



Etude expérimentale du test salivaire Cario Analyse sur des patients subissant une radiothérapie de la sphère oro-faciale

Christelle Jérôme

► To cite this version:

Christelle Jérôme. Etude expérimentale du test salivaire Cario Analyse sur des patients subissant une radiothérapie de la sphère oro-faciale. Sciences du Vivant [q-bio]. 2007. hal-01732195

HAL Id: hal-01732195

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732195>

Submitted on 14 Mar 2018

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.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

ACADEMIE DE NANCY-METZ
UNIVERSITE HENRI POINCARRE-NANCY 1
FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année 2007

N° 38-06

THESE

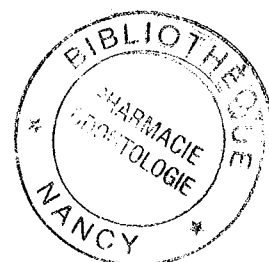
pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN CHIRURGIE DENTAIRE

par

Christelle JEROME

Née le 14 mars 1981 à Metz (57)



ETUDE EXPERIMENTALE DU TEST SALIVAIRE CARIO ANALYSE SUR
DES PATIENTS SUBISSANT UNE RADIOTHERAPIE DE LA SHERE ORO
FACIALE

Présentée et soutenue publiquement le 28 Juin 2006

Examineurs de la thèse :

M. J.P. LOUIS
M.F. MAIRE
M. J. SCHOUVER
M. M. WEISSENBACH

Professeur des Universités
Docteur en Chirurgie Dentaire
Maître de Conférences des Universités
Maître de Conférences des Universités

Président
Juge
Juge
Juge

BU PHARMA-ODONTOL



D

104 076555 8

PPN 4184.12.4/8

BIB 188650

T/OD/N/38-06/D

ACADEMIE DE NANCY-METZ
UNIVERSITE HENRI POINCARRE-NANCY 1
FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année 2007

N° 38-06

THESE

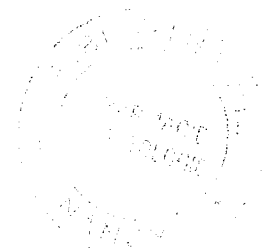
pour le

**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN CHIRURGIE DENTAIRE**

par

Christelle JEROME

Née le 14 mars 1981 à Metz (57)



**ETUDE EXPERIMENTALE DU TEST SALIVAIRE CARIO ANALYSE SUR
DES PATIENTS SUBISSANT UNE RADIOTHERAPIE DE LA SHERE ORO
FACIALE**

Présentée et soutenue publiquement le 28 Juin 2006

Examineurs de la thèse :

M. J.P. LOUIS

M.F. MAIRE

M. J. SCHOUVER

M. M. WEISSENBACH

Professeur des Universités

Docteur en Chirurgie Dentaire

Maître de Conférences des Universités

Maître de Conférences des Universités

Président

Juge

Juge

Juge

Vice-Doyens : Dr. Pascal AMBROSINI - Dr. Jean-Marc MARTRETTE - Dr Jacques PREVOST
Membres Honoraires : Pr. F. ABT - Dr. L. BABEL - Pr. S. DURIVAUD - Pr. G. JACQUART - Pr. D. ROZENCWEIG - Pr. M. VIVIER
Doyen Honoraire : Pr. J. VADOT

Sous-section 56-01 Odontologie pédiatrique	Mme M. Mlle Mme M. <u>DROZ Dominique (Desprez)</u> PREVOST** Jacques MARCHETTI Nancy ROY Angélique (Mederlé) SABATIER Antoine	Maître de Conférences Maître de Conférences Assistant Assistant Assistant
Sous-section 56-02 Orthopédie Dento-Faciale	Mme Mlle M. <u>FILLEUL Marie Pierryle</u> BRAVETTI Morgane GEORGE Olivier	Professeur des Universités* Assistant Assistant
Sous-section 56-03 Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie légale	M. Mme <u>WEISSENBAACH Michel</u> JANTZEN-OSSOLA Caroline	Maître de Conférences* Assistant Assistant
Sous-section 57-01 Parodontologie	M. M. Mme M. Mme M. <u>MILLER** Neal</u> AMBROSINI Pascal BOUTELLIEZ Catherine (Bisson) PENAUD Jacques BACHERT Martine PONGAS Dimitrios	Maître de Conférences Maître de Conférences Maître de Conférences Maître de Conférences Assistant Assistant
Sous-section 57-02 Chirurgie Buccale, Pathologie et Thérapeutique Anesthésiologie et Réanimation	M. M. M. M. Mlle M. <u>BRAVETTI Pierre</u> ARTIS Jean-Paul VIENNET Daniel WANG Christian LE Audrey PERROT Ghislain	Maître de Conférences Professeur 1er grade Maître de Conférences Maître de Conférences* Assistant Assistant
Sous-section 57-03 Sciences Biologiques (Biochimie, Immunologie, Histologie, Embryologie, Génétique, Anatomie pathologique, Bactériologie, Pharmacologie)	M. M. Mme <u>WESTPHAL** Alain</u> MARTRETTE Jean-Marc MOBY Vanessa (Stutzmann)	Maître de Conférences * Maître de Conférences Assistant
Sous-section 58-01 Odontologie Conservatrice, Endodontie	M. M. M. M. M. M. M. <u>AMORY** Christophe</u> PANIGHI Marc jusqu'au 2/3/07 FONTAINE Alain ENGELS DEUTSCH** Marc CLAUDON Olivier PERRIN Sébastien SIMON Yorick	Maître de Conférences Professeur des Universités* Professeur 1er grade* Maître de Conférences Assistant Assistant Assistant
Sous-section 58-02 Prothèses (Prothèse conjointe, Prothèse adjointe partielle, Prothèse complète, Prothèse maxillo-faciale)	M. M. M. M. M. M. M. M. <u>SCHOUVER Jacques</u> LOUIS** Jean-Paul ARCHIEN Claude LAUNOIS** Claude KAMAGATE Sinan DE MARCH Pascal HELPER Maxime SEURET Olivier WEILER Bernard	Maître de Conférences Professeur des Universités* Maître de Conférences * Maître de Conférences Assistant associé au 1/10/05 Assistant Assistant Assistant Assistant
Sous-section 58-03 Sciences Anatomiques et Physiologiques Occlusodontiques, Biomatériaux, Biophysique, Radiologie	Mlle M. Mme <u>STRAZIELLE** Catherine</u> SALOMON Jean-Pierre HOUSSIN Rozat (Jazi)	Professeur des Universités* Maître de Conférences Assistante Associée au 01/01/2007

italique : responsable de la sous-section

* temps plein - ** responsable TP

Nancy, le 01.01.2007

*Par délibération en date du 11 décembre 1972,
la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que
les opinions émises dans les dissertations
qui lui seront présentées
doivent être considérées comme propres à
leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner
aucune approbation ni improbation.*

A NOTRE PRESIDENT ET DIRECTEUR DE THESE

Monsieur le Professeur Jean Paul LOUIS

Officier des Palmes Académiques
Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur en Sciences Odontologiques
Docteur d'Etat en Odontologie
Professeur des Universités
Membre de l'Académie Nationale de Chirurgie Dentaire
Sous-section : Prothèse

Vous nous avez fait le très grand honneur de bien vouloir accepter de diriger notre travail.

Nous voulons vous exprimer notre profond respect pour la qualité et la richesse de votre enseignement que vous nous prodiguez.

Qu'il vous soit assuré de notre profonde considération.

A NOTRE JUGE,

Monsieur le Docteur François MAIRE,

Docteur en Chirurgie Dentaire
Ancien Assistant Hospitalier Universitaire
Chef du Service Dentaire du Centre Alexis Vautrin

Nous apprécions l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de diriger notre travail, dont vous avez été l'initiateur.

Votre grande disponibilité ainsi que vos précieux conseils ont permis de mener à bien la réalisation de ce travail.

Qu'il vous soit témoigné notre profonde reconnaissance pour votre savoir et pour toutes les connaissances que vous nous enseignez au Centre Alexis Vautrin.

A NOTRE JUGE

Monsieur le Docteur Jacques SCHOUVER,

Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur en Sciences Odontologiques
Maître de Conférences des Universités
Responsable de la Sous-section : Prothèses

Vous nous avez fait le très grand honneur de bien vouloir
juger notre travail.

En travaillant à vos côtés, nous avons su apprécier votre
savoir et la qualité de votre enseignement clinique. Nous nous
souviendrons également de la sympathie dont vous avez fait
preuve à notre égard.

Veillez trouver ici l'expression de notre reconnaissance et de
notre profonde estime.

A NOTRE JUGE,

Monsieur le Docteur Michel WEISSENBACH,

Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur en Sciences Odontologiques
Docteur de l'Université Henry Poincaré, Nancy-I
Maître de Conférences des Universités
Responsable de la Sous-Section : Prévention - Epidémiologie - Economie de
Santé -Odontologie légale

Nous avons l'honneur de vous compter parmi nos juges.

Nous vous remercions pour votre sympathie et pour l'intérêt que vous portez à ce travail en acceptant d'en être le juge.

Qu'il vous soit assuré de notre profonde reconnaissance pour votre enseignement et la qualité de votre encadrement.

A FRANCOIS,

A tous les bons moments passés ensemble et à venir.
Merci d'être présent à mes côtés et de me soutenir.

A MES PARENTS ET A MA SŒUR, JULIE,

En témoignage de ma profonde affection et du soutien qu'ils m'ont toujours apporté.

A MARIE FRANCE, DOMINIQUE et CATHERINE,

En signe de ma profonde affection.

A FRED ET DELPHINE,

A l'amitié qui nous lie depuis le collège et qui, j'espère, durera longtemps.

A FLO, EMILY, SEB, CARMEN et ROMAIN,

Merci pour ces inoubliables années étudiantes que j'ai passé grâce à vous.

A TOUTE L'EQUIPE DU CABINET DES DOCTEURS VALANTIN ET NICOLAS,

Merci de m'avoir ouvert vos portes et de votre confiance.

A TOUTE L'EQUIPE DU CABINET DES DOCTEURS SCHOUVER ET COLLIN,

Ce passage au sein de votre cabinet aura été une expérience très enrichissante.

A OLIVIER,

Merci pour tes précieux conseils statistiques.

A TOUTE L'EQUIPE DU CAV,

Un grand merci à tous ceux qui ont participé à l'étude.

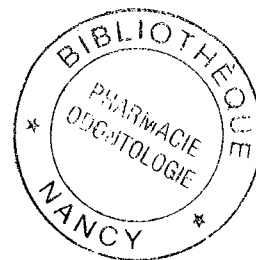
A TOUTE L'EQUIPE DE BONSECOURS

A TOUTE MA FAMILLE

AUX LABORATOIRES PIERRE FABRE

Pour m'avoir fourni les tests salivaires et sans qui l'étude n'aurait pas été possible.

PLAN



INTRODUCTION.....	6
--------------------------	----------

1. GENERALITES SUR LES CANCERS DES VOIES AERO DIGESTIVES SUPERIEURES8

1.1 Les localisations des cancers des voies aéro-digestives supérieures.....	8
--	---

1.2. Traitements des cancers des voies aéro-digestives supérieures.....	10
---	----

1.2.1 La chirurgie.....	11
-------------------------	----

1.2.2 La radiothérapie.....	12
-----------------------------	----

1.2.2.1 La radiothérapie externe.....	12
---------------------------------------	----

1.2.2.2 La curiethérapie.....	13
-------------------------------	----

1.2.3 La chimiothérapie.....	13
------------------------------	----

2. COMPLICATIONS POST-RADIOTHERAPIQUES ET PREVENTION DE LEUR APPARITION.....14

2.1 Conséquences sur la sphère oro-faciale.....	14
---	----

2.1.1 Radiomucite.....	14
------------------------	----

2.1.2 Radiodermite.....	15
-------------------------	----

2.1.3 Trismus.....	15
--------------------	----

2.1.4 Dysgueusie.....	16
-----------------------	----

2.1.5 Caries post-radiothérapiques.....	16
---	----

2.1.6 Ostéoradionécrose.....	18
------------------------------	----

2.2 Prévention des risques bucco-dentaires liés à la radiothérapie.....	20
---	----

2.2.1 Mise en état de la cavité buccale avant radiothérapie.....	20
--	----

2.2.1.1. Le bilan buccodentaire.....	20
--------------------------------------	----

2.2.1.2 Les soins buccodentaires.....	21
---------------------------------------	----

2.2.1.3 La motivation à l'hygiène.....	22
--	----

2.2.2 Suivi pendant la radiothérapie.....	24
---	----

2.2.3 Suivi après la radiothérapie.....	24
---	----

2.2.3.2. Les extractions en territoire irradié.....	25
2.2.3.3. La xérostomie.....	27
2.2.3.4. Le trismus.....	28
3. LA SALIVE.....	29
3.1 Physiologie des glandes salivaires.....	29
3.1.1 Rappels anatomiques.....	29
3.1.1.1 La glande parotide.....	29
3.1.1.2 La glande sous maxillaire.....	30
3.1.1.3 La glande sub-linguale.....	30
3.1.2 Rappels histologiques et physiologiques.....	31
3.2 Propriétés de la salive.....	32
3.2.1 Composition biochimique.....	32
3.2.1.1 L'eau.....	32
3.2.1.2 Les constituants inorganiques.....	32
3.2.1.3 Les constituants organiques.....	33
3.2.1.3.1 Les protéines salivaires.....	33
3.2.1.3.2 Les protéines extrinsèques.....	33
3.2.1.3.3 Les protéines intrinsèques.....	33
3.2.1.3.3.1 Les enzymes salivaires.....	33
3.2.1.3.3.2 Les mucoprotéines et glycoprotéines.....	33
3.2.1.3.3.3 Les facteurs de croissance.....	33
3.2.1.3.3.4 Les IgA sécrétoires.....	33
3.2.1.3.3.5 Les protéines riches en prolines.....	33
3.2.1.3.4 Les composés azotés.....	33
3.2.1.3.5 Les glucides libres.....	33
3.2.1.3.6 Les vitamines.....	33
3.2.1.3.7 Les lipides.....	33
3.2.1.3.8 Les nucléotides libres.....	33
3.2.1.3.9 Autres constituants organiques.....	33
3.2.2 Caractéristiques physico-chimiques de la salive.....	37
3.2.2.1 Le pouvoir tampon.....	37
3.2.2.2 La viscosité.....	38
3.2.2.3 Le potentiel d'oxydoréduction.....	38
3.2.2.4 La clairance.....	39
3.2.3 Rôle de la salive.....	39

3.2.3.1	Fonction digestive.....	39
3.2.3.2	Fonction de protection.....	40
3.2.3.3	Fonction de cicatrisation.....	40
3.3	Conséquences de l'irradiation des glandes salivaires.....	41
3.3.1	Symptômes cliniques de la xérostomie.....	41
3.3.2	Pathogénèse des dysfonctions salivaires induites par la radiothérapie.....	43
3.3.3	Effets de radiothérapie sur la composition salivaire.....	45
3.3.3.1	Effets sur le pH salivaire.....	45
3.3.3.2	Effets sur la sécrétion d'immunoglobuline A salivaire.....	45
3.3.3.3	Effets sur la composition protéique salivaire.....	46
3.3.3.4	Effets sur flore microbiologique buccale.....	48
4.	EVALUATION DU RISQUE CARIEUX.....	50
4.1	Le processus carieux.....	50
4.1.1	Définition.....	50
4.1.2	Système mis en jeu.....	51
4.1.2.1	La plaque dentaire.....	52
4.1.2.1.1	La fraction cellulaire.....	52
4.1.2.1.2	La fraction acellulaire.....	56
4.1.2.2	La salive.....	56
4.1.2.3	L'émail.....	56
4.1.2.4	La dentine.....	57
4.1.3	Rôle de l'alimentation.....	57
4.1.3.1	Nature des sucres ingérés.....	58
4.1.3.2	Quantité de sucres ingérés.....	58
4.1.3.3	Influence de la fréquence et du moment d'ingestion.....	59
4.1.4	Dynamique des lésions carieuses.....	59
4.1.4.1	Les cycles de déminéralisation- reminéralisation.....	59
4.1.4.2	Evolution des lésions carieuses.....	60
4.2	Détermination du risque carieux.....	61
4.2.1	Facteurs de risque carieux.....	61
4.2.2	Evaluation.....	62
4.2.3	Les tests de susceptibilité à la carie.....	63
4.2.3.1	Mesure du flux salivaire.....	64

4.2.3.2	Mesure du pouvoir tampon.....	64
4.2.3.3	Numération des streptocoques et des lactobacilles.....	64
4.2.3.3.1	Culture de bactéries sur milieu gélosé.....	64
4.2.3.3.2	Numération bactérienne par amplification génique.....	66
4.2.3.3.2.1	Définition de la PCR.....	66
4.2.3.3.2.2	Intérêt.....	67
4.2.3.3.2.3	Méthode.....	68
4.2.4	Le système carioanalyse.....	71
4.2.4.1	Présentation.....	71
4.2.4.2	Prélèvement.....	71
4.2.4.3	Rapport d'analyse.....	72
4.2.4.4	Evaluation clinique ;.....	74
4.2.4.5	Appréciation du risque carieux.....	75
4.3	Avantages et limites de ces techniques.....	75
4.3.1	Avantages.....	75
4.3.2	Limites.....	76
4.3.2.1	Limites liées aux tests salivaires.....	76
4.3.2.2	Limites liées à l'écologie buccale.....	77
4.3.2.3	Limites liées au coût des tests salivaires.....	78
5.	ANALYSE MICROBIOLOGIQUE DE PRELEVEMENTS DE SALIVE EFFECTUES SUR DES PATIENTS BENEFICIANT D' UNE RADIOTHERAPIE DE LA SPHERE ORO FACIALE	79
5.1	Objectifs de l'étude.....	79
5.2	Définition de la population.....	79
5.3	Prélèvements et mesures.....	80
5.4	Résultats.....	84
5.4.1	Les lactobacilles	84
5.4.2	Les streptocoques mutans.....	85
5.4.3	Le pH salivaire	85
5.4.4	Le risque carieux.....	86
5.5	Discussion.....	89
5.6	Conclusion de l'étude.....	91
	CONCLUSION.....	94

INTRODUCTION

Les voies aéro-digestives supérieures sont le siège des fonctions de respiration, déglutition, et de communication. Lorsqu'une tumeur maligne s'y développe, ce sont toutes ces fonctions qui peuvent être perturbées. Les cancers de cette région représentent un problème important de santé publique en France puisqu'elle détient le triste record de la première place mondiale pour le décès par tumeur du larynx et la deuxième pour les tumeurs de la cavité buccale et du pharynx.

La radiothérapie est une des solutions proposées pour traiter ces cancers, mais cette thérapeutique est contraignante pour le patient. En effet, l'irradiation de la tumeur peut léser les glandes salivaires et entraîner des troubles allant d'une simple diminution du volume salivaire à une xérostomie.

Or, on sait que la salive joue un rôle déterminant dans l'équilibre de l'écosystème buccal. On comprend donc que les modifications de cet environnement consécutives à la radiothérapie peuvent bouleverser cet équilibre.

Jusqu'à aujourd'hui, les tests salivaires qui permettaient de mettre en évidence les streptocoques mutans et les lactobacilles présents en bouche nécessitaient une mise en culture sur gélose de ces bactéries, après prélèvement salivaire par le praticien.

Le système Cario Analyse de chez Pierre Fabre permet l'analyse microbiologique de la salive du patient sans matériel ni investissement.

Nous passerons donc en revue les différentes localisations des cancers des voies aéro-digestives supérieures et leur traitement, puis nous verrons quels peuvent être les effets secondaires de ces traitements et comment les prévenir. La troisième partie traitera de la salive et de son importance dans l'équilibre biologique buccal. Nous nous intéresserons ensuite au risque carieux et à son évaluation avant d'aborder le cœur de notre sujet, c'est-à-dire l'étude expérimentale.

Cette étude a pour objet l'analyse de la composition microbiologique de la salive de patients traités par radiothérapie et l'évaluation de leur risque carieux à différents stades du traitement, grâce à Cario Analyse.

Les résultats de ces analyses montreront si ces tests salivaires mettent en évidence un éventuel changement de l'équilibre biologique buccal avant puis après la radiothérapie, afin de le montrer au patient, le but étant de le faire adhérer à notre plan de prévention.

Enfin, nous discuterons de l'intérêt de la mise en place de tests salivaires tels que le système Cario Analyse dans le protocole de prévention du risque carieux chez le patient irradié.

1. GENERALITES SUR LES CANCERS

DES VOIES AERO-DIGESTIVES

SUPERIEURES

1.1 Les localisations des cancers des voies aéro-digestives supérieures

Selon le siège de la tumeur et les structures envahies, le diagnostic, le traitement et le pronostic diffèrent.

Les cancers des voies aéro-digestives peuvent être regroupées en différentes localisations (fig. 1). Ils concernent la cavité buccale dans 25% des cas .Cette région comprend : (6)

- la langue mobile
- le plancher de bouche

C'est là que sont localisés la plupart des cancers de la cavité buccale.

Ils touchent plus rarement :

- Les gencives
- Le voile du palais
- La lèvre

L'oropharynx est touché dans 25% des cas. Il comprend :

- la base de la langue en arrière du V lingual
- l'amygdale
- la loge amygdalienne
- le pilier antérieur du voile
- la paroi oropharyngée latérale et postérieure.

Les cancers des voies aéro-digestives supérieures atteignent également l'hypo pharynx dans 15% des cas, le larynx dans 25% des cas, le cavum dans 7% des cas et les cavités aériennes de la face dans 3% des cas.

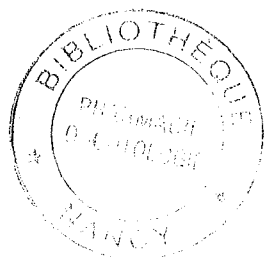
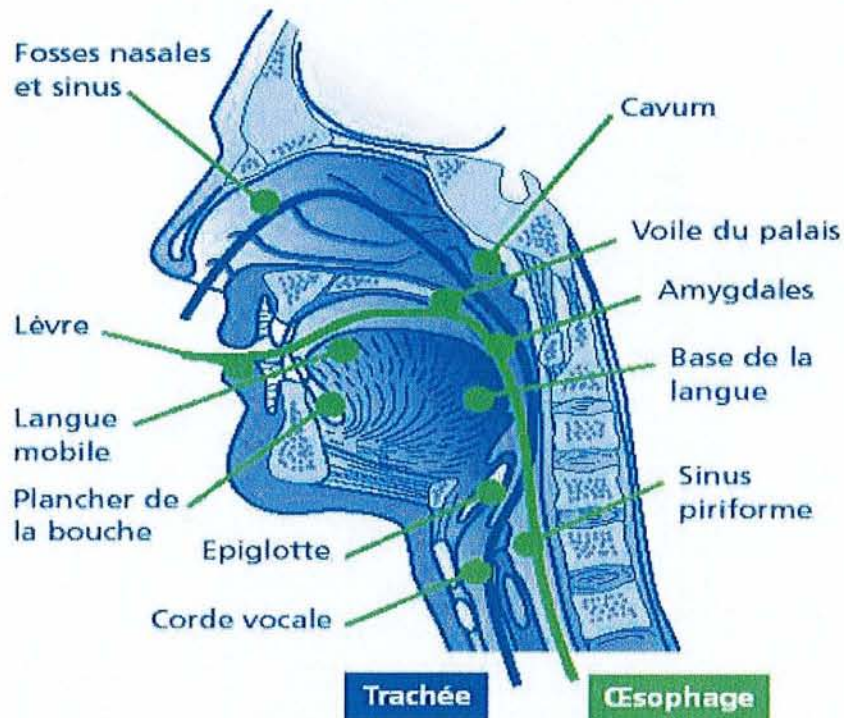


Fig. 1 : Voies aéro-digestives supérieures (d'après www.ligne.cancer.net)



Localisations des cancers des voies aéro-digestives supérieures :

Cavité buccale

- * langue mobile
- * plancher de bouche
- * gencives
- * lèvres
- * voile du palais

Oropharynx

- * amygdale et piliers
- * base de langue

Larynx

- * épiglottite
- * cordes vocales

Hypopharynx

- * sinus piriforme

1.2 Traitement des cancers des voies aéro-digestives supérieures

La stratégie thérapeutique de ces cancers dépend de leur localisation, leur anatomo-pathologie et de leur classification TNM. . Cette classification tient compte de la taille de la tumeur (T), de l'envahissement ganglionnaire associé (N) et de la présence éventuelle de métastases à distance (M) (fig. 2). (47)

Selon le cas, les visées thérapeutiques peuvent être curatives, palliatives ou adjuvantes. Il existe donc des protocoles de traitement anticancéreux. On associe souvent deux ou trois traitements en les adaptant de façon à obtenir un état post thérapeutique le plus satisfaisant possible et un espoir de guérison pour le patient.

Ainsi, la radiothérapie peut par exemple être utilisée seule ou en association avec des mesures chirurgicales ou de chimiothérapie. (6)

Fig.2 : La classification T.N.M. des tumeurs de la cavité buccale et de l'oropharynx
(d'après www.orl-france.org)

T (tumeur primitive)	N (adénopathie)	M (métastases)
Tis épithélioma in situ		
T0 pas de signe de tumeur primitive	N0 pas d'adénopathie	M0 pas de signe de métastases à distance
T1 tumeur $\leq$ à 2 cm	N1 adénopathie homolatérale unique $\leq$ à 3 cm	M1 métastases à distance
T2 tumeur $>$ à 2 cm et $\leq$ à 4 cm	N2a adénopathie homolatérale unique $>$ à 3 cm et $\leq$ à 6 cm	
T3 tumeur $>$ à 4 cm	N2b adénopathies homolatérales multiples $\leq$ à 6 cm	
T4 tumeur étendue à l'os, aux muscles, etc.	N2c adénopathies bilatérales ou controlatérales $\leq$ à 6 cm	
	N3 adénopathie $>$ à 6 cm	

1.2.1 La chirurgie

Elle vise à supprimer les lésions qui sont accessibles. Elle peut être limitée ou étendue selon la classification TNM de la tumeur

Le chirurgien peut être amené à réaliser un curage des territoires ganglionnaires si ceux-ci sont atteints.

La chirurgie s'accompagne d'une analyse histologique de la pièce pour savoir si la résection a été ou non satisfaisante. (1)

1.2.2 La radiothérapie

Le principe de la radiothérapie est de détruire les cellules néoplasiques à l'aide des rayons ionisants.

Il existe deux modes de radiothérapie : la radiothérapie externe et la curiethérapie.

1.2.2.1 La radiothérapie externe ou transcutanée

C'est la technique est la plus employée.

Les champs d'irradiation et les doses sont adaptés à la taille de la tumeur et à l'existence d'éventuelles adénopathies cervicales.

Pour la plupart des cancers de la sphère oro faciale, la dose totale administrée au cours de radiothérapie se situe dans une plage comprise entre 50 et 70 Grays. La dose administrée est fractionnée dans le temps.

L'action des rayons s'exerce sur les cellules tumorales et sur les cellules saines. Ces dernières sont plus résistantes et leur capacité de récupération est meilleure que celle des cellules néoplasiques. Le radiothérapeute définit un champ d'irradiation tel que le volume cible reçoit la dose maximale de rayons et que l'irradiation des organes de voisinage est la plus faible possible.

En dépit de ces précautions, il existe des effets secondaires, tels que la xérostomie. L'ostéoradionécrose est une complication de la radiothérapie qui nécessite une attention particulière de la part du chirurgien dentiste. En effet, un traitement de radiothérapie implique une mise en état de la cavité buccale préalable puis la mise en place d'une prévention fluorée au long cours. (6)

1.2.2.2 La curiethérapie ou radiothérapie interstitielle

Ce traitement utilise l'iridium 192. Il nécessite la mise en place de tubes plastiques vecteurs, de fils ou d'aiguilles dans la zone tumorale. Cette technique permet de soigner des tumeurs de faibles diamètres (moins de 5 cm). Elle peut être utilisée seule ou associée à la radiothérapie externe.

Les avantages de cette méthode sont d'une part, une durée de traitement plus courte (5 à 7 jours) et d'autre part une bonne préservation des tissus sains. Les glandes salivaires ne sont pas touchées et il n'est donc pas utile pour le patient de porter des gouttières de fluoration. (11)

1.2.3 La chimiothérapie

Elle a pour but d'empêcher la reproduction des cellules cancéreuses. Le traitement est principalement réalisé à base de dérivés du platine (cis platine et carboplatine) avec du 5-fluoro uracile.

On distingue la chimiothérapie d'induction pour obtenir une rémission, la chimiothérapie d'entretien ou de maintenance et la chimiothérapie adjuvante quand le risque métastatique est important. (6)

2. COMPLICATIONS POST- RADIOTHERAPIQUES ET PREVENTION DE LEUR APPARITION

La radiothérapie entraîne des modifications de vascularisation, une diminution des capacités de réparation et de résistance à l'infection. Tout ceci offre un terrain favorable à l'apparition de complications locales ou à distance.

Les complications que nous allons décrire peuvent se rencontrer après des irradiations de la sphère oro-faciale utilisant des doses supérieures à 30 grays (38).

2.1 Conséquences sur la sphère oro-faciale

2.1.1 La radiomucite

C'est l'un des effets secondaires aigus les plus fréquents au cours de la radiothérapie de la région cervico-faciale.

Cette réaction de la muqueuse est le résultat de la destruction et de la mort des cellules dans la couche basale sous l'effet des rayons ionisants. Elle débute généralement vers le quinzième jour de traitement. On voit alors apparaître des lésions inflammatoires de la muqueuse buccale (fig.3). (6)

La radiomucite se manifeste d'abord par un érythème. On voit ensuite apparaître une épithélite exsudative. L'épithélium desquame. Ces lésions de mucite pseudomembraneuse sont douloureuses et peuvent évoluer vers des pseudo-membranes confluentes.

Le patient se plaint de trouble du goût, de sensation de brûlure et de bouche sèche. Il éprouve des difficultés à déglutir, s'alimenter et parler. Ces troubles peuvent entraîner des déshydratations et des perturbations nutritionnelles.

La sévérité de la réaction inflammatoire est proportionnelle à l'importance de la dose unitaire et à l'étendue de surface irradiée. (10)

Fig. 3: aspect clinique d'une mucite de grade II (d'après www.santetropicale.com)



2.1.2 La radiodermite

Les complications au niveau des tissus de revêtement de la face se traduisent par une épilation, un érythème ou un coup de soleil post radiothérapique, une épidermite et plus rarement une nécrose cutanée. (9)

2.1.3 Le trismus

On observe parfois une fibrose de la musculature masticatrice qui s'installe trois à six mois après le traitement. Cette réaction est fréquente après la radiothérapie des tumeurs du rhinopharynx car les muscles ptérygoïdiens et les articulations temporo-mandibulaires sont situés à l'intérieur du champ d'irradiation. L'ouverture buccale maximale est alors considérablement réduite. Le patient éprouve des difficultés pour s'alimenter et pour porter ses gouttières de fluoruration.

La rééducation musculaire et la kinésithérapie permettent d'améliorer l'ouverture buccale. (10)

2.1.4 La dysgeusie

Les patients traités par radiothérapie de la région cervico-faciale souffrent d'une altération plus ou moins importante du sens gustatif.

Ce trouble serait dû en partie à la nécrose des cellules des bourgeons du goût. La salive joue également un rôle important dans le fonctionnement du sens gustatif. Elle humecte et rince en permanence les bourgeons du goût. L'hyposialie peut donc perturber la perception gustative du patient. (11)

Les cellules des bourgeons du goût se régénèrent dans la plupart des cas environ quatre mois après la radiothérapie. Le phénomène de dysgeusie régresse au cours du temps alors que l'asialie perdure. (16)

2.1.5 Les caries post-radiothérapiques

Au cours du traitement de radiothérapie, les glandes salivaires parotides, sous-maxillaires, sub-linguales et accessoires peuvent être comprises dans les champs d'irradiation et gravement lésées.

Les glandes salivaires se sclérosent plus ou moins totalement, ce qui entraîne l'hyposalivation voire la xérostomie. Cette hyposialie peut être définitive ou s'atténuer partiellement au cours des années. La salive devient épaisse et visqueuse avec de fortes modifications physico chimiques par rapport à la salive initiale. (34)

La salive est un agent de nettoyage de la cavité buccale. Son insuffisance favorise la fixation de la plaque dentaire. La diminution de la mobilité linguale et la réduction de l'alimentation solide altèrent le nettoyage habituel de la denture et du parodonte au cours de la mastication. Par ailleurs, les soins d'hygiène bucco-dentaire qui deviennent douloureux, sont entravés. (69)

Les patients développent alors des caries extrêmement sévères peu de temps après la radiothérapie. On parle de caries actiniques ou caries radiogènes. Ces lésions se développent de manière caractéristique le long du rebord gingival ainsi que sur les surfaces lisses des dents et évoluent jusqu'à la destruction totale de la couronne (fig.4). (34)

Cliniquement, la carie se traduit au début par une modification de la teinte des dents qui prennent une couleur sombre. On rencontre dans de rares cas les « dents d'ébène », caractérisées par un noir très profond. Le délabrement de la dent n'entraîne pratiquement pas de phénomène douloureux pour le patient, ce qui peut faire passer inaperçu la dégénérescence pulpaire.

On constate radiologiquement que l'atteinte est beaucoup plus importante que ce que l'on prévoyait cliniquement. Ces lésions carieuses sont très caractéristiques dans la mesure où elles sont localisées au départ dans des zones que les caries traditionnelles respectent généralement.

L'irradiation de la sphère oro faciale nécessite donc une remise en état de la cavité buccale et la mise en place d'une prophylaxie spécifique que le patient devra suivre jusqu'à la fin de sa vie. (10)

Fig. 4: aspect clinique de caries post-radiothérapique (d'après www.fmd.ulaval.ca)



2.1.6 L'ostéoradionécrose

La radiothérapie engendre des lésions vasculaires irréversibles qui sont responsables de l'hypoxie et de l'hypo cellularité de l'os. Le risque d'infection est accru en raison de l'absence de mécanismes de réparation. Le phénomène d'ostéoradionécrose peut survenir lorsque l'os est agressé. L'infection se propage à travers une porte d'entrée locale créée par des extractions, une parodontite ou une blessure prothétique. Elle pénètre ensuite dans l'os lésé sans que les mécanismes de défense ne s'y opposent. (16)

Il existe deux sortes d'ostéoradionécrose : (10)

- L'ostéoradionécrose aseptique est caractérisée par le fait que l'os demeure longtemps sans symptôme.
- L'ostéoradionécrose septique ; dans ce cas, l'os se sur infecte. On observe en bouche des ulcérations muqueuses avec formation de cratères. L'os dévitalisé peut se trouver exposé en bouche (fig.5). La nécrose osseuse évolue le plus souvent vers la fracture même si dans certains cas, elle se limite et aboutit à une guérison.

Radiologiquement, on observe des images d'ostéolyse plus ou moins importantes et qui seront mal délimitées (fig. 6).

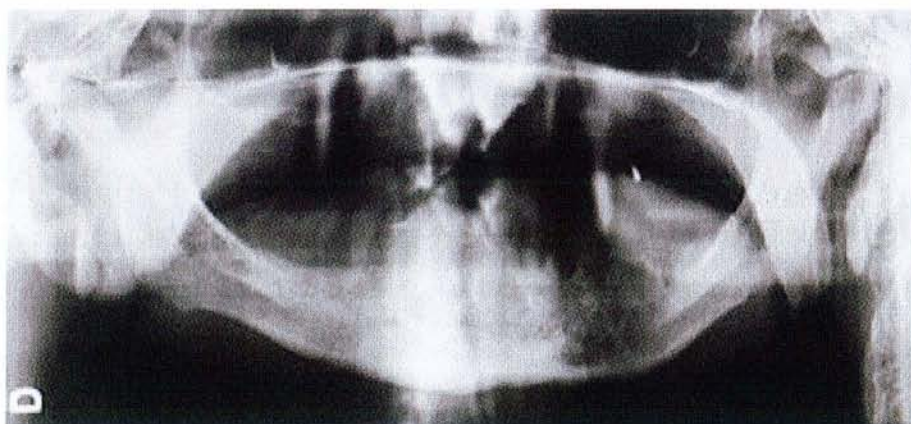
La mandibule est significativement plus touchée que le maxillaire en raison d'une constitution osseuse plus dense et par conséquent une vascularisation moins abondante que l'os maxillaire.

Cette complication post-radiothérapique est la plus redoutable. Il est donc indispensable de réaliser un bilan bucco-dentaire avant toute radiothérapie de la sphère oro faciale afin de ne pas avoir à intervenir en zone irradiée par la suite.

Fig. 5: aspect clinique d'une ostéoradionécrose (d'après www.fmd.ulaval.ca)



Fig.6: image radiologique d'une ostéoradionécrose (d'après www.fmd.ulaval.ca)



2.2 Prévention des risques bucco-dentaires liés à la radiothérapie

Si la radiothérapie a une action thérapeutique sur les cellules néoplasiques, elle a aussi des répercussions sur les tissus voisins de la zone tumorale. L'odontologiste a des moyens pour lutter contre l'apparition de l'ostéoradionécrose et des caries post-radiothérapiques. La prévention de ces complications commence avant le traitement de radiothérapie et se poursuit jusqu'à la fin de la vie du patient. (10)

2.2.1 Mise en état de la cavité buccale avant radiothérapie

2.2.1.1 Le bilan bucco-dentaire

Le patient qui bénéficie d'un traitement de radiothérapie doit être pris en charge de manière pluridisciplinaire. Le chirurgien dentiste qui réalise le bilan bucco-dentaire initial doit être en possession d'informations concernant la localisation de la tumeur, la classification TNM de la tumeur, le pronostic, le traitement prévu et la date à laquelle il débute, la dose d'irradiation et les champs concernés. (9)

Cette consultation vise à détecter d'éventuels foyers infectieux afin de les éliminer le plus rapidement. Le praticien peut profiter de l'anesthésie générale prévue par exemple pour une panendoscopie, pour réaliser des extractions multiples.

La consultation pré-radiothérapique permet d'éviter des complications ultérieures. Le chirurgien dentiste doit donc évaluer la qualité des dents présentes en bouche. Les dents à extraire doivent l'être au moins deux semaines avant la radiothérapie.

L'hygiène buccale et la coopération du patient influencent beaucoup la thérapeutique bucco-dentaire que le praticien mettra en place. Lors de l'examen intra buccal, il faut donc rechercher la présence de plaque et de tartre. L'examen clinique se poursuit par :

- L'appréciation du parodonte et la recherche de poches parodontales

- L'évaluation de la qualité des dents restantes en bouche, c'est-à-dire la mobilité des dents, la présence de carie, les obturations, les reconstitutions prothétiques et le nombre de dents absentes.

Un bilan radiologique de la cavité buccale est réalisé systématiquement. Le patient passe un orthopantomogramme avant la consultation. Cet examen permet de mettre en évidence des éléments qui ne sont pas visibles en bouche comme les dents et les racines incluses ou les traitements endodontiques.

Le plan de traitement établi par le praticien tient compte de l'état de la qualité des dents, de la motivation du patient mais surtout de la topographie des champs d'irradiation. Les dents en territoire irradié doivent être en parfait état. Il faut également prendre en considération le pronostic de survie du patient. Si le traitement envisagé est à visée palliative, il n'est pas forcément nécessaire de réaliser des extractions multiples. De même, la dose d'irradiation reçue à l'os joue un rôle important car il détermine le risque d'ostéoradionécrose. A partir de 50 Gys, ce risque augmente considérablement. Le praticien doit également tenir compte du degré d'intoxication alcoolique tabagique du patient. (11)

2.2.1.2 Les soins bucco-dentaires

Les dents situées dans les champs d'irradiation, et dont le pronostic est mauvais, sont extraites. Ceci concerne : (11,20)

- les dents porteuses de lésions apicales
- les dents dont les atteintes parodontales sont importantes
- les dents fortement délabrées
- les dents en malposition risquant de poser des problèmes pour la restauration prothétique.

Les dents de sagesse incluses et asymptomatiques sont gardées si la deuxième molaire est conservée.

Le patient doit se soumettre à un assainissement parodontal. Le praticien doit effectuer un détartrage minutieux des dents conservées et motiver la personne à une hygiène bucco-dentaire stricte.

Les soins conservateurs sont ensuite réalisés sur toutes les dents qui le nécessitent, et les obturations défectueuses sont refaites.

Les couronnes et les bridges sont conservés à condition qu'ils donnent satisfaction. De même, on garde les implants ostéointégrés.

Une fois la remise en état bucco-dentaire réalisée, la réhabilitation prothétique est alors envisagée.

2.2.1.3 La motivation à l'hygiène

Pendant longtemps, les dents des patients qui bénéficiaient d'une radiothérapie de la sphère oro faciale étaient systématiquement extraites. En effet, les caries post-radiothérapiques apparaissaient sur toutes les dents, qu'elles soient dans les champs d'irradiation ou non.

Cette thérapeutique a été abandonnée depuis une trentaine d'années grâce à l'emploi de gels fluorés qui préviennent l'apparition de ces lésions carieuses. (11)

Néanmoins, pour que cette prophylaxie fluorée puisse être mise en place, il faut s'assurer de la coopération du patient. Il s'agit d'un paramètre difficile à évaluer et qui peut être lourd de conséquences lorsqu'il a été mal apprécié.

Le praticien dispose cependant d'éléments qui peuvent le renseigner sur l'importance que le patient accorde à ses dents. Il peut apprécier dans un premier temps son hygiène dentaire car la prophylaxie fluorée n'est pas suffisante pour éviter les contraintes d'un brossage quotidien.

En outre, si le patient n'est pas suivi régulièrement par un praticien, il y a peu de chances qu'il le soit par la suite. Or, une surveillance régulière de la cavité buccale par un chirurgien dentiste est indispensable.

Les méthodes d'hygiène buccale sont enseignées au patient. On montre la technique de brossage, comment utiliser le fil dentaire ou les brossettes inter dentaires. (9)

Le patient devra également porter quotidiennement des gouttières porte gel fluoré à raison de cinq minutes par jour jusqu'à la fin de sa vie. Ces gouttières sont fabriquées une fois les extractions réalisées. Des empreintes à l'alginate des arcades dentées sont prises à l'aide de porte-empreintes du commerce. Elles sont ensuite coulées en plâtre dur. Le praticien pourra alors confectionner la gouttière en plastique thermo-formé à l'aide d'une presse type Dufomat de Dreve et de plaques plastiques Drufosoft. La gouttière épouse parfaitement les formes de l'arcade dentaire. Elle doit suivre le contour du collet des dents à une distance de 2 mm. Le patient place dans ses gouttières le gel fluoré (fluogel®) et les porter 5 minutes. Il peut par exemple associer le port des gouttières à un acte quotidien tel que le rasage ou le maquillage. Ce traitement doit être poursuivi indéfiniment sous peine de développer des caries. (68)

Cet enseignement à l'hygiène est accompagné de recommandations alimentaires. Le patient devra éviter de grignoter entre les repas et de boire des boissons sucrées.

Le rôle de l'odontologiste est aussi d'inciter le patient à l'arrêt de la consommation de tabac et d'alcool. Il peut lui proposer une aide au sevrage et l'encourager dans cette voie au cours du temps. (11)



Fig. 7: gouttière en résine thermoformée chargée de gel de fluoration (d'après www.fmd.ulaval.ca)



Fig.8 : Gouttière de fluoruration mise en place dans le maxillaire supérieur (d'après www.fmd.ulaval.ca)

2.2.2 Suivi pendant la radiothérapie

Durant la radiothérapie, les efforts doivent être ciblés sur le maintien d'une hygiène bucco-dentaire stricte et le soulagement des symptômes de la mucite. Le praticien doit également insister sur la nécessité de l'arrêt de toute intoxication éthylo-tabagique.

Lorsque les soins d'hygiène bucco-dentaires sont trop douloureux, il est possible de procéder à un nettoyage méticuleux hebdomadaire au fauteuil à l'aide d'un anesthésique de surface. Des bains de bouche à base de chlorhexidine sont prescrits au patient. Ces soins permettent d'atténuer les effets de la mucite, qui est un motif de pause forcée de la radiothérapie. Or, l'arrêt du traitement même momentané peut mettre en péril le résultat thérapeutique escompté. Le patient doit également éviter les bains de bouche à base d'alcool, qui est irritant pour les muqueuses. (11)

Lorsque la barrière muqueuse est altérée, celle-ci ouvre la voie à des infections plus nombreuses. Il arrive fréquemment que le patient soit infecté par *candida albicans*. Le traitement de cette infection est l'amphotéricine B. (20)

2.2.3 Suivi après radiothérapie

2.2.3.1 Les visites de contrôle

Après une radiothérapie de la région cervico-faciale, le patient doit être revu à intervalles réguliers par son chirurgien dentiste traitant. Ces visites permettent de remotiver le patient à l'hygiène bucco-dentaire et au port de ses gouttières porte gel fluoré et de surveiller le développement de caries post-radiothérapiques. Ces séances jouent un rôle important dans le dépistage d'éventuelles récurrences tumorales.

Les visites doivent être relativement rapprochées la première année suivant le traitement. Elles seront ensuite espacées de trois à six mois selon les cas. Les patients les moins sérieux doivent être contrôlés plus souvent.

Le chirurgien dentiste doit, dans la mesure du possible, traiter les caries avant toute lésion pulpaire. Néanmoins, il doit veiller à ne pas employer de vasoconstricteur dans les territoires irradiés. Ces mesures de prévention permettent dans la plupart des cas d'éviter les extractions dentaires. (9)

2.2.3.2 Les extractions en territoire irradié

Lorsque les mesures de prévention n'ont pas été suivies, des avulsions dentaires peuvent être nécessaires.

Après une radiothérapie ayant utilisé des doses d'irradiation supérieures à 40 Gys, les extractions doivent être réalisées dans un service spécialisé même si le traitement remonte à plusieurs années. L'intervention doit être entreprise en collaboration avec le radiothérapeute. Le patient est placé systématiquement sous couverture antibiotique à large spectre. Il existe plusieurs protocoles : (16)

- L'oxygénothérapie hyperbare consiste à améliorer la diffusion d'oxygène en direction des tissus lésés par l'irradiation afin d'obtenir une meilleure cicatrisation. Les extractions doivent être le moins traumatisant possible et sont accompagnées de

plusieurs séances de caisson hyperbare (fig.7). Il existe différents protocoles. Le plus souvent, le patient subit 10 séances d'oxygénothérapie avant l'intervention puis 10 autres après. Cependant, ce procédé est très coûteux et donc difficile à mettre en œuvre.

- Les colles biologiques telles que Tissucol® permettent de protéger la plaie. Les berges de l'alvéole sont rapprochées, suturées puis collées à l'aide de d'une colle biologique.
- Le caillot sanguin peut être également recouvert par une gaze hémostatique qui est maintenue par des fils de suture.

Dans tous les cas, le patient doit impérativement arrêter la consommation d'alcool et de tabac qui est un facteur délétère pour la bonne cicatrisation du site. Les extractions peuvent être réalisées sous anesthésie locale, locorégionale ou encore sous anesthésie générale. La mise en place d'une sonde naso-gastrique permet à la plaie de ne pas être souillée. Le praticien doit être d'autant plus vigilant lorsqu'il opère à la mandibule car le risque d'ostéoradionécrose est beaucoup plus important du fait d'une moins bonne vascularisation.

Le protocole du centre Alexis Vautrin à Nancy consiste dans un premier temps, après s'être assuré de l'arrêt de la consommation d'alcool et de tabac par le patient, à placer celui-ci sous antibiothérapie à large spectre (Dalacine® ou Augmentin®). Les extractions non traumatisantes sont réalisées sous anesthésie générale, locale ou locorégionale. Les berges de la plaie sont maintenues à l'aide de colle biologique et de sutures. Le patient est alimenté par une sonde naso-gastrique.

Fig. 9: caisson hyperbare (d'après www.fmd.ulaval.ca)



2.2.3.3 La xérostomie

Les patients souffrent de xérostomie après la radiothérapie. Cette affection détériore leur qualité de vie en plus des conséquences néfastes sur le milieu oral. Une fois installée, son traitement est fondé essentiellement sur l'utilisation de :

- de sialogogues mécaniques ou chimiques tels que la pilocarpine si la xérostomie est modérée.
- de substituts salivaires sous forme de sprays (aequasyl®, artisial®) ou de salive artificielle si la xérostomie est sévère. La salive artificielle sert de liquide de remplissage d'une prothèse réservoir. Ce système permet en théorie de délivrer du liquide et d'humidifier la bouche du patient, mais les résultats sont peu satisfaisants.

Le patient devra donc continuellement s'hydrater en gardant une petite bouteille d'eau à sa portée ou un pulvérisateur d'eau intrabuccal. Le praticien pourra également donner quelques recommandations simples au patient comme prendre régulièrement une cuillère à

café d'huile, ce qui permet de lubrifier la muqueuse temporairement. Le jus de citron a la propriété de stimuler la sécrétion salivaire résiduelle lorsque cela est possible. (9, 20)

Il arrive que le patient récupère une partie de sa fonction salivaire, mais ce n'est malheureusement pas la majorité des cas.

2.2.3.4 Le trismus

Le trismus est un autre effet tardif de la radiothérapie puisqu'il intervient 3 à 6 mois après celle-ci. La limitation d'ouverture buccale qui en résulte peut entraver l'alimentation du patient et le port de ses gouttières de fluoration. Le praticien est gêné pour la réalisation des soins dentaires et pour la réhabilitation prothétique. C'est pourquoi, il est important de ne pas négliger la rééducation musculaire et la kinésithérapie qui permettent de limiter la perte d'ouverture buccale. (11)

3. LA SALIVE

La salive est un liquide incolore, filant, insipide, destiné à humecter les aliments et à commencer la digestion des glucides. Elle provient des sécrétions des glandes exocrines annexées à la cavité buccale. La salive totale ou mixte est le mélange de toutes les sécrétions des glandes salivaires (25).

3.1 Physiologie des glandes salivaires

3.1.1 Rappels anatomiques

Les glandes salivaires principales sont représentées par trois paires de glandes majeures : parotide, sous-maxillaire et sublinguale. Les glandes mineures sont éparpillées dans la muqueuse orale et sur la langue (fig.8). (1)

3.1.1.1 La glande parotide

La parotide est située sous l'oreille, à la partie postéro externe des espaces parapharyngés ou de l'espace prestylien. Elle est la plus volumineuse des glandes. Son canal excréteur est le canal de Sténon. Il s'abouche dans la cavité buccale par un orifice ponctiforme ouvert en regard du collet de la deuxième molaire supérieure. (23)

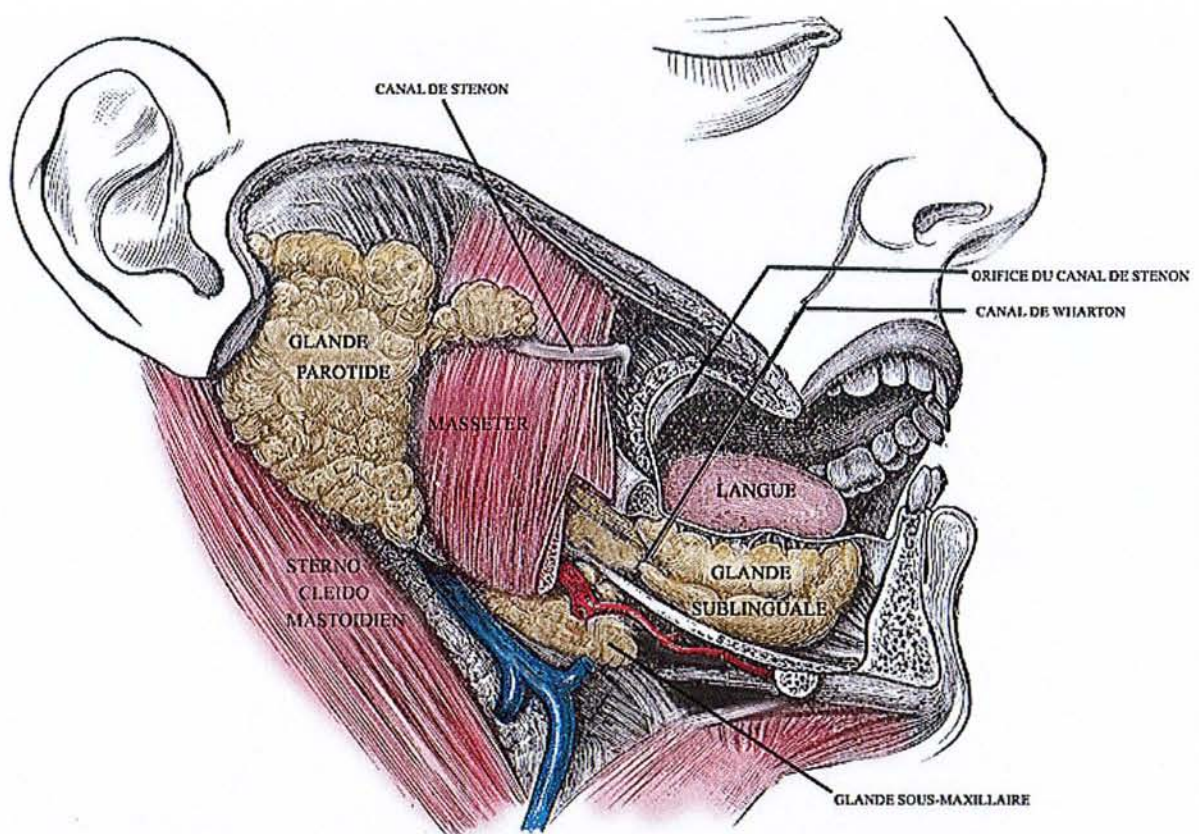
3.1.1.2 La glande sous-maxillaire

La glande sous-maxillaire est située dans l'étage sous-mylo-hyoidien du plancher de bouche. Elle occupe la région sous-maxillaire ou sus-hyoidienne latérale. Le canal excréteur de la glande est le canal de Wharton qui provient de la réunion de plusieurs canaux collecteurs. Il se termine au niveau de la base du frein de la langue en s'ouvrant dans la cavité buccale par l'ostium. (23)

3.1.1.3 La glande sub-linguale

Elle est située dans la partie antérieure du plancher de bouche, sous la muqueuse buccale. Elle s'abouche par deux canaux excréteurs, les canaux de Rivinus et de Walther. (23)

Fig. 8: anatomie des glandes salivaires (d'après www.medecine-et-santé.com)



3.1.2 Rappels histologiques et physiologiques

Les glandes salivaires sont des glandes exocrines séreuses, muqueuses ou mixtes. Elles sont constituées d'une ou plusieurs unités anatomiques sécrétrices ; l'acinus, d'un système canalaire, et d'un tissu de soutien représenté par les cellules myoépithéliales et le tissu conjonctif. (24)

L'acinus est constitué par des cellules acineuses séreuses et/ou des cellules muqueuses délimitant une lumière centrale. Ces cellules sont responsables de la fabrication d'un liquide isotonique appelé salive primaire. Ce liquide est ensuite excrété dans la lumière acinaire. (29)

Le système canalaire part des acinis pour déboucher dans la cavité buccale. Lors du passage de la salive primaire dans le système canalaire, certains composants seront résorbés et d'autres ajoutés pour donner la salive définitive hypotonique.

Les glandes salivaires et la salive qu'elles produisent ne sont pas identiques. La parotide est une glande dite séreuse, elle sécrète une salive fluide. Les glandes sous-maxillaires, sublinguales et la plupart des glandes accessoires sont mixtes ; séreuses et muqueuses.

La salive parotidienne est particulièrement abondante après une stimulation mécanique. Elle est appelée salive de mastication alors que les salives sous-maxillaire et sublinguale sont dites salives de gustation, car elles sont obtenues préférentiellement après stimulation gustative. (24)

Un individu sécrète normalement 0,7 à 1 litre de salive par jour. Le système nerveux autonome est responsable de la régulation du débit de la salive et la concentration des composants salivaires.

En dehors des repas, la salive est continuellement sécrétée et déglutie. Pendant les repas, la sécrétion salivaire augmente et participe à la mastication et la déglutition des aliments. A l'inverse, la sécrétion est quasiment nulle pendant le sommeil. (71)

3.2 Propriétés de la salive

3.2.1 Composition biochimique (24, 29, 43, 71)

La salive est une sécrétion contenant de l'eau, de la mucine, des protéines, des sels, et des enzymes, dont l'amylase. D'un point de vue biochimique, la salive constitue un milieu extrêmement complexe qui joue un rôle capital en physiopathologie buccale. Un grand nombre de molécules biologiques y a pu être identifié. Schématiquement, on peut définir dans la sécrétion salivaire : (29)

- Des constituants inorganiques anioniques et cationiques dont les plus importants sont les ions bicarbonates et phosphates.
- Des constituants organiques qui confèrent à la salive de nombreuses propriétés.

3.2.1.1 L'eau

L'eau est le constituant pondéral principal (990 mL/L).

3.2.1.2 Les constituants inorganiques

La salive contient des constituants ioniques (Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$) dont la composition varie pendant la sécrétion. Certains de ces ions permettent de réguler le pH du milieu buccal.

Le phosphore représente environ 10% des composés organiques. Il est présent sous forme de pyrophosphate et de phosphate de calcium, mais on le trouve surtout associé à une protéine de faible poids moléculaire.

Les phosphates de calcium jouent un rôle important dans la régulation du pH salivaire. Les concentrations relatives en calcium et phosphate sont en rapport avec le pH du milieu.

La salive mixte est également constituée de sodium, de potassium, de chlore, de bicarbonates, de fluor et de thiocyanates, qui ont une action bactériostatique.

Les concentrations de Na et HCO_3^- augmente avec le débit sécrétoire. Lorsque la vitesse d'émission augmente, la concentration en Na se rapproche de celle du plasma sanguin et le flux de HCO_3^- accroît l'alcalinité de la salive.

A l'inverse, le flux des chlorures est moins variable et la concentration en potassium est environ constante. (24)

3.2.1.3 Les constituants organiques

3.2.1.3.1 Les protéines salivaires

Elles représentent la majeure partie des constituants organiques. On distingue les protéines extrinsèques issues du sérum et les protéines intrinsèques, synthétisées par la glande. (24)

3.2.1.3.2 Les protéines extrinsèques

On trouve parmi les protéines extrinsèques les immunoglobulines, dont le rôle dans le contrôle immunologique des bactéries est bien connu. L'IgA monomérique, qui est la plus représentée, dérive du sérum et gagne la cavité buccale de façon transépithéliale ou par le fluide gingival. On trouve également des IgG et des IgM.

Des albumines issues du sérum sont également détectées dans la salive. (24)

3.2.1.3.3 Les protéines intrinsèques

3.2.1.3.3.1 Les enzymes salivaires

L'amylase salivaire ou ptyaline est une enzyme digestive. C'est une hydrolase qui est sécrétée par les cellules séreuses des glandes salivaires. Elle tapisse les tissus buccaux, lie les streptocoques entre eux et possède une activité antibactérienne.

On rencontre également dans la salive d'autres hydrolases comme la glucosidase, la maltase, la neuraminidase, le lysozyme, l'estérase, la cholinestérase, la lipase, ou encore la phosphatase.

Le lysozyme a une action antibactérienne importante dans la salive. Il attaque la paroi de certaines bactéries, entraînant leur mort et leur désintégration.

Les oxydo-réductases interviennent dans le processus d'oxydo-réduction. Parmi elles, on trouve la lactopéroxydase qui inhibe la croissance des bactéries du genre lactobacille.

On trouve également dans la salive des transférases, des lyases et de la kallikréine qui joue un rôle dans la vasodilatation des glandes salivaires. (24)

3.2.1.3.3.2 Les mucoprotéines et glycoprotéines

Les mucines confèrent à la salive son caractère visqueux et facilite l'ingestion du bol alimentaire en l'imprégnant. Les mucines sont capables d'interagir avec des micro-organismes en les agglutinant. Elles participent à la protection des muqueuses buccales et favorisent l'adhésion et la prolifération de certaines bactéries. (24)

3.2.1.3.3.3 Les facteurs de croissance

Il existe des substances à activité humorale dans les glandes salivaires. Il s'agit d'un facteur de croissance nerveuse, NGF (nerve growth factor), d'un facteur de croissance épithéliale, EGF (epithelial growth factor), et de la parotine qui aurait une action respectivement sur la formation des structures nerveuses, épithéliales et calcifiées. (24, 27)

3.2.1.3.3.4 Les IgA sécrétoires

Les glandes salivaires font partie d'un système sécrétoire disséminé au niveau duquel la production d'anticorps peut être induite après stimulation du système lymphoïde annexé au

système digestif. Les IgA synthétisées par les glandes salivaires se présentent sous forme dimérique et polymérique. (24)

3.2.1.3.3.5 Les protéines riches en proline

On retrouve des protéines acides et phosphoprotéines, dont le rôle est d'assurer le maintien de l'intégrité de la surface de l'émail, ainsi que des protéines basiques. (24)

3.2.1.3.4 Composés azotés

Les concentrations d'urée sanguine et salivaire sont très proches, presumant une diffusion directe du sang à la salive. (24)

3.2.1.3.5 Glucides libres

Les glucides libres sont présents sous forme de traces. (24)

3.2.1.3.6 Vitamines

Les teneurs en vitamines sont variables car elles proviennent soit de l'alimentation, soit de la biosynthèse effectuée par certaines bactéries. (24)

3.2.1.3.7 Lipides

Les lipides de la salive peuvent jouer un rôle important en se liant à des protéines salivaires. (24)

3.2.1.3.8 Nucléotides libres

On trouve de l'adénosine triphosphate (adénosine monophosphate cyclique et guanosine monophosphate cyclique).

Ces nucléotides favoriseraient la sécrétion d'amylase dans la salive. (24)

3.2.1.3.9 Autres constituants organiques

On détecte dans la salive des lactates, citrates, pyruvates notamment dans les sécrétions parotidiennes. (24)

3.2.1.4 Les constituants gazeux

En solution, la salive contient de l'azote, de l'oxygène et du gaz carbonique. Ce dernier intervient dans la formation des ions bicarbonates nécessaires au maintien du système tampon. (29)

3.2.2 Caractéristiques physico-chimiques de la salive

3.2.2.1 Le pouvoir tampon

Le pH salivaire exprime l'acidité ou l'alcalinité de la salive et varie en fonction de l'âge, du lieu de prélèvement buccal et de l'alimentation. Le pH physiologique d'un individu varie dans une gamme normale comprise entre 5,6 et 7 avec une valeur moyenne d'environ 6,7.

La salive possède un pouvoir tampon qui est essentiellement assuré par les phosphates, les bicarbonates et certaines protéines. La plaque dentaire présente aussi un pouvoir tampon dû aux synthèses bactériennes.

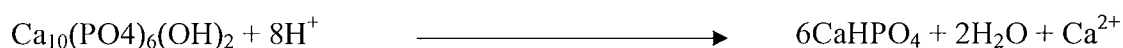
Le pouvoir tampon protège les tissus buccaux en s'opposant aux conditions spécifiques de pH requises pour la croissance de certaines bactéries cariogènes et en conditionnant l'efficacité de certains agents antibactériens salivaires.

Lorsque le pH salivaire se situe dans les limites normales, la salive est sursaturée en phosphates de calcium. Ces derniers jouent un rôle important dans la formation de caries dentaires et de calculs salivaires. (43)

Les phosphates sont présents sous différentes formes. La nature de la forme dominante est déterminée par les concentrations relatives en calcium et phosphore et par le pH du milieu. Dans des conditions acides, le phosphate de calcium solide est transformé en une nouvelle phase plus soluble avec un rapport Ca/P plus bas. Les ions Ca^{2+} seront alors libérés dans le milieu.

Inversement, des conditions basiques vont entraîner la formation d'une phase différente avec une solubilité plus faible et un rapport Ca/P plus élevé. Les ions PO_4^- sont alors libérés. Le pH régule à la fois la nature de la phase solide et ses propriétés biologiques.

Lorsque le pH tend à diminuer, l'hydroxyapatite réagit avec des protons pour donner un sel phosphocalcique dont le rapport Ca/P est faible. On a la réaction :



CaHPO_4 va se dissoudre ensuite très lentement et devenir soluble.



Le pouvoir tampon de la salive est aussi grandement influencé par les bicarbonates. Leur taux augmente avec le débit salivaire. Les glandes salivaires sécrètent du gaz carbonique qui diminue le pH et augmente le pouvoir tampon.

Dans la salive stimulée, la moitié du CO₂ est sous forme de bicarbonates. Le CO₂ étant plus concentré dans la salive que dans l'air, il tend à s'échapper, ce qui entraîne une modification du pH. (29)

3.2.2.2 La viscosité

La viscosité salivaire est le reflet du taux de mucines. Elle varie selon la localisation du prélèvement et le débit salivaire. Les valeurs physiologiques sont comprises entre 1,10 et 1,32 poises. (29)

3.2.2.3 Le potentiel d'oxydoréduction

Le potentiel d'oxydo-réduction varie considérablement d'une personne à l'autre, mais est relativement stable chez un même individu. Il augmente quand le pH diminue et inversement. Un potentiel oxydatif élevé favorise les germes anaérobies. Inversement, le potentiel d'oxydo-réduction est bas lorsque la flore bactérienne buccale de l'individu contient un grand nombre de germes anaérobies. (29)

3.2.2.4 La clairance

La clairance est par définition un volume virtuel débarrassé d'une substance pendant un temps donné. La salive présente par son flux la capacité de diluer, détacher, agglutiner et éliminer vers le tube digestif, une grande partie des agresseurs de la cavité buccale. (29)

3.2.3 Rôle de la salive

3.2.3.1 Fonction digestive

Les enzymes salivaires participent au premier stade de la digestion.

L'amylase ou ptyaline est une isoenzyme salivaire du groupe des hydrolases. Son action est optimale à pH 7. Elle débute la digestion des polysides de l'alimentation.

L'amylase continue d'exercer son activité dans l'estomac et sa destruction par l'acidité gastrique se fait progressivement.

La salive a également une fonction mécanique qui nous permet de goûter, de mastiquer et de déglutir les aliments solides. Elle agit comme un solvant et un lubrifiant dont les qualités physiques sont améliorées par la présence de mucine. (29)

3.2.3.2 Fonction de protection

La salive est la cause essentielle de la très grande résistance de la cavité buccale à l'infection. Son action est aussi bien physique, car elle permet l'auto-nettoyage de la cavité buccale et l'humidification des muqueuses, qu'antibactérienne par la présence de lysozyme, de thiocyanate et d'immunoglobulines.

Le rôle de la salive est primordial dans la défense de l'hôte vis-à-vis de l'atteinte carieuse.

Nous avons vu précédemment que le pouvoir tampon de la salive était assuré par la présence de carbonates, de phosphates et de certaines protéines contenues dans ce fluide. Il lutte contre les baisses de pH occasionnées par les substances acides apportées par l'alimentation ou produites lors du métabolisme bactérien.

Le flux salivaire est un facteur important à évaluer, car de lui dépendent tous les autres facteurs salivaires qui participent à la protection des tissus buccaux. Il existe d'ailleurs une corrélation entre le nombre de caries dentaires et le flux salivaire. Il y aurait chez chaque individu une limite seuil en dessous de laquelle on note une augmentation de l'activité carieuse. Les constantes normales du flux salivaire sont comprises entre 1 et 2 ml/min pour un flux stimulé et entre 0,25 et 0,35 ml/min pour un flux non stimulé.

La salive constitue un réservoir d'ions comme le calcium, les phosphates ou le fluor qui permettent la reminéralisation de l'émail.

Les substances antibactériennes contenues dans la salive ont un rôle de contrôle de la prolifération bactérienne. On y retrouve entre autre des IgA sécrétoires, des IgG, du lysozyme, de la lactoferrine et des systèmes peroxydases. (43)

Mécanisme d'action de l'IgA salivaire (13)

L'IgA a la propriété de pouvoir former une pellicule protectrice à la surface de l'épithélium qui est tapissée de glycoprotéines, pouvant elles-mêmes capturer les microorganismes. L'IgA salivaire peut se complexer à ces molécules, fournissant à ce phénomène de « trapping » une spécificité. L'agglutination des bactéries par l'IgA sécrétoire tendrait ainsi à s'opposer à l'invasion bactérienne. Les agrégats composés de mucines et de bactéries pourraient ensuite être éliminés de la cavité buccale pendant la déglutition.

3.2.3.3 Fonction de cicatrisation

La salive contient des facteurs de croissance qui interviennent dans la cicatrisation des tissus. On trouve notamment EGF, NGF et un autre facteur de croissance qui a été récemment identifié dans la salive, que l'on détecte dans la salive de nombreux animaux et qui facilite la guérison des blessures léchées. (27)

3.3 Conséquences de l'irradiation des glandes salivaires

3.3.1 Symptômes cliniques de la xérostomie

Le patient qui a subi une irradiation des glandes salivaires va ressentir un certain nombre de symptômes qui traduisent la sévérité de la xérostomie. Il peut se plaindre de: (34)

- Dysphagie
- Dysgueusie
- Sensation de brûlures chroniques

- D'halitose
- D'une intolérance à la nourriture épicée.
- Dysphonie

La qualité de vie de cette personne peut en être grandement affectée.

A l'examen endobuccal :

- La muqueuse est inflammatoire, rouge, sèche, recouverte d'un enduit mousseux jaunâtre, mucoïde. Elle est fragile et cicatrise lentement.
- La langue est pâteuse, saburrale, parfois lisse et dépapillée, creusée de sillons et ressemblant à une langue scrotale.
- On peut observer une tuméfaction des glandes salivaires majeures.
- Le patient peut développer des poly caries
- La salive est écumeuse, blanche

Examens qualitatifs et quantitatifs de la salive (34)

Le signe du miroir

Ce test consiste à appliquer un miroir de bouche contre la muqueuse de la joue, de la langue. Il « colle » contre celles-ci, en raison de la forte adhérence au verre du mucus déshydraté.

La technique du morceau de sucre

Le test du morceau de sucre permet de déterminer la sévérité de l'hyposialie. Un morceau de sucre n°4 est posé dans la région sublinguale. Le patient ferme la bouche et repose la langue sur le morceau de sucre. Lorsque le patient présente une hyposialie, il ne fond que très lentement : 7 à 10 minutes dans les insuffisances légères de sécrétion, 20 à 30 minutes dans cas les plus sévères, au lieu de 3 minutes dans la normalité.

La technique de collection de la salive totale non stimulée

Cet examen consiste à récupérer la salive sécrétée par toutes les glandes salivaires sans aucune stimulation. On demande au patient de récupérer sa salive dans un tube à essai gradué surmonté d'un entonnoir. Le patient doit être reposé et avoir avalé sa salive préexistante en bouche avant l'examen. Le haut du corps est en avant et sa tête penchée en bas et en avant. Il laisse couler sa salive le long de sa lèvre inférieure dans le tube à essai pendant cinq minutes chronométrées. A la fin du test, le patient crache la salive en bouche dans l'éprouvette et le débit salivaire par minute est calculé. La valeur normale est de 0,25 à 0,35 ml/min. Une valeur inférieure à 0,1 ml/min est considérée comme très basse.

Il faut préciser que la quantité de salive sécrétée par un individu en bonne santé est de 0,7 à 1 litre de salive par jour.

La technique de collection de la salive totale stimulée

La salive stimulée est obtenue par mastication d'un bloc de paraffine. Le patient mâche la gomme de paraffine jusqu'à ce qu'elle ramollisse. Il crache ensuite la salive qui lui reste en bouche afin de pouvoir commencer la procédure. Il doit ensuite mastiquer la paraffine pendant 5 minutes des deux côtés de l'arcade en alternant 10 mastications de chaque côté. Il crache ensuite la salive collectée dans un tube à essai gradué. La valeur normale est de 1 à 3 ml/min. Si la valeur est inférieure à 0,7 ml/min, elle est considérée comme très basse.

3.3.2 Pathogenèse des dysfonctions salivaires induites par la radiothérapie

La radiothérapie occupe une place importante dans le traitement des cancers des voies aéro-digestives supérieures bien que ses effets secondaires peuvent altérer profondément la qualité de vie des patients traités. Les troubles de la salivation seraient dus à l'extrême radiosensibilité des cellules acineuses des glandes salivaires (4).

Il existe plusieurs hypothèses expliquant le mécanisme des dommages causés, dans les premières phases de la radiothérapie. La première hypothèse, suggérée en 1984, se base sur la présence de granules de sécrétion dans les cellules excrétrices. En effet, les cellules excrétrices salivaires subiraient une perméabilisation de leur membrane plasmique, induite par une peroxydation des lipides. Ces changements dans la structure membranaire conduisent à la libération des enzymes protéolytiques contenues dans les granules. La cellule serait alors lysée avant de disparaître (4).

La seconde hypothèse, et la plus probable, serait que les radiations ionisantes agiraient sur les récepteurs muscariniques des cellules acineuses. Ces récepteurs sont responsables de la transmission du signal qui commande l'excrétion liquidienne. Il n'y aurait donc pas de lyse cellulaire significative dans les premiers temps de la radiothérapie pouvant expliquer la diminution du flux salivaire. Selon les études cliniques utilisant la scintigraphie salivaire, il apparaît que le piégeage du Tc-pertechnetate n'est pas affecté alors que l'excrétion salivaire est sévèrement réduite dans les premiers temps de la radiothérapie. Ces résultats semblent donc indiquer que le volume tissulaire est intact à ce stade du traitement, ce qui confirme la seconde hypothèse (4, 59).

Après les premières semaines de radiothérapie, les patients voient la viscosité de leur salive augmenter en raison de la diminution de la quantité d'eau sécrétée

A la fin de la première semaine de traitement (soit après que 10 grays aient été délivrés), la production salivaire diminue de 60 à 90% (21, 42).

Dans un deuxième temps, on observe au niveau du parenchyme glandulaire une diminution de l'activité mitotique qui s'explique par les dommages causés par les radiations sur l'ADN.

Après une forte dose d'irradiation (plus de 60 grays), les changements dégénératifs progressent, la glande s'atrophie et devient fibrotique. Il en résulte une perte du stock des cellules acineuses qui n'est pas réapprovisionné par les cellules de la couche basale, dont un grand nombre a subi une apoptose.

Par ailleurs, le patient peut récupérer totalement sa fonction à condition que la dose totale reçue par les glandes salivaires soit inférieure à 26 grays (4, 42).

Il existe donc deux mécanismes bien distincts pour expliquer les troubles de la fonction salivaire après irradiation. En premier lieu, ces dysfonctions seraient dues à un défaut de fonction des cellules acineuses, puis plus tard, à une perte du stock des cellules acineuses (4).

3.3.3 Effets de la radiothérapie sur la composition salivaire

3.3.3.1 Effets sur le pH salivaire

Avant irradiation, les patients souffrant d'un cancer des voies aéro-digestives supérieures présentent un pH significativement inférieur au reste de la population. Ces observations peuvent s'expliquer par le fait que la majorité de ces patients ont une intoxication alcoolique tabagique de longue date. Si le tabac ne semble pas avoir d'incidence sur le pH salivaire, l'alcool entraîne une acidification des tissus buccaux (29, 30).

La denture joue également un rôle important puisque le pH moyen des sujets dentés est supérieur à celui des édentés avant radiothérapie. Les résultats s'inversent en cours de radiothérapie et le pH des sujets dentés devient inférieur à celui des sujets édentés avant de redevenir supérieur en fin de traitement (31).

Le pH ne diminue pas significativement immédiatement après la radiothérapie mais lorsque l'on relève le pH salivaire moyen sur un groupe de patients traités par radiothérapie six mois auparavant, on observe une diminution de celui-ci (30, 31).

3.3.3.2 Effets sur la sécrétion d'immunoglobuline A salivaire

On sait que la fréquence d'infection respiratoire augmente après une radiothérapie de la sphère oro-faciale. Les mécanismes de contrôles immunologiques sont responsables de l'équilibre de la flore bactérienne de notre système respiratoire supérieur. Le système immunitaire local est constitué d'IgA et d'IgG qui dérive du sérum. L'IgA salivaire est un composant majeur du système de défense muqueux de cette région (14).

Le traitement par radiothérapie de la sphère oro-faciale s'accompagne de profondes modifications de la composition de la flore microbienne orale, bien que la concentration bactérienne totale reste inchangée. On observe les variations les plus sensibles concernant les streptocoques virulents, les candidas ou les staphylocoques virulents (3).

La mesure du taux d'IgAs est basée sur le principe du dosage anticorps-antigène. Les études montrent que des doses croissantes de radiations altèrent la concentration salivaire d'IgAs. Les modifications de la microflore orale pourraient être en partie liées aux variations de concentration en IgAs. L'irradiation des glandes salivaires a pour conséquence de détruire le système immunitaire local ainsi que la barrière muqueuse, affaiblie par la mucite. Ces changements au niveau de la microflore bactérienne interfèrent avec l'équilibre entre les streptocoques saprophytes et les bactéries pathogènes, ce qui a pour effet d'augmenter la susceptibilité aux infections (64).

La diminution du taux d'IgAs est cependant insuffisante pour expliquer à elle seule la prévalence carieuse observée chez ce type de patient, mais renforce l'effet cariogène de l'hyposialie (64).

On observe par ailleurs que les patients qui pratiquent une fluorothérapie régulière ont un taux d'IgA plus élevé que chez les autres (68).

3.3.3.3 Effets sur la composition protéique salivaire

3.3.3.3.1 La lactoferrine

La lactoferrine est sécrétée par les cellules canalaire des acinis séreux. Elle a une grande affinité pour le fer qui est un facteur nutritif important pour certaines espèces microbiennes. Elle provoque l'arrêt de la croissance de ces micro-organismes. Lorsqu'elle n'est pas fixée au fer, elle possède une activité bactériostatique sur les streptocoques, les staphylocoques et les bactéries Gram négatif et une action fongicide sur *Candida albicans* notamment. Elle a d'autre part une activité bactéricide sur *Streptocoque mutans*, dont la capacité d'adhésion à l'hydroxyapatite et la synthèse d'acides lactiques sont inhibées (24).

La concentration en lactoferrine dosée chez les patients ayant subi une radiothérapie des voies aéro-digestives supérieures six mois plus tôt, est bien supérieure aux concentrations retrouvées sur des personnes saines (environ 24 fois plus importante selon ALMSTAHL et WILKTROM, 2001) (3).

Ces résultats sont dus à l'exsudat inflammatoire consécutif aux radiations et qui suinte au niveau des muqueuses. Ce taux diminue ensuite graduellement dans le temps.

Ces sujets possèdent en outre un pH significativement plus bas que la moyenne. Les expériences in vitro montrent que les fonctions bactéricide et bactériostatique de cette protéine sont perturbées par un pH acide, mais de façon différente selon les bactéries (2, 30). On note par exemple une nette diminution du taux de *Prevotella intermedia* et *Prevotella nigrescens* du fait de leur grande dépendance au fer, nécessaire à leur croissance (3).

L'action bactéricide de la lactoferrine est également efficace sur *Fusobacterium nucleatum* dont la concentration diminue suite au traitement de radiothérapie. Il semble néanmoins que son efficacité antifongique est réduite en milieu acide, comme en témoigne les taux élevés de *Candida albicans* relevés chez ces mêmes patients (2).

La lactoferrine n'a pas non plus d'effet sur les *Lactobacillus* dont la concentration augmente plus ou moins significativement selon les études (3, 12, 31, 48, 65). Le fait qu'un pH acide contribue favorablement à leur croissance et à celle de *Candida albicans* est un facteur important qui permet d'expliquer les résultats expérimentaux de ces études (3).

3.3.3.3.2 Le lysozyme

Le lysozyme a une activité antibactérienne importante dans la salive. Il n'a pas été mis en évidence une modification significative du taux de lysozyme au cours de la radiothérapie mais il existe une corrélation inverse statistiquement significative entre le lysozyme et le pH salivaire (30).

3.3.3.3.3 L'amylase

L'amylase est une des principales enzymes de la salive. C'est un bon indicateur de l'activité des cellules séreuses. Sa concentration diminue après une radiothérapie cervico-faciale et atteste des dommages causés au niveau des glandes salivaires. Il existerait une corrélation entre les lactobacilles dont le nombre augmente et l'activité amylase qui diminue après le traitement (2).

3.3.3.3.4 Les mucines

On observe une diminution de la concentration des mucines après une radiothérapie de la sphère oro-faciale. Des analyses microbiologiques montrent un lien entre le taux de mucines salivaires et plusieurs espèces microbiennes (2).

3.3.3.3.5 Epidermal growth factor

Epidermal growth factor (EGF) est présent dans les fluides biologiques, y compris la salive, et joue un rôle important dans la protection de la barrière épithéliale et dans la cicatrisation des muqueuses. Il existe un lien entre le taux d'EGF mesuré et la sévérité de la mucite consécutive à une radiothérapie de la sphère oro-faciale. Plus la concentration d'EGF mesurée avant et pendant le traitement est faible, plus la mucite est sévère (27).

3.3.3.4 Effets sur la flore microbiologique buccale

Les études montrent des modifications de la flore buccale bactérienne sur le long terme, même si le nombre total de micro-organismes n'est pas modifié. Les variations les plus significatives concernent surtout les *Lactobacillus* et les *Candida albicans*, dont la proportion augmente de façon importante après le traitement. D'après l'étude de FOIS et coll. (1991) (31), l'augmentation de lactobacilles n'est pas significative. En revanche, les travaux de LLORY et coll. (1972) (48) et TONG et coll. (2003) (65) montrent une évolution significative de leur proportion. Cette augmentation peut s'expliquer par le fait que ces

micro-organismes se développent favorablement en milieu acide. Or, l'irradiation des glandes salivaires tendrait à diminuer le pH buccal (3, 12, 30, 32).

La proportion de streptocoques mutans mesurée chez les sujets ayant eu une irradiation des glandes salivaires est un peu plus importante que celle détectée chez les sujets sains. En comparaison avec les résultats trouvés chez des sujets souffrant d'hyposalivation d'origine différente, on trouve dans cette population la plus forte proportion de sujets chez qui on ne détecte pas de streptocoques mutans (29% selon ALMSTAHL et WILKTROM, 2003) (3). Cette différence peut s'expliquer notamment par le fait que la population de patients souffrant d'une tumeur de la sphère oro-faciale est majoritairement masculine et que les hommes sont moins souvent colonisés par les streptocoques mutans que les femmes (72).

Par ailleurs, selon TONG et coll., 2003, on ne détecte pas l'apparition de nouveau génotype du groupe des streptocoques mutans. Seulement quelques génotypes indigènes deviennent indétectables. Ces résultats sont probablement dus aux changements de conditions environnementales. L'hypothèse selon laquelle des conditions de stress pourraient réduire la diversité clonale se vérifie dans ce cas (65).

Il existe une association positive entre l'activité carieuse et la capacité des streptocoques mutans à produire des acides, à proliférer et à survivre en milieu acide. En effet, après la radiothérapie, l'environnement buccal devient plus acide, ce qui favorise le développement de ces bactéries. Dans le même temps, les productions acides des microorganismes aciduriques vont entretenir un pH faible (3, 72).

Enfin, la fréquence et le nombre des staphylocoques aureus et entérocoques augmentent significativement dans cette population (3).

4. EVALUATION DU RISQUE

CARIEUX

4.1 Le processus carieux

4.1.1 Définition

La carie dentaire est un processus infectieux qui entraîne une lésion dystrophique des tissus minéralisés. Elle résulte de dissolutions acides d'origine externe des tissus minéralisés de la dent. (25)

La carie se développe sur quatre sites :

- Les sillons et faces proximales des dents
- Les surfaces lisses de l'émail
- Les zones cervicales au niveau de la jonction émail –cément

En résumé, la carie dentaire est une maladie multifactorielle qui résulte de l'interaction entre trois principaux facteurs :

- L'hôte par l'intermédiaire de la salive et des dents
- La présence de micro-organismes cariogènes
- L'ingestion importante et fréquente de carbohydrates fermentescibles.

La persistance de ces conditions pendant une durée suffisante entraîne le développement de la carie dentaire.(35)

4.1.2 Systèmes mis en jeu

Le développement d'une lésion carieuse sur un site dentaire résulte directement de réactions de dissolution et précipitation qui s'établissent entre les phases minérales des tissus durs, et les phases liquides qui baignent ces tissus. La cinétique de ces processus est directement dépendante de la composition des phases liquides et solides en présence.

Si la production acide se répète fréquemment, la lésion progresse et induit la formation d'une cavité. Au contraire, si les ingestions de sucre sont ralenties par le contrôle alimentaire, ou bien si la production d'acide est neutralisée par l'élimination de plaque, de nouveaux phosphates de calcium peuvent reprécipiter in situ (20).

Par ailleurs, des systèmes tampon, comme les bicarbonates, présents dans la salive et le fluide gingival, diffusent dans la plaque et neutralisent les acides présents. Ils arrêtent ainsi la fuite de calcium et de phosphates jusqu'à la prochaine production acide (24, 29).

La nature du biofilm bactérien qui constitue la plaque dentaire a été largement étudiée. On sait qu'il a une grande influence sur le développement des lésions carieuses.

4.1.2.1 La plaque dentaire

La plaque dentaire est une accumulation hétérogène, adhérente à la surface des dents ou située dans l'espace gingivo-dentaire. Elle est composée d'une communauté microbienne riche en bactéries aérobies et anaérobies, enrobées dans une matrice intercellulaire de polymères d'origine microbienne et salivaire. Elle constitue un dépôt mou, adhérent, terne et de couleur blanc jaunâtre, à la surface des dents et des matériaux dentaires. Cette plaque est présente chez tous les sujets, si sa formation n'est pas contrecarrée par des mesures d'hygiène bucco-dentaire (20).

Certaines des bactéries contenues au sein de cette plaque dentaire sont acidogéniques, c'est à dire qu'elles produisent de l'acide à partir de carbohydrates métabolisés. Ces carbohydrates proviennent de l'alimentation du sujet. Ces acides diffusent au travers de la plaque et peuvent dissoudre les phosphates de calcium qui constituent la phase minérale de l'émail, de la dentine ou du cément (8, 20).

On reconnaît deux principaux types de plaques qui correspondent à un environnement écologique radicalement différent: la plaque supra-gingivale baignée par la salive et la plaque sous-gingivale baignée par le fluide du sillon gingival.

La plaque est constituée d'une fraction cellulaire représentée par les bactéries et d'une fraction acellulaire qui correspond à la matrice.

4.1.2.1.1 La fraction cellulaire

Dans la plaque jeune, on n'observe que quelques couches cellulaires de bactéries, dont la diversité est limitée. La plaque âgée est constituée de multiples couches bactériennes disposées irrégulièrement, où s'observe une grande diversité morphologique. (57)

La cavité buccale possède des déterminants écologiques qui lui sont propres. Ces paramètres peuvent être des facteurs physiques, nutritionnels ou d'inhibition bactérienne. Ils exercent une pression sélective et permettent d'expliquer pourquoi telle bactérie plutôt qu'une autre se développe au sein de la cavité buccale.

Les produits de fermentation de certaines bactéries de la plaque provoquent la dissolution des minéraux dentaires. L'acide lactique est fréquemment cité comme principal agent causal des caries. On retrouve également d'autres acides organiques comme l'acide acétique, l'acide propionique ou l'acide formique qui peuvent contribuer à la formation de caries (17).

Les bactéries cariogènes chez l'homme

Bien que streptocoque mutans soit incriminé au premier chef dans la carie de l'émail, on reconnaît actuellement que trois genres bactériens sont pathogènes pour les tissus durs de la dent : *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Actinomyces*. Les streptocoques jouent un rôle essentiel dans l'initiation de la lésion carieuse, alors que les lactobacilles sont plutôt responsables de l'évolution des lésions (8, 13).

En effet, après cavitation, une sélection bactérienne s'effectue rapidement et le nombre de *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei* augmente. Lorsque la carie atteint la dentine, la proportion d'actinomycètes et de lactobacilles augmente fortement pour égaler celle des streptocoques.

Les lactobacilles, *S. mutans* et *S. sanguis* sont les micro-organismes prédominant dans les lésions radiculaires. La carie des sillons des faces occlusales révèle une plaque généralement dominée par streptocoque mutans mais également streptocoque sanguis et des lactobacilles. *S. mutans* et *A. viscosus* sont présent dans les lésions de subsurface. On observe la prédominance de *A. viscosus* et des lactobacilles dans les caries du syndrome du biberon (17).

- Les streptocoques mutans

De nombreux travaux de recherche ont clairement établi le rapport entre streptocoque mutans et carie. C'est une bactérie fermentaire, donc productrice d'acides organiques. Elle synthétise des polysaccharides extracellulaires insolubles ; c'est une bactérie acidurique. Cette bactérie est directement liée à un glucide particulier: le saccharose (17).

S. mutans tire du saccharose l'énergie nécessaire à sa croissance et à sa prolifération. Elle transforme le saccharose pour produire des polysaccharides extracellulaires insolubles, substance collante qui aide les bactéries à s'agglutiner et à se maintenir sur les surfaces dentaires. (57).

Les streptocoques mutans apparaissent après l'évolution des premières dents et disparaissent après une édentation totale. Leur habitat naturel est la dent. (20).

On reconnaît plusieurs espèces buccales au sein du groupe des streptocoques mutans. Ces espèces bien distinctes sont au nombre de sept et comprennent plusieurs sérotypes. On y trouve notamment streptocoque sobrinus (57).

- Les *Lactobacillus*

Les espèces du genre *Lactobacillus* identifiées dans la bouche sont multiples. Celles que l'on retrouve le plus fréquemment sont : *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus crispatus* et *Lactobacillus grasseri*.

Le genre *Lactobacillus* est classé dans les bactéries lactiques. Certaines espèces sont homofermentaires, d'autres sont hétérofermentaires. Les lactobacilles sont fortement acidogènes et aciduriques. Ils sont considérés comme les colonisateurs secondaires des cavités carieuses car leur pouvoir cariogène s'exprime surtout dans les sillons des surfaces occlusales.

Ces bactéries colonisent essentiellement les sites de la cavité buccale qui permettent une rétention mécanique comme les anfractuosités naturelles de la dent ou les restaurations débordantes. Leur nombre est également corrélé à la consommation en glucides fermentescibles : il s'élève lors d'un régime sucré. Les lactobacilles sont dénombrés en plus grande quantité pour des pH salivaires bas. Le débit salivaire peut également influencer leur présence puisque l'hyposialie provoque une augmentation du taux de lactobacilles (57).

- Les *Actinomyces*

Les actinomycètes sont des bacilles à Gram positif très polymorphes. Il existe deux espèces majeures d'actinomycète ; *A. viscosus* et *A. naeslundii*.

A. viscosus serait impliqué dans la formation des caries radiculaires alors que *A. naeslundii* serait impliqué dans les maladies parodontales (57).

4.1.2.1.2 La fraction acellulaire

Elle contient environ 80% d'eau et 30% en volume de matrice extrabactérienne. Cette matrice est un gel organique, aqueux qui contient des lipides et des protéines en grande partie, mais surtout des polysaccharides produits par les bactéries de la plaque. Cette matrice est très perméable et permet la diffusion de molécules et d'ions.

La phase aqueuse de la plaque est en équilibre physico-chimique avec les principales phases minérales constitutives de l'émail (20).

4.1.2.2 La salive

Nous avons vu précédemment que la salive in vivo pouvait induire la remontée du pH grâce à son pouvoir tampon. On sait que les carences salivaires augmentent de façon importante le développement des lésions carieuses.

4.1.2.3 L'émail

L'émail est un tissu inerte composé à 95% de sels minéraux de composition phosphocalcique. C'est le tissu le plus dur de l'organisme. Il est constitué d'unités tubulaires, les prismes de l'émail. (20)

4.1.2.4 La dentine

La dentine est composée à 70% de sels minéraux ; essentiellement des carbonates de calcium. C'est un tissu moins dur que l'émail et séparé de ce dernier par la jonction amélo-dentinaire. Son opacité aux rayons X est plus faible que celle de l'émail.

La structure dentinaire est caractérisée par une matrice organo-minérale dans laquelle se développent les prolongements odontoblastiques. Elle est constituée d'un réseau de fibres de collagènes sur lequel se fixent les cristaux minéraux.

Une fois la jonction amélo-dentinaire atteinte, le processus carieux devient irréversible.

La carie de dentine peut être révélée par une douleur (20).

4.1.3. Rôle de l'alimentation

Les glucides de l'alimentation sont impliqués dans le processus carieux, mais ils ne peuvent à eux seuls, être à l'origine de la lésion carieuse. Un aliment n'est cariogène que s'il contient des sucres fermentescibles. Toutefois, un certain nombre d'autres facteurs influent sur le potentiel cariogène d'un aliment : son pH et son pouvoir tampon, son effet stimulateur sur la salivation, son influence sur la flore buccale, sa nature physique, la présence d'éléments modérateurs (lipocaséine, minéraux, vitamines, phytates, tanins...), sa consistance, le temps de rétention dans la cavité buccale et ses conditions d'ingestion. Parmi ces facteurs, trois sont particulièrement importants : la nature des sucres, leur quantité et leur fréquence d'ingestion.

4.1.3.1 Nature des sucres ingérés

Les glucides capables d'être fermentés par les bactéries buccales sont les mono- et disaccharides de l'alimentation, qui sont en solution dans la salive (glucose, fructose, saccharose, maltose et lactose) et les amidons. Ces derniers doivent être d'abord scindés en maltose et en glucose, principalement par l'amylase salivaire, avant d'être fermentés. C'est pourquoi le risque carieux est faible lors de l'ingestion de l'amidon. (17).

4.1.3.2 Quantité de sucres ingérés

Certaines bactéries, comme les streptocoques et les lactobacilles, dans des conditions d'abondances de glucides exogènes et d'anaérobiose sont généralement des homofermentaires lactiques. (57)

Dans d'autres conditions, en particulier lorsque la croissance bactérienne est limitée par la rareté d'un nutriment (glucide ou autre), si le pH du milieu est alcalin, ou en condition d'anaérobiose, ces micro-organismes vont adopter un métabolisme de type hétérofermentaire. Ils produisent alors en plus de l'acide lactique, des acides organiques peu déminéralisants ainsi que de l'éthanol.

La proportion relative des divers métabolites produits est donc fonction du nombre d'espèces bactériennes présentes au sein de la plaque, mais également de la quantité de sucres fermentescibles présents dans l'alimentation. Ainsi, si le glucose est présent en grande quantité dans l'alimentation, il y aura activation de la voie homofermentaire et inhibition de la voie hétérofermentaire. En revanche, elle est activée lorsque la concentration en sucres fermentescibles de l'alimentation est réduite.

Une consommation importante de saccharose est responsable d'une augmentation du nombre de streptocoques au sein de l'écosystème buccal (17).

4.1.3.3 Influence de la fréquence et du moment d'ingestion

La virulence des bactéries est influencée non seulement par la quantité de sucre ingérée mais aussi par la fréquence d'ingestion. Avant l'ingestion de sucre, le pH de la plaque est généralement stable et très proche de la neutralité. L'exposition à un glucide fermentescible entraîne une baisse de pH immédiate et rapide. Le pH remonte ensuite lentement jusqu'à sa valeur de repos, après neutralisation et diffusion des acides organiques produits par le métabolisme bactérien.

Ainsi, l'exposition au processus de déminéralisation sera d'autant plus importante que les prises alimentaires au cours de la journée sont multiples.

D'autres circonstances peuvent également jouer un rôle sur le pouvoir cariogène de l'aliment comme par exemple sa place au cours du repas. Un sucre consommé entre les repas a un pouvoir cariogène plus important que s'il est consommé au cours du repas (17).

4.1.4 Dynamique des lésions carieuses

4.1.4.1 Les cycles de déminéralisation-reminéralisation

Dans les lésions initiales, les cycles de déminéralisation- reminéralisation ne sont gouvernés que par des processus physico-chimiques. Au niveau de l'émail, seul le jeu des équilibres ioniques régule le processus carieux. (20)

Après chaque ingestion de carbohydrates, les courbes de Stephan montrent une baisse du pH. Ces périodes ne durent pas plus de 30 à 60 minutes. Entre ces périodes, la plaque demeure à la valeur du pH salivaire. La plaque étant hautement perméable, le Ca^{2+} et les ions phosphates peuvent pénétrer et diffuser vers l'émail, au niveau duquel ils participent à la reminéralisation.

La reminéralisation des lésions initiales nécessite du calcium et du phosphate, qui sont initialement présents dans la salive et le fluide de la plaque. Si les conditions de pH sont favorables, les phosphates de calcium les moins stables vont évoluer vers des compositions plus stables.

Le fluor favorise la formation d'apatites et permet la reminéralisation de la dent. Certains minéraux sont susceptibles de recristalliser dans l'émail partiellement déminéralisé quand des ions fluor, calcium et phosphates sont présents, dans des proportions adéquates. (35)

4.1.4.2 Evolution des lésions carieuses

Les lésions de l'émail débutent par une déminéralisation infra-clinique, c'est-à-dire trop petite pour être détectable cliniquement. Dans les premiers stades de la déminéralisation, les modifications histologiques ne sont pas suffisantes pour permettre la détection des lésions carieuses. Si les baisses de pH se répètent fréquemment, on observe la dissolution des minéraux, sous la surface de l'émail. La lésion classique apparaît comme une tâche blanche. A ce stade, elle est reminéralisable.

Si les conditions d'acidité s'aggravent, la lésion évolue ensuite progressivement vers une lésion initiale de sub-surface, puis devient évidente lorsqu'elle est cavitaire.

Lorsque la lésion atteint la limite émail-dentine, le mode de progression des micro-organismes et de leurs sous-produits suit la structure tubulaire de la dentine. On observe couramment des cavités dites « fermées » avec de l'émail infiltré non soutenu qui persiste au-dessus d'une large lésion dentinaire.

Dans la dentine, on distingue deux situations : les lésions radiculaires, où la dentine est directement exposée, et les lésions coronaires pour lesquelles l'atteinte dentinaire succède à l'atteinte amélaire. A la différence des lésions dentinaires coronaires, on observe des reprécipitations pour les lésions radiculaires, dans des conditions favorables de pH, et en l'absence de plaque. (20)

4.2. Détermination du risque carieux

4.2.1 Facteurs de risque carieux

Il existe des paramètres qui permettent de détecter les patients ayant un risque carieux individuel élevé. On classe habituellement en risque carieux élevé les patients présentant au moins un des facteurs de risque individuels suivant : (20)

- Absence de brossage quotidien avec du dentifrice fluoré
- Ingestions sucrées régulières en dehors des repas ou du goûter (aliments sucrés, boissons sucrées, bonbons)
- Prise au long cours de médicaments sucrés ou générant une hyposialie
- Sillons anfractueux au niveau des molaires
- Indice de plaque élevé ou présence de plaque visible à l'œil nu sans révélation
- Présence de caries (atteinte de la dentine) et/ou de lésions initiales réversibles (atteinte de l'émail)

4.2.2 Evaluation

L'évaluation du risque carieux comporte différentes étapes. Dans un premiers temps, il peut être décelé à partir de l'entretien .Différents éléments sont à relever : (67)

- Les données démographiques : âge, statut socio-économique, histoire familiale, niveau d'éducation, profession, style de vie
- Les données médicales : santé générale, maladie particulières, médicaments
- Une douleur ou une gêne : sensibilité aux sucres, sensation de bouche sèche

L'entretien est suivi de l'examen clinique qui observe : (20)

- L'état bucco-dentaire : nombre de caries et d'obturations, sealants, état parodontal, fréquence des visites chez le chirurgien dentiste
- Les activités carieuses en cours : sévérité des lésions, localisation des lésions (dents et surfaces concernées), nature des lésions (active ou inactives), vitesse de formation des lésions, image radiographique révélant une progression de la carie dans le tiers dentinaire externe, présence de tâches blanches sur les surfaces lisses ou d'images inter proximales radioclares
- Les facteurs iatrogènes : traitement orthodontique, restaurations inadaptées
- Les facteurs comportementaux : habitudes d'hygiène orale (brossage, utilisation de fluorures), habitudes alimentaires (consommation de sucres, fréquence), utilisation de tétines et biberons sucrés
- Les tissus dentaires : âge post-éruptif des dents, morphologie des sillons, puits et fissures, occlusion, dystopie et espaces interdentaires, gingivite utilisée comme indicateur d'une mauvaise hygiène orale, récession gingivale
- L'utilisation de fluorures

Il est parfois nécessaire de recueillir des informations supplémentaires sur l'évaluation du risque à partir des examens tels que : (67)

- Les tests salivaires : débit salivaire stimulé ou non, pouvoir tampon
- Les tests microbiologiques : Streptocoques mutans et Lactobacilles

- L'indice de plaque
- L'enquête alimentaire réalisée sur plusieurs jours

Cette évaluation permet au praticien d'adapter sa thérapeutique en fonction du risque carieux et de cibler ses actions sur le ou les facteurs en cause.

4.2.3 Les tests de susceptibilité à la carie

De nombreuses études ont tenté de corréler le résultat de certains tests microbiologiques et biochimiques à la susceptibilité à la carie dentaire d'un individu donné. Le but étant de prévenir la maladie plutôt que la traiter.

Les tests salivaires permettent donc d'évaluer le terrain cariogène des patients et de mettre en place un protocole adapté au risque carieux individuel. Ils sont un allié puissant dans la communication et permettent aux patients de mieux assimiler les mesures de prévention.

On sait aujourd'hui que les maladies dentaires sont révélatrices de la rupture de l'équilibre buccal encore appelé encore homéostasie. Pour mesurer ce déséquilibre, la salive peut être analysée comme « une fenêtre diagnostic de l'ensemble du corps humain ». (55)

Quatre tests différents sont aujourd'hui utilisés afin de mesurer : le flux salivaire, le pouvoir tampon de la salive, le nombre de streptocoques mutans et le nombre de lactobacilles. Ces tests peuvent être réalisés facilement au sein du cabinet dentaire.

4.2.3.1 Mesure du flux salivaire

Nous avons vu dans le précédent chapitre que le flux salivaire pouvait être mesuré, après stimulation par mastication d'un bloc de paraffine, ou sans stimulation. La salive est recueillie dans une éprouvette graduée pendant cinq minutes et le flux est alors calculé en millilitres par minute.

4.2.3.2 Mesure du pouvoir tampon

Le pouvoir tampon peut être évalué à l'aide d'un indicateur de pH commercial. Une bandelette stérile à lecture directe est mise en contact avec la salive soit directement sur la langue du sujet, soit dans de la salive récupérée dans un récipient. La bandelette se colore après un certain temps. Une table de conversion permet de traduire ce résultat.

Lorsque le pH mesuré est inférieur à 5, il existe un facteur de risque carieux. Le pouvoir tampon a une corrélation négative faible avec l'activité carieuse. (40)

Une baisse significative du pouvoir tampon peut être liée à une baisse du débit salivaire.

4.2.3.3 Numération des streptocoques et des lactobacilles

La numération des streptocoques et des lactobacilles se fait généralement à partir d'un échantillon de salive. Elle peut être mise en évidence par deux techniques différentes. La première consiste à mettre en culture ces micro-organismes sur un support de gélose. L'autre technique mesure la charge bactérienne grâce à l'amplification génétique de l'ADN des bactéries incriminées. (17)

4.2.3.3.1 Culture de bactéries sur milieu gélosé

Le patient mâche de la paraffine ou un autre objet solide pour stimuler son flux salivaire. Ainsi, les micro-organismes sont facilement délogés des surfaces dentaires. L'échantillon recueilli est mis en culture sur des lames recouvertes de milieu gélosé, permettant sélectivement la croissance des lactobacilles ou bien des streptocoques mutans. Chaque famille de bactérie est cultivée sur une plaque de gélose différente.

Les cultures sont placées pendant dans un incubateur. La durée d'incubation est différente selon les tests salivaires (48 heures pour le test CRTbacteria© et 4 jours pour le test Vivacult LB). On compare ensuite la densité de colonies qui se sont développées sur les géloses avec la charte fournie par le fabricant.

Description d'un test salivaire : le CRTbacteria (66)

Le matériel CRT bacteria se présente sous la forme d'un kit comprenant les éléments à usage unique nécessaires. :

- Un tube transparent contenant une languette de plastique solidaire du bouchon. Sur chaque face de la languette sont fixées 2 géloses différentes : une pour la culture des Streptocoques mutans, l'autre pour la culture des Lactobacilles.
- Une pastille de NaHCO_3 servant à activer la prolifération et la multiplication des bactéries.
- Un gobelet gradué à usage unique pour recueillir la salive.
- Une pipette pour imprégner les deux faces de gélose par la salive recueillie. On peut ainsi faire le contrôle du pouvoir tampon de la salive.
- Une charte d'évaluation permet d'interpréter les résultats des différents tests.
- Il faut également disposer d'un incubateur.

Le patient commence par mastiquer une gomme de paraffine. Sa salive est recueillie dans le gobelet gradué pendant cinq minutes. On place ensuite une pastille de NaHCO_3 dans le fond du tube.

Les deux faces de gélose sont libérées de leur protection adhésive. On humidifie les deux géloses d'agar avec la salive recueillie dans le godet, en veillant à ce que la pipette n'entre pas en contact avec l'agar. La languette est replacée à l'intérieur du tube avant de visser le couvercle.

Le tube est ensuite placé à 37° C dans un incubateur pendant 48 heures.

Enfin, on compare la densité de colonies qui se sont développées sur chacune des faces de gélose avec la charte fournie par le fabricant.

4.2.3.3.2. Numération bactérienne par amplification génique

4.2.3.3.2.1 Définition de la PCR (Polymerase chain reaction)

La Polymerase chain reaction ou PCR est une technique de réplication ciblée in vitro.

Cette technique moderne permet l'analyse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) en faisant appel à la biologie moléculaire et à l'automatisation. Elle permet d'obtenir, à partir d'un échantillon complexe et peu abondant, d'importantes quantités d'ADN grâce à une ADN polymérase.

Il s'agit en fait de réaliser une succession de réactions de réplication d'une matrice double brin d'ADN. Chaque réaction met en œuvre deux amorces oligonucléotidiques dont les extrémités 3' pointent l'une vers l'autre. Les amorces ou « primers » en anglais définissent alors en la bordant, la séquence à amplifier.

Les produits de chaque étape de synthèse sont utilisés comme matrice pour les étapes suivantes. Au lieu d'être linéaire, l'amplification obtenue est exponentielle.

La séquence amplifiée est ensuite comparée à d'autres séquences nucléotidiques conservées dans des banques de données afin d'identifier une bactérie ou un virus ou encore de mettre en évidence une mutation de gène pour diagnostiquer une maladie génétique.

Imaginée par K. MULLIS en 1985, cette technique connaît un essor considérable à partir de la commercialisation vers 1988 d'une ADN polymérase résistante aux températures élevées (la Taq polymérase) et qui permet donc une automatisation de la technique. Ces travaux lui valurent un Prix Nobel en 1993.

Il existe de multiples techniques associées à la PCR. Parmi elle, la PCR en temps réel s'est implantée rapidement dans les laboratoires. (74)

La PCR en temps réel

La PCR en temps réel (real time PCR) est une véritable révolution dans l'utilisation de la PCR. Cette technologie a dû attendre la mise sur le marché d'un certain nombre d'innovations technologiques avant de se développer. Elle a pour but de mesurer la quantité d'ADN polymérisé à chaque cycle grâce à un marqueur fluorescent. Elle permet donc de faire des mesures quantitatives, mais nécessite des thermocycleurs particuliers. (73)

L'outil utilisé dans cette étude est le système Cario Analyse de l'institut Clinident commercialisé par les laboratoires Pierre Fabre et fait appel à la PCR en temps réel pour analyser les prélèvements salivaires.

4.2.3.3.2.2 Intérêt

L'application des méthodes de biologie moléculaire classiques au diagnostic bactériologique se heurte à un problème de sensibilité. En effet, les acides nucléiques bactériens sont souvent présents en trop faible quantité. La technique PCR permet de contourner ces problèmes de sensibilité.

Le principal inconvénient des techniques anciennes était qu'il fallait mettre en culture et identifier une bactérie vivante selon ses caractères morphologiques, biochimiques, antigéniques et culturels. De plus, ces méthodes sont limitées par l'existence de bactéries non cultivables de façon traditionnelle au laboratoire et les délais de culture parfois très importants pour certains micro-organismes. En règle générale, l'identification des bactéries anaérobies est plus contraignante. Le prélèvement initial et les boîtes anaérobies doivent rester le moins longtemps possible à l'air libre. Les lactobacilles sont anaérobies facultatifs et donc plus fragiles. Leur identification par mise en culture est donc plus délicate (17).

La technique d'amplification génique par PCR présente un intérêt considérable de par sa sensibilité et sa spécificité, même si cette dernière peut parfois être perçue comme un inconvénient. En effet, la PCR reste une démarche orientée et n'est disponible que pour certains micro-organismes. Enfin, c'est une technique rapide et automatisable. (18)

4.2.3.3.2.3 Méthode

L'échantillon de salive subit un traitement chimique permettant de récupérer et lyser les bactéries. Leur ADN est ensuite purifié à partir de résines de silice.

Cet ADN bactérien va être soumis à une étape d'amplification génétique (PCR) de séquences spécifiques à chaque bactérie cariogène. (37)

Modélisation et quantification de la PCR

La PCR correspond à une amplification d'un fragment d'ADN spécifique délimité par des « amorces ». Une courbe, dont l'allure est celle d'une sigmoïde, permet de représenter l'évolution de cette amplification.

On distingue deux phases au cours de la réaction. La première phase correspond à une amplification exponentielle. La quantité de produit de PCR obtenue à chaque moment de cette phase est directement fonction du nombre de copies initiale du fragment d'ADN amplifié.

La phase du plateau correspond à un ralentissement de l'amplification qui peut être du à l'épuisement des différents réactifs de la PCR comme les amorces. Cette phase est difficilement modélisable.

En revanche, la phase d'amplification exponentielle est facilement modélisable et permet en théorie d'extrapoler le nombre de copies initiales. Dans la pratique, il n'est pas possible d'en déduire directement le nombre de copies initiales. Il faut donc inclure à chaque expérience des échantillons standard de concentration connue. (74)

Principe de la PCR en temps réel

Le principe de la « PCR en temps réel » consiste à obtenir des courbes d'amplification contenant au moins une partie de la phase exponentielle. Depuis 1997, il existe sur le marché un appareil capable d'effectuer de la PCR quantitative par la détection de la

fluorescence en temps réel. Il s'agit en fait d'une machine à PCR associée à un dispositif permettant d'émettre une énergie lumineuse de longueur d'onde 480 nm et à un dispositif de lecture de fluorescence émanant des tubes.

Avant cela, la technique, très fastidieuse, consistait à prélever un aliquot de la PCR à chaque cycle et d'effectuer une quantification directe de chacun de ces aliquots. (74)

Ainsi, au cours de la PCR, les données concernant la quantité du produit amplifié sont enregistrés « en temps réel ». La quantification repose sur la phase exponentielle mais exploite un nouveau paramètre : le Ct.

Avec la PCR quantitative en temps réel, on ne regarde plus combien, mais quand. Seule la phase exponentielle est représentative du nombre de copies initiales. C'est le moment où le signal sort du bruit de fond qui est significatif.

Ce moment correspond à un certains nombre de cycles et est appelé Ct (Threshold Cycle) (51).

On définit un seuil (Threshold) correspondant à un niveau de fluorescence suffisamment bas pour que les courbes d'amplification soient en phase exponentielle mais suffisamment élevé pour être au dessus du bruit de fond.

La PCR en temps réel permet un gain de temps considérable. Ainsi, il est possible d'étudier en parallèle des échantillons ayant des nombres de copies initiales très différents sans avoir à faire des dilutions préliminaires.

En revanche, pour obtenir des courbes d'amplification, des chimies à bases de molécules fluorescentes sont nécessaires (chimie Taqman ou SYBRGreen) (74).

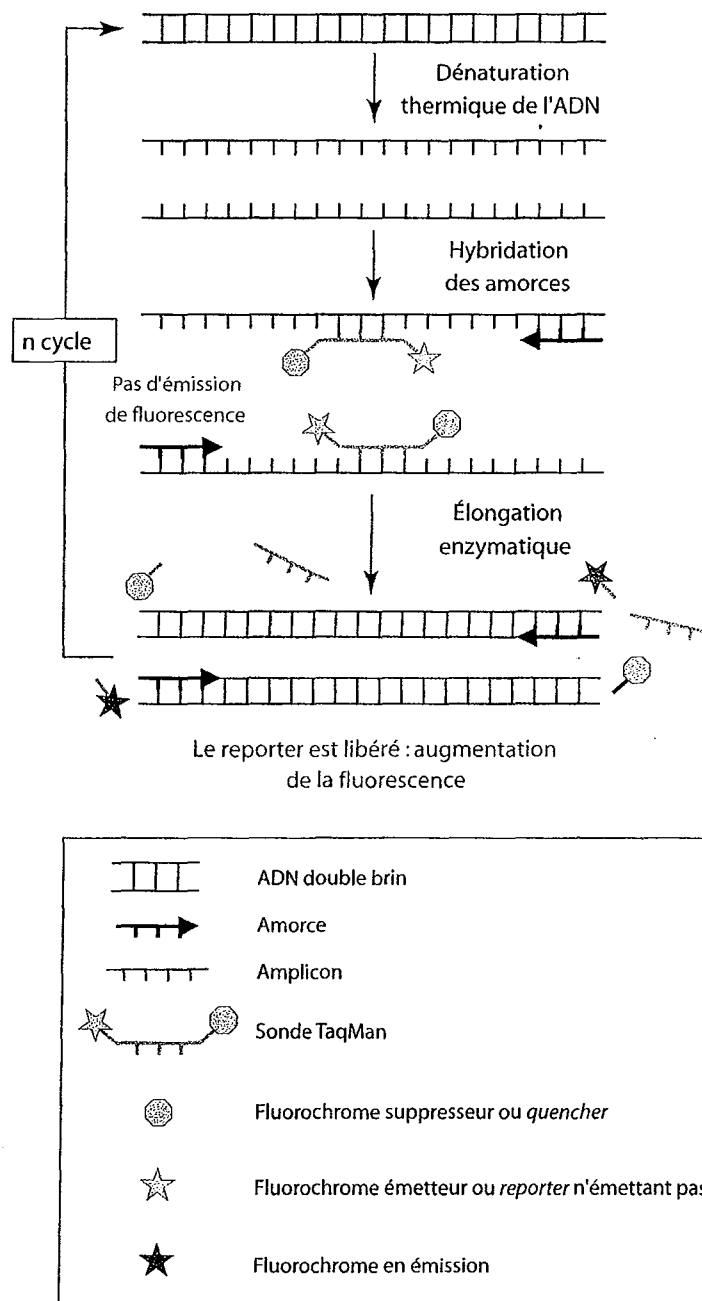
La chimie Taqman

Cette chimie permet d'obtenir un signal fluorescent à partir d'une sonde bimarquée et dont l'augmentation de fluorescence est proportionnelle au produit de PCR. La sonde utilisée est appelé « sonde Taqman ».

Cette chimie repose sur la fonction exonucléase 5' → 3' de la Taq polymérase. La sonde est un oligonucléotide spécifique d'un morceau interne à la séquence amplifiée. Elle est marquée en 5' par un fluorophore appelé reporter et en 3' par un autre fluorophore appelé quencher. (61)

Les spectres d'émission du reporter et d'excitation du quencher se chevauchent. L'émission du reporter est atténuée ou "quenchée" (éteinte) par la proximité du quencher. Lorsque la sonde est dégradée par l'activité exonucléase de la Taq, les fluorophores ne sont plus reliés entre eux et l'émission du reporter est augmentée. L'augmentation du signal correspondant à la composante du fluorophore reporter est proportionnelle au nombre de copies polymérisées à chaque cycle de la PCR.

Fig. 9 : Technologie de la sonde Taqman (d'après MAFTAH A., JULIEN R., 2000)



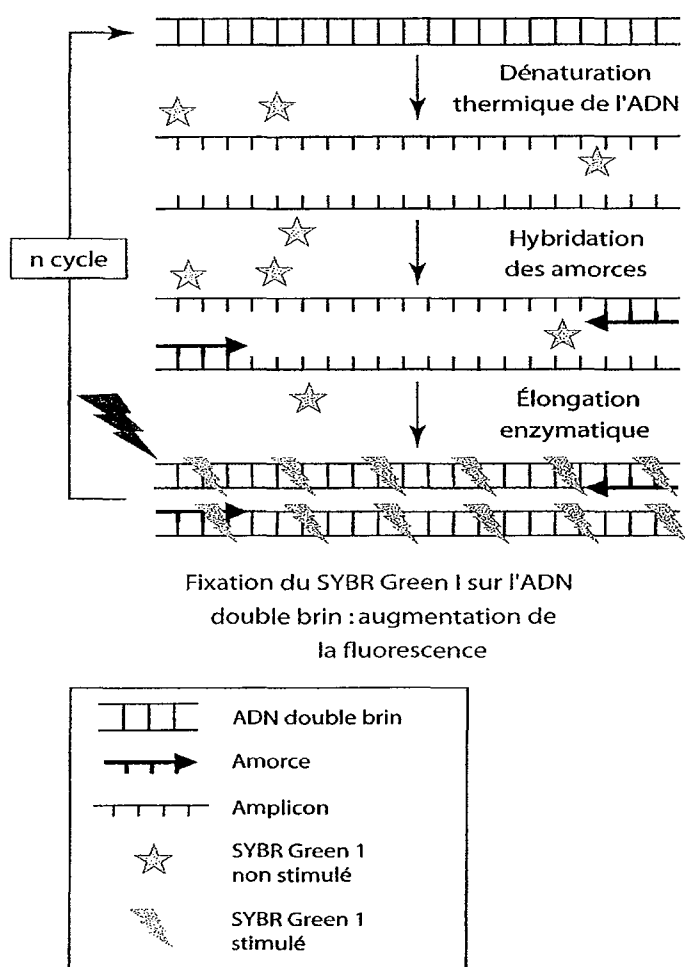
Le SYBRGreen

Le SYBRGreen fabriqué par Molecular Probe est un colorant qui vient s'intercaler au niveau des chaînes double brin d'ADN. Il ne devient fluorescent que lorsqu'il se lie à l'ADN double brin.

Cette molécule est incluse dans une PCR pour suivre l'augmentation des produits de PCR. Il suffit de mesurer la fluorescence dans la gamme d'émission du SYBRGreen I.

Cette technique ne nécessite pas la conception d'une sonde. En revanche, la fluorescence mesurée peut provenir de produits d'amplification non spécifiques. Il faut donc s'assurer de la spécificité des produits de PCR. On peut pour cela faire migrer sur gel ces produits de PCR afin de s'assurer que la taille du fragment amplifié correspond à ce qui est attendu. (74)

Fig.10 : Technologie du SYBR Green (d'après MAFTAH A., JULIEN R., 2000)



4.2.4. Le système Cario Analyse (37)

4.2.4.1. Présentation

Il se présente sous la forme d'un kit contenant (cf. annexe 5):

- Un tube de prélèvement dans lequel le patient recueille sa salive
- Un formulaire de prescription
- Une enveloppe d'expédition sécurisée

4.2.4.2. Prélèvement

Il existe des recommandations afin que l'analyse de l'échantillon soit la plus fiable possible :

- Dans un premier temps, il faut que le prélèvement soit effectué à distance d'un repas ou du brossage (une heure après le dernier repas ou brossage)
- La sécrétion de la salive ne doit pas être stimulée
- La quantité de salive à recueillir doit être d'environ 1mL

Le prélèvement est ensuite envoyé au laboratoire par courrier dans un étui et une enveloppe sécurisée.

Au laboratoire, deux paramètres sont analysés :

- Le pouvoir tampon de la salive est mesuré électroniquement.
- L'ADN des bactéries contenues dans la salive est extrait et purifié pour rechercher l'empreinte génétique de chacune des deux bactéries cariogènes et déterminer ainsi leur concentration dans la salive

4.2.4.3. Rapport d'analyse

Le rapport d'analyse (cf. annexe 3) est envoyé au praticien ayant effectué les prélèvements salivaires environ 48 heures après réception des échantillons au laboratoire. Il peut se présenter sous la forme d'un courrier, d'un fax ou d'un e-mail.

Le compte-rendu se divise en trois parties :

- La première partie concerne la capacité tampon de la salive. Elle se présente sous la forme d'un tableau avec d'une part l'appréciation qualitative de la capacité tampon de la salive (bonne, moyenne ou insuffisante), et d'autre part l'indice microbiologique qui lui correspond.
- La deuxième partie indique la quantification des bactéries cariogènes par PCR. Les résultats sont également exprimés sous forme d'un tableau. Trois éléments de la flore bactérienne buccale sont évalués : la flore totale, les *Lactobacillus*. Et les *Streptococcus* mutans. Le tableau donne le nombre de bactéries par ml de salive pour chacun de ces paramètres, leur pourcentage par rapport à la flore totale, le risque carieux engendré (faible, élevé ou très élevé) et l'indice microbiologique correspondant.
- La troisième partie donne le pourcentage de chaque bactérie cariogène présente par rapport à la flore totale, qui indique s'il y a prédominance d'une souche par rapport à une autre.

Les indices microbiologiques permettent au praticien d'apprécier le risque carieux du patient en prenant en compte l'ensemble des paramètres analysés. Ces indices sont attribués à trois paramètres :

- La capacité tampon de la salive possède un indice microbiologique de (0) lorsqu'elle est bonne, de (2) lorsqu'elle est moyenne et de (4) lorsqu'elle est insuffisante

- Le taux de streptocoques mutans correspond à un indice de (0), (2), (4) ou (6) selon le niveau de risque carieux :
 - Risque faible : $< 10^4$ Streptocoques mutans /mL de salive correspond à un indice microbiologique de (0)
 - Risque modéré : $10^4 \leq$ Streptocoques mutans /mL de salive $< 10^5$ correspond à un indice microbiologique de (2)
 - Risque élevé : $10^5 \leq$ Streptocoques mutans /mL de salive $< 10^6$ correspond à un indice microbiologique de (4)
 - Risque très élevé : $\geq 10^6$ Streptocoques mutans /mL de salive correspond à un indice microbiologique de (6)
- Le troisième indice est attribué de la même façon aux lactobacilles :
 - Risque faible : $< 10^4$ *Lactobacillus spp.* /mL de salive correspond à un indice microbiologique de (0)
 - Risque modéré : $10^4 \leq$ *Lactobacillus spp.* /mL de salive $< 10^5$ correspond à un indice microbiologique de (2)
 - Risque élevé : $10^5 \leq$ *Lactobacillus spp.* /mL de salive $< 10^6$ correspond à un indice microbiologique de (4)
 - Risque très élevé : $\geq 10^6$ *Lactobacillus spp.* /mL de salive correspond à un indice microbiologique de (6)

Les trois indices sont additionnés pour donner l'indice microbiologique total qui est compris entre 0 et 16. Cet indice est faible s'il est inférieur à 4, modéré s'il est compris entre 4 et 8, et important s'il est supérieur à 8.

4.2.4.4. Evaluation clinique

L'analyse microbiologique est à mettre en rapport avec les observations cliniques préalables. En effet, la quantification bactérienne est un facteur prédictif reconnu du risque carieux mais ne peut tenir compte des facteurs de risque liés au patient.

Le système Cario Analyse propose d'attribuer des indices plus ou moins importants à cinq critères cliniques (cf. annexe 4). Pour cela, le praticien devra observer :

- Le degré d'hyposialie : si l'hyposialie est inexistante, l'indice est de (0) ; si elle est modérée, l'indice est de (2) ; et si elle est sévère, l'indice est de (4)
- L'hygiène bucco-dentaire : elle peut être excellente (0), moyenne (2) ou insuffisante (4)
- Le comportement alimentaire : le praticien définit par un questionnaire si le comportement alimentaire du patient est normal (0) ou à risque (2)
- Le facteur carie : lors de l'examen clinique, l'odontologiste observe la présence de caries actives (6) ou de caries soignées (2). Si l'incidence carieuse familiale du sujet est importante, alors le praticien peut ajouter un indice de (2)
- La présence d'un traitement orthodontique équivaut à un indice de (2)

Le praticien additionne les indices cliniques observés et obtient un indice total compris entre 0 et 18. Il définit ainsi si le patient présente un profil clinique à risque carieux faible (indice total ≤ 4), un risque modéré (indice compris entre 4 et 8) ou un indice important (indice ≥ 8).

4.2.4.5. Appréciation du risque carieux

L'appréciation globale du risque carieux est définie en fonction des observations cliniques et de l'analyse microbiologique. Pour le connaître, le praticien peut se reporter au tableau qui lui est fourni avec le rapport d'analyse.

4.3. Avantages et limites de ces techniques

4.3.1. Avantages

L'utilisation des tests salivaires permet à l'odontologiste d'intégrer l'évaluation des paramètres biologiques à l'évaluation clinique afin de mieux évaluer le risque carieux du patient. Ces tests sont utilisés en association à un examen clinique et radiologique.

Ils permettent au praticien de connaître les valeurs de départ pour déterminer l'activité cariogène actuelle de son patient. Il peut être intéressant de connaître le risque carieux de son patient avant un traitement prothétique et avant un traitement orthodontique.

En cas de présence de nombreuses lésions carieuses, les tests salivaires peuvent être utilisés pour connaître la cause de ces lésions. Les résultats permettent alors la mise en place d'une thérapie ciblée pour prévenir la maladie.

D'autre part, ils peuvent être utilisés régulièrement pour renseigner le praticien traitant sur d'éventuels changements dans l'écologie buccale du patient et pour contrôler l'efficacité du traitement préventif dans le cadre du suivi du patient.

Les tests salivaires s'avèrent également être un allié puissant dans la communication avec le patient car ils permettent d'étayer l'argumentaire du praticien afin d'obtenir l'adhésion du patient au plan de prévention (66).

4.3.2. Limites

4.3.2.1. Limites liées aux tests salivaires

Les tests salivaires n'offrent que peu d'intérêt diagnostique et prédictif dans l'évaluation du risque carieux. Il n'existe pas de franche association entre l'activité carieuse et l'interprétation des valeurs des différents paramètres salivaires, car ils interagissent les uns avec les autres.

La présence de microorganismes ne veut pas dire qu'il y a pathologie. Chez un individu donné, chaque site buccal possède un ensemble de caractéristiques qui lui sont propres, et ce sont les interactions entre les différents facteurs qui déterminent s'il y aura développement ou non de la pathologie.

La valeur réelle clinique du pouvoir tampon salivaire est par exemple discutable. En effet, l'attaque bactérienne se fait là où la salive n'a que peu d'effet, c'est-à-dire au sein de plaque dentaire ou au contact de la surface amélaire. Sa mesure nous renseigne donc plus sur le risque d'érosion dentaire que sur le risque carieux.

D'autre part, les streptocoques du groupe mutans colonisent principalement les surfaces dentaires. Le nombre de dents présentes en bouche est un élément important à prendre en considération dans l'interprétation des tests microbiologiques.

Par ailleurs, les lactobacilles se développent surtout au sein des cavités de carie. On en dénombre peu chez les individus n'ayant pas de carie en évolution. Toutefois, leur numération permet d'évaluer la consommation de sucres du patient.

La numération bactérienne au sein de la salive non stimulée est préférable à celle au sein de la salive stimulée car des études récentes montrent que les cellules bactériennes se détachent plus facilement lors des premières phases de formation de la plaque dentaire, c'est-à-dire lorsque les microorganismes se multiplient de façon intensive. (19, 20)

4.3.2.2. Limites liées à l'écologie buccale

Il reste des questions en suspens concernant l'étiologie carieuse. Les streptocoques mutans et les lactobacilles ne seraient pas les seuls microorganismes responsables de la pathologie carieuse. Des streptocoques buccaux n'appartenant pas au groupe mutans seraient également impliqués.

Des paramètres propres à l'individu, tels que l'âge du sujet, peuvent également fausser l'interprétation des tests. Il existe des facteurs de risque différents à chaque âge. Ainsi, chez la personne âgée, la prise de médicament diminuant le flux salivaire est un facteur de risque

important. La carie du cément y est plus fréquente que la carie amélaire. Cette carie serait induite par *Actinomyce viscosus*.

Chez les personnes âgées également, la numération des lactobacilles apporte plus d'enseignements que celle des streptocoques car les caries radiculaires se présentent généralement sous formes de lésions plus ouvertes que celles coronaires et c'est au sein de ces cavités que les lactobacilles prolifèrent le plus. En revanche, la numération des streptocoques est plus riche d'enseignement chez les enfants.

Par ailleurs, on peut se demander si le choix de la salive comme échantillon est un bon choix. En effet, elle contient les bactéries adhérentes aux surfaces dentaires mais également celles fixées aux muqueuses. De plus, le nombre de microorganismes varie selon le temps écoulé depuis le dernier brossage et la méthode d'échantillonnage. Il faudrait idéalement faire le prélèvement toujours au même moment de la journée.

La mastication peut également influencer le résultat du test car elle provoque le détachement des bactéries adhérentes aux surfaces lisses et non pas celles présentes dans les lieux de stagnation.

La quantité de salive varie d'un endroit à l'autre au sein de la cavité buccale selon par exemple l'anatomie dentaire, l'état de la dent où la proximité de canaux excréteurs des glandes salivaires. L'effet protecteur de la salive varie d'une niche buccale à une autre. Un échantillon salivaire est donc une moyenne des différentes niches écologiques buccales et ne tient pas compte des conditions propres à chaque site. L'idéal serait de prélever de la plaque à plusieurs endroits et d'analyser chaque échantillon individuellement, mais cette technique serait trop coûteuse en temps et en argent. Le prélèvement salivaire reste le meilleur compromis entre faisabilité et fiabilité.

Il existe de multiples facteurs étiologiques de la carie qui interagissent entre eux. Il est donc indispensable de combiner plusieurs tests, salivaires et microbiologiques et de les associer à un examen clinique et radiologique ainsi qu'à un interrogatoire du patient.

Les tests utilisés à l'heure actuelle ont donc peu d'intérêt prédictif. Ce sont surtout des outils de communication et de motivation des patients à risque carieux élevé. (20)

4.3.2.3 Limites liées au coût des tests salivaires

Ces tests ont coût élevé (22 euros TTC par test en ce qui concerne Cario Analyse) et la sécurité sociale ne prévoit pas leur prise en charge.

5. ANALYSE MICROBIOLOGIQUE
DE PRELEVEMENTS DE SALIVE
EFFECTUES SUR DES PATIENTS
BENEFICIAINT D' UNE
RADIOTHERAPIE DE LA SPHERE
ORO FACIALE

5.1. Objectifs de l'étude

Comme nous l'avons vu précédemment, la radiothérapie entraîne une xérostomie responsable des caries. Si des tests salivaires montrent que le patient est plus sujet à développer ces caries, ils pourront alors s'avérer être un support précieux pour argumenter auprès du malade et obtenir son adhésion au plan de prévention.

Le but de cette étude est donc de montrer si l'utilisation de ces tests comme outils de motivation est envisageable et si elle présente un intérêt dans le cadre du suivi bucco-dentaire post-radiothérapique.

Pour cela, nous prélèverons des échantillons de salive sur des patients atteints d'un carcinome de la sphère oro faciale, et dont le traitement nécessite une radiothérapie de cette région. Le prélèvement salivaire d'environ 1ml devra être effectué avant, pendant et après la radiothérapie.

Les analyses microbiologiques des échantillons salivaires permettront d'observer l'évolution des streptocoques et des lactobacilles présents dans la flore buccale des patients qui participent à l'étude ainsi que le pH buccal. L'étude sera menée à l'aide du système cario-analyse.

5.2. Définition de la population

Onze sujets, neuf hommes et deux femmes, atteints de cancer des voies aériennes digestives supérieures et bénéficiant d'une radiothérapie incluant les glandes salivaires, ont été pris au hasard parmi les patients du Centre Alexis Vautrin. Les malades sont âgés de 53 à 73 ans. Ils ont tous reçu une dose totale supérieure à 50 grays.

Nous avons effectué pour chaque malade un prélèvement salivaire :

- avant traitement,
- deux semaines après le début du traitement (soit après une irradiation de 20 à 25 Grays)

- en fin de traitement
- trois mois après radiothérapie
- six mois après radiothérapie
- puis neuf mois après radiothérapie

Nous avons relevé dans le dossier médical l'état civil, la localisation de la tumeur et le traitement (éventuelle chimiothérapie préradiothérapique, doses et champs d'irradiation pour la radiothérapie).

Un examen clinique bucco-dentaire (état de la denture, hygiène, comportement alimentaire) est effectué pour chacun des patients.

Sept des onze patients ont reçu un traitement de chimiothérapie avant leur traitement de radiothérapie.

Au cours de l'étude, deux patients sont malheureusement décédés et un autre n'a pu terminer l'étude, ne pouvant plus fournir suffisamment de salive.

5.3. Prélèvements et mesures

Une demande d'acceptation de participation à l'étude est tout d'abord remplie par chacun des sujets de l'étude (cf. annexe 1).

Lors de la première visite, les patients subissent un interrogatoire (cf. annexe 2) suivi d'un examen clinique. Les observations cliniques déterminent :

- La présence éventuelle d'une hyposialie avant radiothérapie
- Le niveau d'hygiène bucco-dentaire (excellente, moyenne ou insuffisante)
- Le comportement alimentaire (normal ou à risque)
- La présence de caries actives et de caries soignées en bouche
- L'existence d'un traitement orthodontique

Une fiche avec les observations cliniques est remplie pour chaque patient (annexe 2).

Cet examen permet de calculer l'indice clinique de départ à l'aide de la grille d'évaluation fournie par Cario Analyse. Cet indice est compris entre 0 et 18.

On procède ensuite au prélèvement salivaire sous certaines conditions :

- Il est effectué à distance d'au moins une heure après le dernier repas ou brossage.
- L'analyse microbiologique se fait se fait sur environ 1mL de salive mixte non stimulée.
- Le patient est au repos, la tête légèrement penchée en avant pour faciliter l'écoulement.
- L'échantillon de salive est recueilli par écoulement libre ou par crachats successifs dans un gobelet.

Il est ensuite recueilli à l'aide d'une seringue et placé dans le tube Cario Analyse prévu à cet effet. Ce tube est placé dans un étui, ainsi que la fiche informative correspondante au patient. Le tout est introduit dans une enveloppe et envoyé à l'institut Clinident à Clermont Ferrand.

Les résultats des tests sont envoyés par courrier et par e-mail environ 48 heures après réception. L'analyse microbiologique mesure la quantité de Streptocoques mutans, de Lactobacilles spp. et la capacité tampon de la salive.

Un indice de risque carieux est affecté à chacun des trois paramètres analysés. Ces indices sont ensuite additionnés pour donner un indice microbiologique total compris entre 0 et 16.

Le résultat, couplé à l'indice clinique permet d'apprécier le risque carieux avant la radiothérapie.

Les prélèvements salivaires s'effectuent avant la séance quotidienne d'irradiation en ce qui concerne les premiers tests, puis à l'occasion de rendez-vous médicaux au Centre Alexis Vautrin ou au C.H.U. de Nancy pour les tests suivants. L'examen clinique bucco-dentaire est renouvelé à chaque rencontre afin d'évaluer l'hygiène et la présence ou non de caries dentaires.

5.4 Résultats

Concernant l'analyse statistique des résultats, nous établirons s'ils diffèrent significativement ou non au cours des différents tests à l'aide du coefficient de corrélation des rangs de SPEARMAN.

5.4.1 Les lactobacilles

Au cours de la radiothérapie, le taux de lactobacilles augmente progressivement pour atteindre son taux le plus important en fin de traitement, puis diminue progressivement jusqu'à atteindre son taux le plus bas six mois après la radiothérapie (Tableau I). Cependant, ces variations ne sont pas statistiquement significatives (test de Spearman, $p > 0,05$).

Tableau I : Nombre de lactobacilles par mL de salive, moyennes et écart-types au cours des différents tests.

PATIENT	NOMBRE DE LACTOBACILLES PAR ML DE SALIVE					
	TEST 1	TEST 2	TEST 3	TEST 4	TEST 5	TEST 6
1	$6,0 \cdot 10^6$	$7,3 \cdot 10^7$	$6,8 \cdot 10^6$			
2	$7,0 \cdot 10^6$	$1,2 \cdot 10^7$	$7,6 \cdot 10^6$	$1,0 \cdot 10^7$		
3	$7,7 \cdot 10^6$	$6,6 \cdot 10^5$	$5,1 \cdot 10^6$	$2,4 \cdot 10^6$	$1,0 \cdot 10^6$	$2,2 \cdot 10^6$
4	$6,1 \cdot 10^6$	$4,9 \cdot 10^6$		$9,1 \cdot 10^6$	$9,1 \cdot 10^6$	$1,6 \cdot 10^6$
5	$8,4 \cdot 10^7$	$3,6 \cdot 10^6$	$4,2 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^7$	$3,1 \cdot 10^6$	$1,0 \cdot 10^6$
6	$4,1 \cdot 10^6$	$1,8 \cdot 10^5$	$1,9 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^6$	$6,8 \cdot 10^5$
7	$9,5 \cdot 10^6$	$4,0 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^7$	$3,5 \cdot 10^6$		
8	$4,6 \cdot 10^6$	$5,6 \cdot 10^7$	$9,7 \cdot 10^5$	$5,9 \cdot 10^5$	$9,7 \cdot 10^4$	$1,9 \cdot 10^5$
9	$4,5 \cdot 10^6$	$2,4 \cdot 10^6$	$8,0 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^7$	$3,1 \cdot 10^6$	$1,4 \cdot 10^7$
10	$2,5 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^6$	$1,2 \cdot 10^8$	$2,1 \cdot 10^6$	$5,0 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^6$
11	$5,3 \cdot 10^6$	$2,7 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^7$	$1,8 \cdot 10^7$	$3,2 \cdot 10^6$	$1,6 \cdot 10^6$
Moyenne $\pm$ écart-type	$1,26 \cdot 10^7 \pm$ $2,4 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^7 \pm$ $2,5 \cdot 10^7$	$1,9 \cdot 10^7 \pm$ $3,5 \cdot 10^7$	$7,2 \cdot 10^6 \pm$ $7,3 \cdot 10^6$	$2,6 \cdot 10^6 \pm$ $2,9 \cdot 10^6$	$2,8 \cdot 10^6 \pm$ $4,5 \cdot 10^6$

5.4.2 Les streptocoques mutans

Le taux de streptocoques mutans semble évoluer en sens inverse de celui des lactobacilles. En effet, nous observons une diminution progressive de leur nombre jusqu'à la fin de la radiothérapie, puis une augmentation jusqu'à atteindre leur taux le plus important six mois après la fin de la radiothérapie (Tableau II). Toutefois, l'analyse statistique ne montre pas de modification significative de ces taux (test de Spearman, $p > 0,05$).

Tableau II : Nombre de streptocoques mutans par mL de salive, moyennes et écart-types au cours des différents tests.

PATIENT	NOMBRE DE STREPTOCOQUES MUTANS PAR ML DE SALIVE					
	TEST 1	TEST 2	TEST 3	TEST 4	TEST 5	TEST 6
1	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$			
2	$1,1.10^6$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$		
3	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$
4	$<10^2$	$<10^2$		$1,0.10^7$	$1,7.10^7$	$1,0.10^7$
5	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$1,4.10^5$	$<10^2$	$<10^2$
6	$2,6.10^5$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$
7	$1,7.10^4$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$		
8	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$4,5.10^4$	$<10^2$
9	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$
10	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$6,2.10^3$	$<10^2$
11	$4,6.10^4$	$5,9.10^4$	$9,7.10^5$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$
Moyenne $\pm$ écart-type	$1,3.10^5 \pm$ $3,3.10^5$	$5,5.10^3 \pm$ $1,8.10^4$	$9,7.10^4 \pm$ $3,1.10^5$	$1,0.10^6 \pm$ $3,2.10^6$	$2,1.10^6 \pm$ $6,0.10^6$	$1,25.10^6 \pm$ $3,5.10^6$

5.4.3 Le pH salivaire

Au cours des tests, certains patients n'ont pas pu donner suffisamment de salive pour permettre l'évaluation de la capacité tampon de la salive. En effet, cette analyse nécessite une plus grande quantité de salive que pour la numération bactérienne.

L'indice microbiologique du pH salivaire augmente de façon importante au cours des deux premières semaines de radiothérapie et elle atteint son maximum au troisième mois après la radiothérapie (Tableau III).

L'analyse statistique révèle que ces variations ne sont pas statistiquement significative (test de Spearman, $p > 0,05$).

Tableau III : indices microbiologiques de la capacité tampon de la salive, moyennes et écart-types au cours des différents tests.

PATIENT	indice microbiologique de la capacité tampon de la salive					
	TEST 1	TEST 2	TEST 3	TEST 4	TEST 5	TEST 6
1	4	4	4			
2	4	Quantité insuffisante	0	4		
3	4	4	4	4	2	2
4	4	4	4	4	Quantité insuffisante	4
5	4	4	4	4	4	4
6	2	4	0	4	4	4
7	2	2	2	4		
8	2	2	4	4	2	4
9	2	4	2	4	4	4
10	2	4	Quantité insuffisante	4	4	Quantité insuffisante
11	4	4	4	2	2	4

5.4.4 Le risque carieux

Avant radiothérapie, les résultats cliniques et microbiologiques du système cario-analyse montrent que presque tous les patients présentent un risque carieux important sauf un dont le risque est modéré (tableau IV).

Sur les onze sujets participants à l'étude, huit présentaient des caries actives en bouche lors du premier entretien, neuf présentaient des dents déjà obturées et tous avaient une ou plusieurs dents absentes en bouche. Nous n'avons pas observé d'hyposialie préexistante dans notre groupe d'étude lors de ce premier entretien. Le niveau d'hygiène bucco-dentaire était insuffisant pour cinq des onze sujets, moyen pour cinq d'entre eux et excellent pour seulement un patient. L'indice clinique initial est donc important pour neuf des onze sujets, modéré pour un des sujets et faible pour le dernier.

Les extractions ont été réalisées avant la radiothérapie et les dents cariées soignées. Certains patients ont également été appareillés.

Au cours de la radiothérapie, les patients souffrent de mucite, ce qui rend difficile les soins bucco-dentaires. L'appréciation de l'hygiène bucco-dentaire est difficile à cette période. Le risque carieux est donc réévalué trois mois après la radiothérapie (Tableau V).

L'indice clinique moyen augmente de 8,72 à 9,2 en raison de l'apparition de l'hyposialie. Huit sujets sur dix présentent un indice important et seul deux sujets présentent un indice modéré. L'indice microbiologique moyen augmente très légèrement et passe de 10,18 à 10,8. Il est important pour tous les sujets.

Cinq sujets ont développé des caries dont un a subi des extractions multiples au cours de l'étude.

Tableau IV : indice clinique, microbiologique et risque carieux avant radiothérapie

PATIENT	Indice clinique initial	Indice microbiologique initial	Risque carieux
1	4	10	important
2	12	16	important
3	12	10	important
4	8	10	important
5	10	10	important
6	8	12	important
7	12	10	important
8	2	8	moyen
9	8	8	important
10	8	6	important
11	12	12	important

Tableau V : indice clinique, microbiologique et risque carieux à la fin de l'étude

PATIENT	Indice clinique après traitement	Indice microbiologique après traitement	Risque carieux
2	8	10	important
3	8	10	important
4	10	16	important
5	10	14	important
6	6	10	important
7	10	10	important
8	6	8	important
9	12	10	important
10	8	10	important
11	14	10	important

5.5 Discussion

Notre étude porte sur un faible échantillon de population. A cela s'ajoute la perte de certains de nos patients au cours de notre étude puisque deux d'entre eux sont décédés et deux autres n'ont pas pu aller au bout de notre étude en raison de leur hyposialie. Nos résultats montrent donc une tendance et ne peuvent en aucun cas être généralisés à l'ensemble de la population étudiée ici.

Avant la radiothérapie, nos sujets ont déjà pour la plupart, un risque carieux important. Chez les personnes atteintes de cancer des voies aéro-digestives supérieures, on remarque un pH significativement plus bas (45). C'est ce que montre l'étude menée par MAIER et coll. en 1986 sur des patients souffrant d'un carcinome de la sphère oro-faciale. Ces travaux mettent en évidence un flux salivaire significativement plus bas de la glande parotide et un pH significativement plus bas par rapport au groupe de patients témoins (49).

Il faut souligner que ces patients ont bien souvent une intoxication alcoololo-tabagique de longue date. En effet, le tabac et l'alcool sont des facteurs de risque importants des cancers oro-faciaux. Chez l'alcoolique chronique, la consommation d'alcool entraîne une acidification des tissus buccaux qui peut s'accompagner d'une parotidose avec bouche sèche mais également d'une malnutrition et d'une absence d'hygiène bucco-dentaire. Parallèlement, certains de ces patients présenteraient une atrophie des glandes salivaires ou des phénomènes inflammatoires des glandes salivaires. Il en résulterait une réduction des mécanismes protecteurs de la cavité buccale et du pharynx (31, 32, 12, 48).

Ces observations concordent avec nos résultats puisque sur les onze sujets, six avaient une capacité tampon salivaire insuffisante dès le premier test. D'autre part, la majorité des patients avaient une mauvaise hygiène bucco-dentaire et des caries non soignées en bouche. Tous ces éléments permettent d'expliquer l'importance des indices cliniques observés.

La plupart des malades présentent une diminution importante de la sécrétion salivaire dès les premiers jours de traitement. Il est particulièrement difficile de collecter de la salive et, dans plusieurs cas, il nous a été impossible de recueillir la moindre quantité de liquide. Un changement typique de consistance et de couleur se produit dans la salive qui devient épaisse, visqueuse et très mousseuse. Nous avons éprouvé quelques difficultés à verser les

échantillons salivaires dans les tubes de prélèvement du fait de la consistance de la salive et du faible diamètre des tubes, qui n'est pas adapté à ce type de salive.

Il existe de nombreuses études réalisées sur les modifications de l'équilibre biologique buccal consécutives à la radiothérapie. Parmi elles, celle menée par FOIS et coll. en 1991 (30, 31) porte sur 34 malades atteints de cancers des voies aéro-digestives supérieures, devant subir une radiothérapie de la région comprenant les glandes salivaires, et 22 sujets sains qui constituent le groupe témoin. Des prélèvements salivaires ont été effectués chaque semaine, tout au long de la radiothérapie, afin de mesurer le pH salivaire, le taux de lactobacilles et le taux de lysozyme. Les résultats montrent notamment une chute du pH non significative au cours des deux premières semaines de radiothérapie. Or, nos résultats montrent que la capacité tampon de la salive tend à diminuer dès le début du traitement. La capacité tampon étant en relation avec le pH salivaire, leurs observations rejoignent donc les nôtres.

L'étude de FRANK et coll., réalisée en 1965 (32) porte sur 9 patients présentant des cancers cervicaux-faciaux. Le pH salivaire a été mesuré sur ces malades, avant, pendant la radiothérapie puis sur une période allant de deux semaines à six ans après la radiothérapie. Les résultats montrent là encore que le pH tend à diminuer au cours des premières semaines de traitement.

Les travaux de BOUTBOUL en 1971 (12), montrent également que le pH salivaire tend à baisser pendant l'irradiation. Ces observations ont été faites sur un groupe de 26 malades parmi lesquels 18 devaient subir une radiothérapie de la sphère oro-faciale. Les mesures de pH ont été prises avant traitement, un jour après le début du traitement, après une semaine de traitement puis à la fin de la cure.

D'autre part, d'après FRANK et coll. (32), le pH atteint sa valeur la plus basse deux à trois mois après la radiothérapie. De même nos résultats montrent une diminution non significative de la capacité tampon maximale trois mois après traitement.

Au cours de notre étude, nous avons observé que le nombre de lactobacilles tendait à augmenter au cours de la radiothérapie puis diminuait trois mois après la radiothérapie. Leur nombre reste cependant très élevé. On observe dès le premier test salivaire un taux très

important de lactobacilles chez l'ensemble des patients. Or, PARVINEN et LARMAS, 1981 (60), ont observé que plus le pH est bas, plus la quantité de lactobacilles est élevée. Leurs travaux portent sur la relation entre le flux salivaire, le pH buccal et la concentration de lactobacilles dans la salive. Il semblerait donc que le taux de lactobacilles chez ce type de malade soit plus élevé que dans le reste de la population. Nous n'avons cependant pas pu réaliser d'étude comparative sur des témoins.

L'étude de FOIS et coll. (1991) (31) ne montre pas de variation significative du pH et des lactobacilles pendant, et en fin de radiothérapie. Ces résultats concordent avec nos observations.

En revanche, TONG et coll., 2003 (65), ont constaté une augmentation significative du nombre de lactobacilles en fin de traitement et un mois après la radiothérapie. Leurs études portent sur l'étude des streptocoques et les lactobacilles de la flore orale, chez des patients devant subir une irradiation de la sphère oro-faciale. Elle comporte 12 malades dont la salive est analysée avant radiothérapie, immédiatement après et un mois après traitement.

Les travaux menés par LLORY et coll. en 1972 (48) sur les changements microbiologiques oraux qui suivent l'irradiation de la sphère oro-faciale, ont eux aussi révélé une augmentation significative du nombre de lactobacilles en fin de traitement et un mois après la radiothérapie. Cette étude a été réalisée sur différents groupes de patients traités pour un carcinome des voies aéro-digestives supérieures. La flore microbiologique orale a été étudiée sur un premier groupe composé de 12 individus, avant traitement radiothérapique. Les modifications microbiologiques de ces patients ont été suivies régulièrement, semaine après semaine jusqu'à la fin du traitement. Le deuxième groupe de sujets comprend 16 patients ayant subi une irradiation incluant les glandes salivaires, deux mois à quatre ans auparavant. Enfin, le dernier groupe est constitué d'individus ayant subi un traitement radiothérapique de la sphère oro-faciale deux ans avant l'étude, mais qui n'incluait pas les glandes salivaires principales, contrairement aux patients des groupes précédents. Une analyse microbiologique orale a également été effectuée pour les patients du deuxième et du troisième groupe.

Selon LLORY et coll. (1972) (48), ces changements dans la flore bactérienne buccale persistent dans le temps. Au cours de notre étude, le nombre de lactobacilles tend à diminuer trois mois après le traitement pour revenir aux valeurs initiales.

En ce qui concerne les streptocoques mutans, nous avons constaté une diminution non significative de leur nombre au cours de la radiothérapie, puis une augmentation trois mois après la radiothérapie. LLORY et coll. (1972) (48) observent une forte augmentation de leur nombre après irradiation qui serait durable dans le temps. En revanche, l'étude de TONG et coll. (2003) (65) ne montre pas d'augmentation du taux de streptocoques mutans après irradiation.

Certains paramètres ont pu influencer sur les résultats de notre étude. En effets, les lésions carieuses ont été soignées après la première consultation. Leur disparition pourrait peut être expliquer la diminution du nombre de streptocoques mutans observée au cours des tests suivants.

Parmi nos sujets, certains ont subi une chimiothérapie pré-radiothérapique qui a pu avoir eu un impact sur le milieu buccal des malades, tant au niveau de la capacité tampon de la salive qu'au niveau de la flore microbiologique (21).

D'autre part, certains patients ont reçu un traitement antibiotique au cours de leur traitement, ce qui a pu également affecter la composition de la flore buccale.

Il faut également souligner que ces patients prennent quotidiennement des bains de bouche. Bien que les tests salivaires soient effectués à distance d'au moins une heure du bain de bouche, les effets de l'agent antimicrobien dans la bouche persistent plusieurs heures après et affectent donc durablement la flore microbiologique orale (49).

FOIS et coll. (1991) (31) suggèrent la réalisation possible d'un nouvel équilibre attribué à l'emploi des bains de bouche.

Concernant la présentation de l'analyse microbiologique, l'interprétation des résultats sous forme d'indices microbiologiques a l'avantage d'être plus compréhensible pour les patients. Leur lecture est plus accessible, ce qui peut en faire un bon support de communication.

La plupart des sujets ont été intéressés par l'étude. Ces consultations ont permis de suivre les patients, de les remotiver au port de gouttières, à une hygiène bucco-dentaire stricte et parfois de dépister des lésions carieuses. Certains de ces patients avouent qu'ils n'auraient probablement pas eu de suivi dentaire au cours de cette période.

Il faut souligner que notre étude porte sur un faible échantillon de sujets, et qu'elle nécessiterait des investigations plus approfondies.

5.6 Conclusion de l'étude

Il ressort de cette étude qu'avant même de commencer leur radiothérapie, les malades ont déjà un terrain favorable à l'installation de futures caries post-radiques (faible capacité tampon, hygiène buccale médiocre). La radiothérapie va aggraver ce mauvais état bucco-dentaire par l'installation d'une hyposialie.

Par ailleurs, la motivation, élément indispensable à une bonne hygiène buccale et au port des gouttières de fluoration, fait souvent défaut à ces patients. Ces tests ont permis d'une part de les suivre sur le plan bucco-dentaire et d'autre part de leur prouver par des analyses scientifiques qu'ils étaient plus susceptibles de développer des caries et qu'ils devaient par conséquent être plus vigilants quant à leur hygiène bucco-dentaire. Bien que la motivation soit un paramètre difficile à mesurer, ces analyses ont peut être permis à certains de ces patients d'améliorer leur hygiène buccale.

L'enquête réalisée par l'Union Française pour la Santé Bucco Dentaire en 1995 sur l'expérimentation en cabinet dentaire d'une prophylaxie dentaire individualisée avec suivi, a démontré l'efficacité de ce type de prévention. Elle a également prouvé que l'utilisation des tests salivaires est particulièrement indiquée dans le cas des patients à risque, car ils permettent d'argumenter auprès du patient afin d'obtenir son adhésion au plan de prévention (40).

Or, la réussite de la prévention nécessite une collaboration active des patients. Il est nécessaire de les motiver mais également de conserver et de réactiver cette motivation

En ce qui concerne l'utilisation de ce test salivaire sur nos patients, le prélèvement salivaire est parfois long, voire impossible dans certains cas, en raison de la xérostomie. De plus, le tube contenant le prélèvement est de section étroite et il est difficile de le remplir, d'autant que la salive est de consistance épaisse et visqueuse.

D'autre part, ces tests ont un coût non négligeable et ne sont pas remboursés par la sécurité sociale.

Dans le cadre de notre étude, les tests salivaires ne permettent pas réellement un dépistage dans la mesure où il s'agit déjà d'une population à risque carieux. Les résultats microbiologiques de notre étude ne font que le confirmer puisque d'après eux, tous nos sujets sont à fort risque carieux.

Ces tests ne permettent pas non plus de proposer une thérapie ciblée puisque ces patients font déjà l'objet d'une thérapie fluorée.

Ils peuvent néanmoins être utilisés par le dentiste traitant pour contrôler l'efficacité du traitement préventif mis en place chez ces patients.

Les malades atteints de cancers des voies aéro-digestives étant bien souvent des patients à fort risque carieux avant même de commencer leur traitement radiothérapique, les tests salivaires avant puis après radiothérapie ne montreront pas d'évolution spectaculaire susceptible d'éveiller leur curiosité pour la plupart des patients. L'utilisation de ces tests dans ce but ne présente donc pas d'intérêt.

Il serait donc plus judicieux d'utiliser ces tests salivaires dans le cadre du suivi de ces patients chez leur praticien traitant. De tels tests, dans le cadre du cabinet dentaire peuvent être utilisés dans les phases de motivation puis être renouvelés afin de contrôler l'efficacité du plan de prévention et surtout remotiver le patient.

CONCLUSION

La radiothérapie est un des traitements de choix des cancers des voies aéro-digestives supérieures qui engendre cependant de nombreux effets secondaires. Le développement de caries post-radiothérapiques est à mettre en relation avec l'apparition d'une hyposialie.

En effet, la salive joue un rôle primordial dans l'équilibre biologique buccal qui va s'en trouver fortement perturbé. De nombreux tests salivaires permettent d'évaluer le risque carieux des patients. Parmi eux, Cario Analyse permet d'apprécier la capacité tampon salivaire et de mesurer la quantité de streptocoques mutans et de lactobacilles présents dans la salive, à l'aide de la PCR en temps réel. L'étude que nous avons menée au Centre Alexis Vautrin sur des patients traités par radiothérapie de la sphère oro-faciale a pour but de déterminer si l'utilisation de tests salivaires tels que Cario Analyse présente un intérêt dans le cadre du plan de prévention bucco-dentaire chez ce type de malades.

Par ailleurs, les personnes atteintes d'un cancer de la sphère oro-faciale sont souvent des patients ayant déjà un terrain favorable à l'installation de caries, avant même de commencer leur traitement. Ce constat est lié entre autre à l'intoxication éthylo-tabagique dont la plupart des malades sont atteints et qui s'accompagne bien souvent d'une mauvaise hygiène bucco-dentaire. Les résultats de notre étude sont en concordance avec ces observations.

L'objectif du chirurgien dentiste est donc d'essayer de convaincre ces patients de l'importance d'une hygiène bucco-dentaire stricte et d'un suivi régulier. Or, les habitudes sont difficiles à faire changer. Il nous faut donc un moyen de faire adhérer ces patients à notre plan de prévention. L'utilisation des tests salivaires est particulièrement indiquée dans le cas des patients à risque, car ils permettent d'argumenter afin d'obtenir leur adhésion au plan de prévention. Or, la réussite de la prévention nécessite une collaboration active des patients. Il est donc nécessaire de les motiver mais également de conserver et de réactiver cette motivation.

Les résultats de notre étude n'ont pas montré d'évolution significative des différents paramètres mesurés. D'après nos observations, l'utilisation de ces tests avant traitement ne présente pas réellement d'intérêt. Cependant, ils ont toute leur place dans le cadre du suivi de ces patients chez leur praticien traitant. Dans ce contexte, ces tests peuvent être utilisés dans les phases de motivation puis être renouvelés afin de contrôler l'efficacité du plan de prévention et surtout remotiver le patient.

Il faut pour cela que leur utilisation trouve leur place dans l'arsenal préventif du praticien. Les tests salivaires sont encore très novateurs autant pour les praticiens que pour les patients et ils présentent un coût non négligeable pour ces derniers.

Une fois ce type de prévention acceptée et reconnue, on pourrait imaginer l'introduction d'un examen de prévention dans la nomenclature des actes.

ANNEXES

Annexe 1 : Demande d'acceptation de participation à l'étude

Madame, Monsieur,

Je m'appelle Christelle JEROME et je réalise une étude sur les effets de la radiothérapie sur la flore bactérienne buccale dans le cadre de ma thèse de diplôme d'état de Docteur en chirurgie dentaire.

Mon travail consiste à prélever un peu de salive à différentes étapes du traitement de radiothérapie. Cet échantillon de salive subira ensuite une analyse microbiologique. Il est entendu que les données recueillies au cours de l'étude et les résultats de l'analyse salivaire resteront confidentiels.

Accepteriez-vous de participer à cette étude ?

En vous remerciant.

☐ Oui, j'accepte de participer à l'étude

☐ Non, je refuse de participer à l'étude

Fait à Nancy, le

Nom :

Prénom :

Signature :

Annexe 2 : Questionnaire initial

QUESTIONNAIRE

Date :

Nom :

Prénom :

Age :

Sexe :

Début du traitement :

Fin du traitement :

Dose d'irradiation au niveau des glandes salivaires :

Temps écoulé entre le dernier repas et le prélèvement de salive :

Temps écoulé entre le dernier brossage et le prélèvement de salive :

Le patient a-t-il reçu un traitement antibiotique moins de deux semaines avant le prélèvement de salive :

Hygiène bucco-dentaire : satisfaisante moyenne insuffisante

Habitudes alimentaires à risque :

Etat dentaire initial :

18 17 16 15 14 13 12 11 21 22 23 24 25 26 27 28

48 47 46 45 44 43 42 41 31 32 33 34 35 36 37 38

Les dents cariées ou obturées sont entourées

Les dents absentes sont barrées

Indice de l'analyse clinique :

Annexe 3 : Présentation de l'analyse microbiologique



RESULTAT CARIO-ANALYSE

Chirurgien-Dentiste : Centre ALEXIS VAUTRIN – VANDOEUVRE LES NANCY

Fax : 03 83 59 85 72

Email : ch.jerome@laposte.net

Tel :

Référence Analyse : C02963

Patient :

N° Sécurité Sociale

--	--	--	--	--	--	--

Date de Prélèvement

08	01	2007
----	----	------

1) Mesure de la capacité tampon de la salive

Capacité tampon de la salive	Calcul de l'indice microbiologique *
Moyenne	(2)

2) Quantification des bactéries cariogènes par PCR en temps réel

Nom des bactéries	Nombre de bactéries par ml de salive	% par rapport à la flore totale	Risque carieux	Calcul de l'indice microbiologique *
Flore totale	6,7x10 ⁸ bactéries	100%	-	
<i>Lactobacillus spp.</i>	2,0x10 ⁶ bactéries	0,30%	très élevé	(6)
<i>Streptococcus mutans</i>	< 10 ² bactéries	-	faible	(0)

* Se reporter aux tableaux d'appréciation du risque carieux

Total Indice microbiologique *	8 Indice important
---------------------------------------	------------------------------

Les niveaux de risque carieux pour *Streptococcus mutans* :

Risque faible : < 10⁴ *Streptococcus mutans*/ml de salive
Risque modéré : 10⁴ ≤ *Streptococcus mutans* /ml de salive < 10⁶
Risque élevé : 10⁶ ≤ *Streptococcus mutans* /ml de salive < 10⁸
Risque très élevé : ≥ 10⁸ *Streptococcus mutans* /ml de salive

Les niveaux de risque carieux pour *Lactobacillus spp.* :

Risque faible : < 10⁴ *Lactobacillus spp.*/ml de salive
Risque modéré : 10⁴ ≤ *Lactobacillus spp.*/ml de salive < 10⁵
Risque élevé : 10⁵ ≤ *Lactobacillus spp.*/ml de salive < 10⁸
Risque très élevé : ≥ 10⁸ *Lactobacillus spp.*/ml de salive

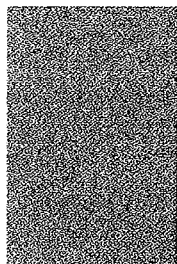
Dr. Sophie Couturier,
Chirurgien Dentiste

Dr. Franck Chaubron,
Biologiste Moléculaire

Aucune duplication même partielle et/ou publication du rapport d'essai ne pourra être réalisée sans une autorisation écrite de l'Institut Clinident.

INSTITUT CLINIDENT
SAS au capital de 40 002 Euros
Siège social : Biopôle Clermont-Limagne 63 360 Saint- Beuzire
Tel/Fax : 33 4 73 17 83 77
R.C.S. : Riom 449 453 711 Siret 449453 711 00011/ NAF 731Z

Annexe 4 : Appréciation du risque carieux



CARIO ANALYSE

Contribution des analyses microbiologiques
à l'appréciation du risque carieux

1- Observations cliniques		
Hyposalivie	Non	(0)
	Moderée	(2)
	Sévère	(4)
Hygiène bucco-dentaire	Excellente	(0)
	Moyenne	(2)
	Insuffisante	(4)
Comportement alimentaire	Normal	(0)
	A risque	(2)
Facteurs caries	Caries actives	(6)
	Caries soignées	(2)
	Incidence familiale	(2)
Traitement orthodontique	Non	(0)
	Oui	(2)
TOTAL		

2- Analyse microbiologique		
Streptococcus mutans	< 10 ⁴	(0)
	10 ⁴ < < 10 ⁵	(2)
	10 ⁵ < < 10 ⁶	(4)
	≥ 10 ⁶	(6)
Lactobacillus spp.	< 10 ⁴	(0)
	10 ⁴ < < 10 ⁵	(2)
	10 ⁵ < < 10 ⁶	(4)
	≥ 10 ⁶	(6)
Capacité tampon	Bonne	(0)
	Moyenne	(2)
	Insuffisante	(4)
TOTAL		

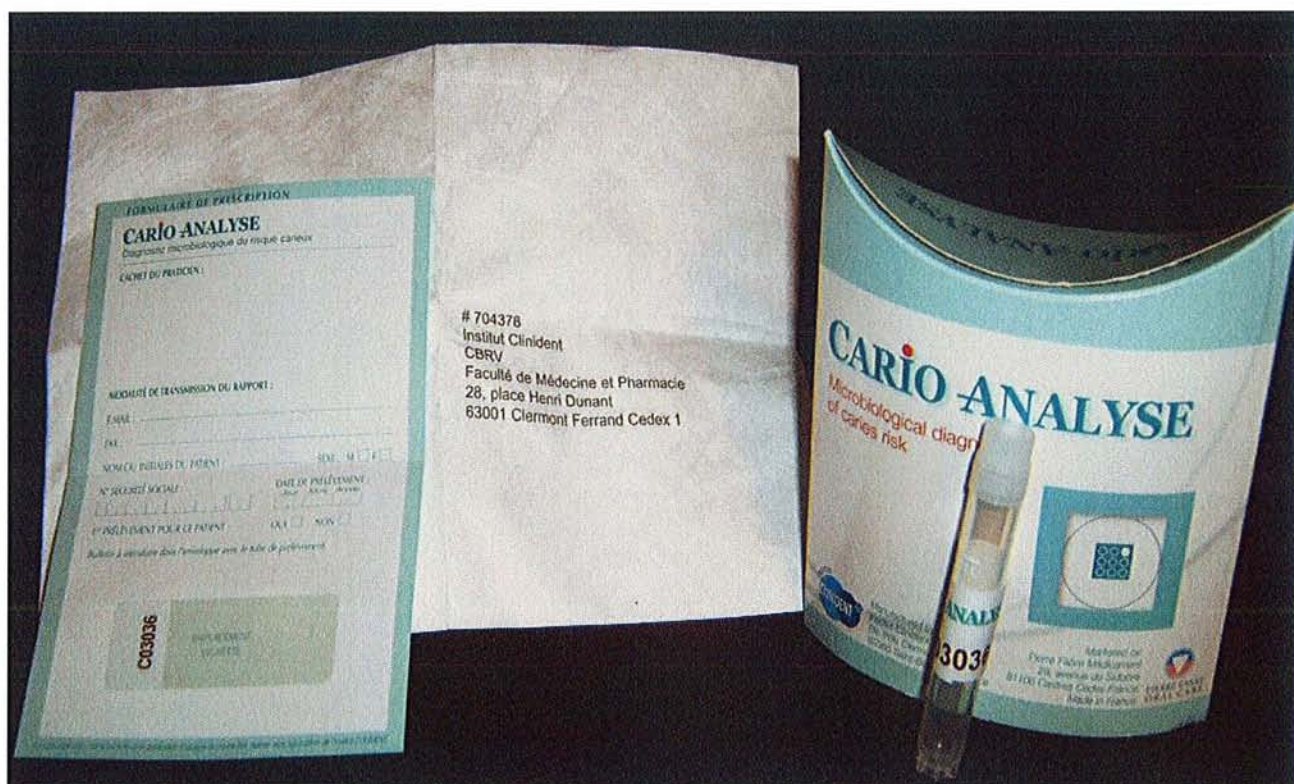
INDICE FAIBLE < 4
4 ≤ INDICE MODÉRÉ < 8
INDICE IMPORTANT ≥ 8

INDICE FAIBLE < 4
4 ≤ INDICE MODÉRÉ < 8
INDICE IMPORTANT ≥ 8

Appréciation du risque carieux

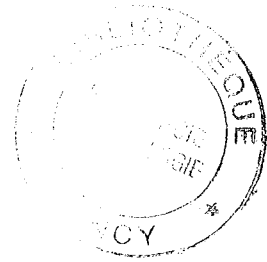
	Risque carieux	Analyse microbiologique		
		Indice faible	Indice modéré	Indice important
Observations cliniques	Indice faible	FAIBLE	MOYEN	MOYEN
	Indice modéré	FAIBLE	MOYEN	ÉLEVÉ
	Indice important	MOYEN	ELEVÉ	ÉLEVÉ

Annexe 5 : Présentation du système Cario-Analyse :



BIBLIOGRAPHIE

1) ALBERT S., BOZEC H.
ORL et chirurgie maxillo-faciale.
Paris : Ellipses, 2002, 283p.



2) ALMSTÄHL A., WILKSTRÖM M., GROENINK J.
Lactoferrin, amylase and mucin MUC5B and their relation to the oral microflora in
hyposalivation of different origins.
Oral Microbiol. Immunol., 2001, 16, 345-352.

3) ALMSTÄHL A., WILKSTRÖM M., STENBERG I et al.
Oral microbiota associated with hyposalivation of different origins.
Oral Microbiol. Immunol., 2003, 18, 1-8.

4) ANTONIUS W.T, KONINGS Ph.D., ROB P. et al.
On the mechanism of salivary gland radiosensitivity.
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 62, 4, 2005, 1187-1194.

5) AXELSSON. P.
Risk prediction and preventive dentistry.
Quintessence Publishing Co, Inc, 1999, 556p.

6) BERTOIN P., BAUDET-POMMEL M., ZATTARA H., GOURMET R.
Les lésions précancéreuses et cancéreuses de la muqueuse buccale.
Collection des abrégés d'odontologie et stomatologie.
Carol Stream : Quintessence, 1995, 243p.

7) BLIQUE M.

Description d'un nouveau test salivaire.

Inf. Dent., 1998, 80, 30, 2119-2123.

8) BOUE C., BOUE D.

Les bactéries cariogènes, données épidémiologiques.

Rev. Pédiat. Fr., 1984, 18, 275-280.

9) BORNSTEIN M., BUSER D., FILIPPI A.

Concept de prophylaxie et de traitement des effets secondaires de la radiothérapie de la région cervico-faciale.

Schweiz. Monatsschr. Zahnmed., 2001, 3, 962-977.

10) BORNSTEIN M., BUSER D., FILIPPI A.

Radiothérapie de la région cervico-faciale : conséquences précoces et tardives.

Inf. Dent., 2001, 34, 2716-2729

11) BOROWSKI B.

Les soins bucco-dentaires du malade cancéreux.

Paris : Masson, 1985, 151p.

12) BOUTBOUL F.

Radiotherapy and salivary pH- experimental animal studies and observations in man.

Rev. Mens. Suisse Odonto-stomatol., 1971, 81, 7387-7447.

13) BOY-LEFEVRE M.L

Microbiologie orale et son rôle étiologique. La pathologie carieuse.

Inf. Dent., 1992, 74, 44, 4135-4138.

14) BRATTHALL D., SERINIRACH R., HAMBERG K.

Immunoglobuline A reaction to oral streptococci in saliva of subjects with different combination of caries and levels of mutans streptococci.

Oral Microbiol. Immunol., 1997, 12, 212-218.

15) BROWN L.R., WHITE I., HORTON S.

Effect of continuous fluoride gel use on plaque fluoride retention and microbial activity.

J. Dent. Res., 1983, 62, 6, 746-751.

16) BRUGERE J.

La mandibule en cancérologie.

Actualités de carcinologie cervico-faciale.

Paris : Masson, 1995, 114p.

17) CHARDIN H., BARSOTTI O.

Microbiologie en odonto-stomatologie.

Paris : Maloine, Paris, 2006, 172p.

18) CHEN B.Y., JANES H.W.

PCR cloning protocols. Methods in Molecular Biology, 2nd ed.

Totowa: Humana Press, 2002, 439p.

19) CHEVALLIER C.

Enquête épidémiologique au CSERD de Reims de la population âgée de 6 à 13 ans : intérêts et limites des tests salivaires-151f.

Thèse 2^{ème} cycle de chirurgie dentaire : Reims : 1998.

20) Concepts cliniques en dentisterie préventive, réalité clinique.
Paris : SNPMD, 2001, 172p.

21) COPPES R.P., ZEILSTRA L.J.W.
Radiation induced cell loss in rat submandibular gland and its relation to gland function.
Int. J. Radiat. Biol., 2000, 76, 419-429.

22) COQUELET G.
Chimiothérapie anticancéreuse et odontologie-214f.
Thèse 2^{ème} cycle de chirurgie dentaire : Nancy 1 :1992.

23) COULY G.
Anatomie maxillo faciale : 25 questions pour la préparation des examens et concours, 2nd
ed.
Paris CDP, 1989, 193p

24) DARCHIEN M.L, BOUCHONNEAU M.
Physiopathologie salivaire, biochimie de la salive.
Inf. Dent., 1983, 65, 5, 381-393.

25) DELAMARE J.
Dictionnaire des termes de médecine.
Paris : Maloine, 1999, 973p.

26) DUPIN J.P.
Test salivaire et risque carieux : une aide à la communication.
Clinic, 2004, 25, 8, 507-508.

27) EPSTEIN JB., GORSKY M., GUGLIETTA A

The correlation between epidermal growth factor levels in saliva and the severity of oral mucositis during oropharyngeal radiation therapy.

Cancer, 2000, 89, 11, 2258-2265.

28) EPSTEIN J., MACBRIDE B., STEVENSON-MOORE P., MERILEES H.

The efficacy of chlorhexidine gel in reduction of streptococcus mutans and lactobacillus species in patients treated with radiation therapy.

Oral Surg. Oral Med. Pathol., 1991, 71, 172-178.

29) FAUCHIER P., DAVID P.

La salive. Etude clinique et biologique.

Paris : Biologistes et Praticien, s.d., 110p.

30) FOIS A.M, POURQUIER M., BOUISSON A.M.

Etude du pH et du lysozyme salivaire au cours de la radiothérapie oro-pharyngée.

J. Biol. Buccale, 1990, 18, 169-175.

31) FOIS A.M, POURQUIER M., BOUISSON A.M.

Effets immédiats de l'irradiation de la sphère oro-faciale sur le pH et les lactobacilles salivaires.

Actual. Odonto-Stomatol., 1991, 173, 131- 142.

32) FRANCK R.M, HERDLYS J.

Post radiotherapy dental dystrophies and salivary glands.

Actual. Odontostomatol., 1965, 70, 129-155.

33) FRANZEN L., FUNEGARD U., ERICSON T.

Parotid gland function during and following radiotherapy of malignancies in the head and neck. A consecutive study of salivary flow and patient discomfort.

Eur. J. Cancer, 1992, 28, 2-3, 457-62.

34) HAJJ G., EL TOUM S.

La sécheresse buccale. Etiologie et examens salivaires.

Actual. odonto-stomatol., 1998, 204, 517-526.

35) HENNEQUIN M.

Dynamique du processus carieux initial.

Réal. Clin., 1999, 10, 4, 483-501.

36) IMFELD T.

Cariogenicity tests.

Adv. Dent. Res., 1994, 8, 2, 225-228.

37) INSTITUT CLINIDENT.

Dossier cario-analyse de Pierre Fabre

Castres : Pierre Fabre, 2006, non paginé.

38) JELLEMA A.P., DOORNAERT P., SLOTMAN B.J.

Does radiation dose to salivary glands and oral cavity predict patient-rated xerostomia and sticky saliva in head and neck cancer patients treated with curative radiotherapy ?

Radiother. Oncol., 2005, 24, 164-171.

39) JENKINS S., ADDY M., WAIDE W., NEWCOMBE R.G.

The magnitude and duration of the effects of some mouthrinse products on salivary bacterial counts.

J. Clin. Periodontol, 1994, 397-401.

40) JOUBERT NOIRRI L.

Les tests salivaires. Enquête U.F.S.B.D.

Inf. Dent., 78, 37, 2841-2844.

41) JOYSTON-BECHAL, HAYES, DAVENPORT S., HARDIE M.

Caries incidence, mutans streptococci and lactobacilli in irradiated patients during a 12-month preventive programme using chlorhexidine and fluoride.

Caries Res., 1992, 26, 384-390.

42) KONIGS A.W., COTTLER F., FABER H.

Volume effects and region dependent radiosensitivity of the parotid gland.

Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 2005, 62, 4, 1090-1095.

43) LAUDENBACH P., BADER G.

Les méfaits de l'éthylisme en odontostomatologie. Dossier.

Actual. Odontostomatol., 1976, 115, 435-473.

44) LAGERLOF F.

La salive : une protection naturelle contre la carie.

Rev. Belge Méd. Dent., 1998, 53, 4, 337-348

45) LECOINTRE C., AUPOIS R.

Alcoolisme chronique et odontostomatologie.

Inf. Dent., 1978, 60, 43, 45-58.

46) LEGRAS B.

Eléments de statistique.

Paris : Ellipses, 1998, 233p.

47) LEZY J.P., PRINC G.

Pathologie maxillo-faciale et stomatologie 3^{ème} ed.

Paris : Masson, 2004, 250p.

48) LLORY H., DAMMRON A.

Some population changes in oral anaerobic microorganisms, streptococcus mutans and yeast following irradiation of salivary glands.

Caries. Res., 1972, 6, 4, 298-311.

49) MAIER H., BORN I.A., VEITH S., ADLER D.

Limited function of the large salivary glands of the head. A new aspect for the etiopathogenesis of cancers of the oral cavity, oropharynx and hypopharynx.

Laryngol. Rhinol. Otol., 1986, 65, 4, 195-200.

50) McBAIN A., BARTOLO R.G., CATRENICH C.E.

Effects of a chlorhexidine gluconate- containing mouthwash on the vitality and antimicrobial susceptibility of in vitro oral bacterial ecosystems.

Appl. Environ. Microbiol., 2003, 8, 69, 4770-4776.

51) MAFTAH A., JULIEN R.

Biologie moléculaire, 2nd ed.

Paris : Dunod, 2000, 370p.

52) MAIRE F.

Prophylaxie des complications dentaires dues à la radiothérapie.

Protocole du Centre Alexis Vautrin.

Nancy : Centre Alexis Vautrin, 2006, 2p.

53) MATSUMOTO Y., SUGIHARA N., KOSEKI M., MAKI Y.

A rapid and quantitative detection system for *Streptococcus mutans* in saliva using monoclonal antibodies

Caries Res., 2006, 40, 15-19.

54) MORITA E., NARIKIYO M., YANO A., TANABE C.

Molecular analysis of age- related changes of *Streptococcus anginosus* group and *Streptococcus mitis* in saliva.

Oral Microbiol. Immunol., 2004, 19, 386-389.

55) MOSS .J.

Les nouvelles frontières de la prévention : concepts et implications cliniques.

Odontologia, 1997, 18, 9, 544-545.

56) MOTISUKI C., MONTI LIMA L., PALOMARI SPOLIDORIO M.

Influence of sample type and collection method on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. counts in the oral cavity.

Arch. Oral. Biol., 2005, 3, 50, 341-345.

57) MOUTON C., ROBERT J.C.

Bactériologie bucco-dentaire.

Paris : Masson, 1994, 245p.

58) MELTZER S. J.

PCR in bioanalysis

Totowa: Humana Press, 1998, 413p.

59) NAGLER R.M., BAUM B.J.

A 2 week pair fed study of early X-irradiation effects on rat major salivary gland function.

Arch. Oral Biol., 1996, 41, 713-717.

60) PARVINEN T., LARMAS M.

The relation of stimulated salivary flow rate and pH to lactobacillus and yeast concentration in saliva.

J. Dent. Res., 1981, 60, 12, 1929-1935.

61) RUPF S., KNEIST S., MERTE K., ESCHRICH K.

Quantitative determination of Streptococcus mutans by using competitive polymerase chain reaction.

Eur J Oral Sci, 1999, 107, 75-81.

62) TENUOVO J.

Salivary parameters of relevance for assessing caries activity in individuals and populations.

Comm. Dent. Oral Epidemiol, 1997, 25, 82-86.

63) SULKI T.K, KNUTTILA M.L., LAARA E.

The association of yeast and denture stomatitis with behavioral and biologic factors.
Oral. Surg. Oral Med. Oral Radiol. Endod., 1997, 84, 6, 624-629.

64) TETSUO H., YASUSHI K., HIDEAKI K. et al.

Effect of radiotherapy on the levels of secretory immunoglobulin A against indigenous and virulent streptococci.
Otolaryngol. Head Neck Surg., 1997, 433-437.

65) TONG HC., GAO XG., DONG XZ.

Non mutans streptococci in patients receiving radiothérapie in the head and the neck area.
Caries Res., 2003, 30, 261-266.

66) TRILLER M.

Apport des tests salivaires dans le diagnostic, le pronostic et la prévention de la carie.
Réal. Clin., 1993, 4, 3, 329-341.

67) VAN HOUTE J.

Microbiological predictors of caries risk
Adv. Dent. Res., 1993, 7, 2, 87-96.

68) VIS S.

Compliance des patients irradiés au port de la gouttière de fluoruration et influence sur la carie dentaire-107p.
Thèse 2^{ème} cycle de chirurgie dentaire : Lille 2 : 2004.

69) VISSINK A., JANSMA J.

Oral sequelae of head and neck radiotherapy.

Crit. Rev. Oral Biol. Med., 2003, 14, 199-212.

70) WEI S.H.Y.

Les utilisations cliniques des fluorures : un bilan des connaissances sur les utilisations cliniques des fluorures en odontologie clinique.

Paris : J. Libbey, 1986, 243p.

71) WODA A.

Abrégé de physiologie oro-faciale.

Paris : Masson, 1983, 290p.

72) ZYAN M., JIARO L., BIN P. et al.

The persistence of streptococcus mutans in nasopharyngeal carcinoma patients after radiotherapy.

Caries Res., 2005, 39, 484-489.

73) www.ens-lyon.fr/RELIE/PCR/principe/principe.htm

Principe de la PCR

Sept. 2006.

74) www.genethon.fr/pdf/fr/taqman.pdf

La PCR quantitative en temps réel ou la "Taqman".

Sept. 2006.

JEROME (Christelle). Etude expérimentale du test salivaire Cario Analyse sur des patients subissant une radiothérapie de la sphère oro-faciale.

Th. : Chir-Dent. : Nancy-1 : 2007

MOTS CLES: Tests salivaires.

Risque carieux.

Radiothérapie.

Caries.

Xérostomie.

JEROME (Christelle) : Etude expérimentale du test salivaire Cario Analyse sur des patients subissant une radiothérapie de la sphère oro-faciale.

Th. : Chir-Dent : Nancy-1 : 2007

La radiothérapie de la sphère oro faciale entraîne une xérostomie qui est responsable d'une augmentation du risque carieux. L'étude que nous avons menée au Centre Alexis Vautrin sur des patients traités par radiothérapie, a pour objet l'analyse microbiologique de la salive de patients traités par radiothérapie, à l'aide des tests salivaires Cario Analyse. Le but de notre travail est de discuter de l'intérêt de l'utilisation de tests salivaires dans le cadre de la prévention bucco-dentaire chez le patient irradié.

JURY :

M. J.P. LOUIS

M. F. MAIRE

M. J. SCHOUVER

M. M. WEISSENBACH

Professeur des Universités

Docteur en Chirurgie Dentaire

Maître de Conférences des Universités

Maître de Conférences des Universités

Président

Juge

Juge

Juge

Adresse de l'auteur :

JEROME Christelle

110 rue Saint Dizier - Nancy

FACULTE D'ODONTOLOGIE

Jury : Président : J.P LOUIS – Professeur des Universités
Juges : F. MAIRE – Docteur en Chirurgie Dentaire
J. SCHOUVER – Maître de Conférences des Universités
M. WEISSENBACH – Maître de Conférences des Universités

Thèse pour obtenir le diplôme D'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire

présentée par: Mademoiselle JEROME Christelle, Stéphanie

né(e) à: METZ (Moselle)

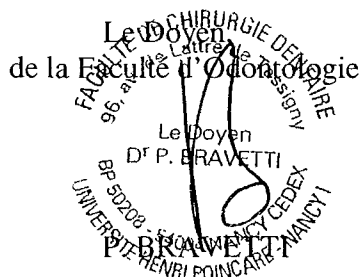
le 14 mars 1981

et ayant pour titre : «Etude expérimentale du test salivaire cario analyse sur des patients subissant une radiothérapie de la sphère oro-faciale.»

Le Président du jury,



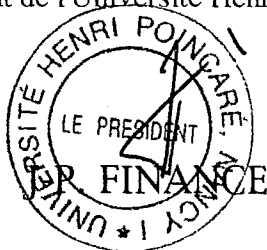
J.P LOUIS



Autorise à soutenir et imprimer la thèse

NANCY, le 3 MAI 1981

Le Président de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I



JEROME (Christelle). Etude expérimentale du test salivaire Cario Analyse sur des patients subissant une radiothérapie de la sphère oro-faciale.

Th. : Chir-Dent. : Nancy-1 : 2007

MOTS CLES: Tests salivaires.
Risque carieux.
Radiothérapie.
Caries.
Xérostomie.

JEROME (Christelle) : Etude expérimentale du test salivaire Cario Analyse sur des patients subissant une radiothérapie de la sphère oro-faciale.

Th. : Chir-Dent : Nancy-1 : 2007

La radiothérapie de la sphère oro faciale entraîne une xérostomie qui est responsable d'une augmentation du risque carieux. L'étude que nous avons menée au Centre Alexis Vautrin sur des patients traités par radiothérapie, a pour objet l'analyse microbiologique de la salive de patients traités par radiothérapie, à l'aide des tests salivaires Cario Analyse. Le but de notre travail est de discuter de l'intérêt de l'utilisation de tests salivaires dans le cadre de la prévention bucco-dentaire chez le patient irradié.

JURY :

<u>M. J.P. LOUIS</u>	<u>Professeur des Universités</u>	<u>Président</u>
<u>M. F. MAIRE</u>	<u>Docteur en Chirurgie Dentaire</u>	<u>Juge</u>
M. J. SCHOUVER	Maître de Conférences des Universités	Juge
M. M. WEISSENBAACH	Maître de Conférences des Universités	Juge

Adresse de l'auteur :

JEROME Christelle
110 rue Saint Dizier - Nancy