevier, Academic Press; 2016. 326 p.
113. Flint SJ, Racaniello VR, Rall GF, Hatzioannou T, Skalka AM. *Principles of virology.* Fifth edition. Hoboken, NJ: Wiley & American Society for Microbiology; 2020.

## ANNEXES

**Annexe 1** : questionnaire d'après Franco et *al.* sur la qualité de vie de l'enfant atteint de SAHOS (71)

<b>Troubles du sommeil</b>
<b>Durant les 4 dernières semaines, votre enfant...</b> Avait des ronflements intenses ? Avait des épisodes pendant lesquels il retient son souffle ou arrête de respirer pendant la nuit ? S'étouffait ou haletait (respiration pénible) et avait de la difficulté à inspirer pendant qu'il dort ? Avait un sommeil agité et/ou des réveils fréquents ?
<b>Symptômes physiques</b>
<b>Durant les 4 dernières semaines, votre enfant...</b> Respirait par la bouche à cause de congestion nasale ? Avait des rhumes et des infections fréquentes de l'appareil respiratoire ? Avait de la congestion nasale ou le nez qui coule ? Avait de la difficulté à avaler des aliments ?
<b>Détresse émotionnelle</b>
<b>Durant les 4 dernières semaines, votre enfant...</b> Avait une humeur changeante et/ou des crises de colère ? Avait un comportement agressif ou hyperactif ? Avait des problèmes avec la discipline ?
<b>Fonctions diurnes</b>
<b>Durant les 4 dernières semaines, votre enfant...</b> Avait une fatigue excessive pendant la journée ? Avait peu de concentration et/ou des déficits de l'attention ? S'étouffait ou haletait (respiration pénible) pendant un épisode de somnolence ? Avait de la difficulté à se lever le matin ?
<b>Préoccupations du soignant</b>
<b>Durant les 4 dernières semaines, à quelle fréquence les problèmes décrits ci-dessus...</b> Ont créé une inquiétude sur l'état de santé général de votre enfant ? Vous ont fait craindre que votre enfant ne reçoive pas assez d'air ? Ont affecté votre habileté à accomplir vos activités quotidiennes ? Vous ont-ils frustrés ?

**Annexe 2** : liste des ORL pédiatriques exerçant dans les Alpes-Maritimes (06) en France

<b>Ville d'exercice</b>	<b>Praticien</b>	<b>Numéro de téléphone</b>
Cagnes-sur-Mer	Dr Pierre-Marie JOUBERT	04 97 10 29 90
Cannes	Dr Dominique ABRAM-AMOROS	04 93 39 49 10
Grasse	Dr Dominique COSTAMAGNA	04 93 36 36 07
Mandelieu-La-Napoule	Dr Jean-Claude BELTRANDO	04 92 97 50 00
Mougins	Dr Olivier VELLA	04 93 75 82 40
Hôpital Pédiatrique Nice CHU Lerval 57 Avenue de la Californie	Dr Sonanda BAILLEUX Dr Ana GIORDANO Dr Claire GRECH Dr Brigitte LEHNER Dr Mélodie ROUX	04 92 03 03 00
Nice	Dr Benjamin PESCETTO Dr Benoit DARBAS	04 92 47 23 87 04 93 88 00 15
Saint-Laurent-du-Var	Dr Gilles LE GOFF Dr Jean-Pierre DAUBE	04 92 27 55 62 04 92 27 55 62

**Annexe 3 : caractéristiques des principaux virus retrouvés dans la littérature scientifique en lien avec le SAHOS pédiatrique (40,112,113)**

Nom	Famille	Morphologie	Caractéristiques
<b>Adénovirus</b>	<i>Adenoviridae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ADN bicaténaire</li> <li>▪ Symétrie cubique</li> <li>▪ Non enveloppé</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Responsable d'infections respiratoires très fréquentes chez les enfants</li> </ul>
<b>Epstein Barr Virus</b> (Human Herpes Virus 4)	<i>Herpesviridae</i> Sous-famille des <i>gammaherpesvirinae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ADN bicaténaire</li> <li>▪ Symétrie cubique</li> <li>▪ Enveloppé</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Établit une latence dans les lymphocytes B</li> <li>▪ Responsable notamment de la mononucléose infectieuse</li> </ul>
<b>Entérovirus</b>	<i>Picornaviridae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ARN monocaténaire</li> <li>▪ Symétrie cubique</li> <li>▪ Non enveloppé</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Regroupent les poliovirus, coxsackievirus et échovirus</li> <li>▪ Provoque des infections chez l'adulte et chez l'enfant, la plus commune étant le syndrome pied-main-bouche</li> </ul>
<b>Human meta-pneumovirus</b> (hMPV)	<i>Paramyxoviridae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ARN monocaténaire</li> <li>▪ Symétrie hélicoïdale</li> <li>▪ Enveloppé</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Responsable d'infections respiratoires graves</li> </ul>
<b>Rhinovirus</b>	<i>Picornaviridae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ARN monocaténaire</li> <li>▪ Symétrie cubique</li> <li>▪ Non enveloppé</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Première cause de rhumes et d'otites avec atteintes respiratoires très fréquentes</li> </ul>
<b>Virus Respiratoire Syncytial</b>	<i>Paramyxoviridae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ARN monocaténaire</li> <li>▪ Symétrie hélicoïdale</li> <li>▪ Enveloppé</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Provoque infections respiratoires chez les jeunes enfants</li> </ul>

## Annexe 4 : note d'information des parents ou des représentants parentaux et formulaire de consentement

### Microbiologie Orale, Immunothérapie et Santé (MICORALIS)

Responsable : Dr DOGLIO Alain  
UFR d'Odontologie, Pôle St Jean d'Angély - 24 avenue des Diables Bleus - 06357 Nice Cedex 4  
Téléphone : 04 92 03 76 38

#### NOTE D'INFORMATION A L'INTENTION DES PARENTS OU DES REPRESENTANTS PARENTAUX

Madame, Monsieur,

Votre enfant doit bénéficier d'une intervention chirurgicale **dans le service de Chirurgie ORL du Dr BAILLEUX** (Centre Hospitalier Universitaire de Nice – Hôpital Lénval). Les informations concernant cette prise en charge vous ont été données dans le livret d'accueil qui vous a été remis dès la prise en charge de votre enfant dans le service et votre consentement a été recueilli comme le prévoit l'article L1111-2 du code de la santé publique, l'article 35 du code de déontologie médicale ainsi que la Charte du patient hospitalisé de 1995.

Le laboratoire de Microbiologie Orale, Immunothérapie et Santé (MICORALIS), dirigé par le Dr DOGLIO, est spécialisé dans l'étude des maladies de la bouche et de la flore microbienne orale. Ce laboratoire est affilié à l'Université de la Côte d'Azur et il est localisé dans les locaux de la Faculté de Chirurgie Dentaire au sein du Pôle Universitaire de St Jean d'Angély. MICORALIS développe de nombreux projets de recherche clinique et/ou fondamentale en collaboration étroite avec les Praticiens Hospitaliers du Centre Hospitalier Universitaire de Nice, du Centre Antoine Lacassagne, des équipes de recherche de l'ensemble du territoire national, des équipes internationales et éventuellement par des industriels.

Dans le cadre de la mise au point d'un projet de Recherche Clinique piloté par le Laboratoire MICORALIS et destiné à mieux comprendre comment l'organisme se défend pour détruire les cellules de la sphère ORL infectées par des virus, **nous souhaitons conserver par congélation des échantillons tissulaires qui seront obtenus à partir des prélèvements chirurgicaux prélevés lors de l'opération de votre enfant. Il est bien établi que ce prélèvement ne modifie en aucune manière la technique chirurgicale habituellement utilisée et la quantité de tissu prélevé. De plus, l'utilisation de ces prélèvements, dans cette finalité, n'aura aucune conséquence sur les soins qui seront prodigués à votre enfant.**

L'étude qui est réalisée est une étude de recherche clinique réalisée pour mieux comprendre les mécanismes qui sont responsables de la maladie ; dans ce contexte, cette étude n'aura pas de bénéfice immédiat pour votre enfant, mais elle contribuera grandement à améliorer dans le futur les soins de cette maladie.

Cette participation à ce projet de recherche est libre et ne donnera lieu à aucune indemnité.

Vous avez le droit de refuser de donner votre accord ou de retirer votre autorisation à tout moment, sans avoir à en expliquer les raisons et sans que votre décision influence en quoi que ce soit la qualité des soins que recevra votre enfant, et sans encourir aucune responsabilité ; vous devrez alors en informer le Dr DOGLIO qui est responsable de la mise en place de cette étude au 04 92 03 76 38. Les échantillons tissulaires seront alors détruits.

#### **Traitement des données personnelles**

Pour réaliser cette étude, il est en outre nécessaire de pouvoir disposer de données cliniques concernant votre enfant. Comme vous le savez, celles-ci sont conservées dans votre dossier médical et gérées informatiquement, le traitement de ces données est conforme à la loi Informatique et Libertés n°78-17 du 6 Janvier 1978 modifiée et ainsi qu'au règlement (UE) 2016/679 du Parlement européen et du Conseil du 27 avril 2016 applicable à compter du 25 mai 2018 (règlement général sur la protection des données). Le responsable du traitement informatique est le Directeur Général du CHU de Nice. Le CHU de Nice a désigné un Délégué à la Protection des Données (DPO) que vous pouvez joindre au [dpo@chu-nice.fr](mailto:dpo@chu-nice.fr) et qui pourra répondre à toutes vos questions concernant la protection des données personnelles.

Ces données médicales fournissent des renseignements indispensables pour mener à bien ces travaux ; en effet, les nouvelles connaissances sur les maladies sont produites grâce au rapprochement des résultats de la recherche scientifique avec des données cliniques des maladies et de leur évolution. Les données concernant votre enfant (la première lettre du nom patronymique et du prénom, âge, données cliniques, histologiques et de congélation) sont



conservées dans une base de données pendant une durée de deux ans après la dernière publication des résultats. La licéité de ce traitement informatique est l'intérêt légitime poursuivi par le CHU de Nice à des fins d'amélioration du suivi de certaines pathologies, à des fins de recherche scientifique et de publications.

Vous pouvez exercer votre droit d'accès et de rectification aux informations qui vous concernent, une limitation du traitement relatif à votre personne, retirer votre consentement ou exercer votre droit à la portabilité en écrivant au Délégué à la Protection des Données (DPO) du CHU de NICE (Mail à [dpo@chu-nice.fr](mailto:dpo@chu-nice.fr) ou Courrier à A l'attention du Délégué à la Protection des données (DPO), Hôpital de Cimiez, 4 avenue de la Reine Victoria – CS 91179 – 06003 Nice Cedex.) De même, vous pouvez vous opposer à votre participation à un traitement des données vous concernant pour des motifs légitimes, sans que cela ne modifie en aucune façon la prise en charge médicale réalisée par votre médecin.

Dans l'hypothèse où vous estimez que vos données ne sont pas traitées conformément à la réglementation relative aux données personnelles, vous pouvez adresser une réclamation auprès de la Commission Nationale Informatique et Libertés.

### **Votre accord de participation**

**Conformément à l'article L1211-2 du code de la santé publique (loi 2004-800 du 06 août 2004),  votre accord d'autorisation est nécessaire pour que :**

- des échantillons tissulaires issus du matériel de résection chirurgicale qui a été retiré à votre enfant lors de son opération soient prélevés et conservés par congélation dans le cadre de la mise en place d'une tissuthèque ;
- ces échantillons biologiques soient utilisés dans le futur à des fins de recherche scientifique, avec éventuellement un examen des caractéristiques génétiques constitutionnelles (étude de l'ADN de votre enfant) ; dans ce dernier cas où ses caractéristiques génétiques constitutionnelles devraient être utilisées dans des projets spécifiques, vous serez sollicité pour un nouveau consentement dédié à cette étude ;
- un prélèvement sanguin soit prélevé lors de l'opération de votre enfant en vue de sérologies virales (Epstein-Barr Virus (EBV), Cytomégalovirus (CMV), Herpès Simplex Virus 1 (HSV1) à des fins de recherche scientifique, avec diffusion des résultats à votre demande.

Cet accord est révocable à tout moment. Afin d'exprimer votre souhait, nous vous demandons de bien vouloir lire et signer le consentement éclairé qui se trouve à la suite de cette note d'information.

Quelque soit votre décision, nous tenons à vous remercier de l'attention que vous avez portée à la lecture de ce document. Si vous souhaitez obtenir des informations complémentaires, vous pouvez contacter le Dr DOGLIO responsable de la mise en place de cette étude au 04 92 03 76 38.

## Microbiologie Orale, Immunothérapie et Santé (MICORALIS)

Responsable : Dr DOGLIO Alain  
UFR d'Odontologie, Pôle St Jean d'Angély - 24 avenue des Diablos Bleus - 06357 Nice Cedex 4  
Téléphone : 04 92 03 76 38

### **Autorisation (parents ou représentants parentaux) de prélèvements, de congélation, d'échantillons biologiques humains et d'utilisation des données**

Nous, soussigné(e),  
M. (Nom et Prénom) .....  Père  Représentant légal  
Mme, (Nom et Prénom) .....  Mère  Représentant légal  
Parents ou représentants parentaux de l'enfant (Nom et Prénom) .....

Suite à la lecture ce jour, des informations présentes dans la note ci-jointe et aux explications données par le médecin, notamment sur :

- la réalisation de prélèvements tissulaires à partir du matériel de résection chirurgicale qui lui sera retiré lors de son opération, dans le service de Chirurgie ORL du Dr BAILLEUX (Centre Hospitalier Universitaire de Nice – Hôpital Lenval) et leurs congélations ou conservation dans des blocs de paraffine pour « archivage » dans le cadre de la création d'une biobanque au Centre Hospitalier Universitaire de Nice, et leurs congélations pour « archivage » dans le cadre de la réalisation d'une étude sur la recherche d'une étiopathologie virale dans le syndrome d'apnées-hypopnées obstructives du sommeil (SAHOS) chez l'enfant réalisée à l'UFR d'Odontologie, Pôle St Jean d'Angély ;
- la constitution d'une base de données médicales comprenant certaines des données cliniques concernant notre enfant rendues non nominatives ;
- la réalisation d'un prélèvement sanguin en vue de sérologies virales (Virus de l' Epstein-Barr (EBV), cytomégalovirus (CMV), Herpès Simplex Virus 1 (HSV1)) à des fins de recherche scientifique, avec diffusion des résultats à votre demande.

D'autre part, nous avons compris que l'escompte de cette démarche est collectif et que la balance bénéfique/risque est positive pour notre enfant.

Nous avons été informé :

- de la nature des informations transmises : la première lettre de son nom patronymique et de son prénom, âge, données cliniques, histologiques et de conservation des tissus congelés ;
- de la finalité du traitement des données ;
- de notre droit d'accès et de rectification à ces données ;
- de notre droit de nous opposer au traitement automatisé des données nominatives concernant notre enfant.

Des réponses ont été apportées à toutes nos questions. Nous avons disposé d'un délai de réflexion avant de prendre notre décision. Notre autorisation ne décharge pas les responsables de la tissuthèque de leur responsabilité.

**NOUS AUTORISONS LE PRELEVEMENT, LA CONGELATION ET L'UTILISATION A DES FINS DE RECHERCHES SCIENTIFIQUES ET DE DIAGNOSTIC, D'ECHANTILLONS BIOLOGIQUES ET NOUS ACCEPTONS EGALEMENT QUE LES DONNEES MEDICALES DE NOTRE ENFANT RENDUES NON NOMINATIVES RECUEILLIES PENDANT SES SOINS ET ASSOCIEES AU PRELEVEMENT SOIENT L'OBJET D'UN TRAITEMENT INFORMATISE.**

**NOUS REFUSONS DE DONNER NOTRE CONSENTEMENT POUR LE PRELEVEMENT, LA CONGELATION ET L'UTILISATION D'ECHANTILLONS BIOLOGIQUES.**

**Je sais que ma décision est révoquant, et qu'en cas de changement de décision de ma part, je pourrai demander la destruction des échantillons provenant de la personne de mon enfant et qui sont conservés uniquement pour des raisons scientifiques ainsi que les données médicales associées.**

Fait en double exemplaire dont un remis aux parents ou titulaire de l'autorité parentale.

Fait à ....., le ..... Fait à ....., le ..... Fait à ....., le .....

Signature du médecin : Signature :  Père  Représentant légal Signature :  Mère  Représentant légal

Précédée de la mention « Lu et approuvé » Précédée de la mention « Lu et approuvé » Précédée de la mention « Lu et approuvé »

## *Serment d'Hippocrate*

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



## Approbation – Improbation

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

Lu et approuvé,

Vu,  
Nice, le

Le Président du jury,

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

Professeur

Professeur Laurence LUPI

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

# ÉVALUATION D'UNE ÉTIOPATHOLOGIE VIRALE CHEZ L'ENFANT ATTEINT DE SYNDROME D'APNÉES-HYPOPNÉES OBSTRUCTIVES DU SOMMEIL

## Protocole de recherche expérimentale

**Thèse** : Chirurgie Dentaire, Nice, 2021, n°42-57-21-31

**Directeur de thèse** : Elody Aïem Tort-Alvarez

**Mots-clés** : SAHOS, enfants, protocole expérimental, amygdales palatines, virus

### **Résumé** :

Le Syndrome d'Apnées-Hypopnées Obstructives du Sommeil (SAHOS) est une entité clinique des troubles respiratoires obstructifs du sommeil se caractérisant par la survenue, pendant le sommeil, d'épisodes anormalement fréquents d'interruptions de la ventilation (apnées), ou de réductions significatives de la ventilation (hypopnées). Depuis 1976, le SAHOS chez les enfants a fait l'objet de beaucoup d'attention et de recherches. De nos jours, il est largement reconnu comme une pathologie fréquente avec une prévalence entre 1,2 à 5,7% et causant une importante morbidité dans l'enfance.

Du fait de sa physiopathologie, le SAHOS pédiatrique nécessite une prise en charge pluridisciplinaire. En tant que chirurgien-dentiste exerçant en odontologie pédiatrique, notre position privilégiée nous permet de dépister (prévention primaire) les patients les plus à risque de SAHOS et de poser un diagnostic présomptif (prévention secondaire).

La littérature scientifique a mis en évidence que le rétrécissement des voies aériennes supérieures, chez la plupart des enfants en bonne santé, est principalement dû à une hypertrophie adéno-amygdalienne. En effet, les amygdales palatines font partie de l'anneau de Waldeyer dans la région de l'oropharynx et présentent une augmentation de leur volume entre l'âge de 2 et 8 ans, période où les infections ORL sont les plus fréquentes. C'est pourquoi des académies et sociétés savantes nationales et internationales recommandent l'adénotonsillectomie comme traitement de première intention.

Notre travail présentera en première partie, l'état actuel des connaissances concernant la physiopathologie et la prise en charge du SAHOS pédiatrique. La deuxième partie proposera une revue narrative de la littérature ayant pour objet le rôle des infections virales dans l'étiopathogénie du SAHOS chez les enfants. La troisième partie détaillera notre protocole de recherche expérimentale réalisée au sein du laboratoire Microbiologie Orale, Immunité et Santé (UPR7354) situé au sein de la Faculté de Chirurgie Dentaire de l'Université Côte d'Azur.