



HAL
open science

Biomarqueurs de la salive et santé générale

Yahya Trigui

► **To cite this version:**

Yahya Trigui. Biomarqueurs de la salive et santé générale. Sciences du Vivant [q-bio]. 2018. hal-01932178

HAL Id: hal-01932178

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01932178v1>

Submitted on 23 Nov 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-thesesexercice-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>

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Par

Yahya TRIGUI

Né le 02 octobre 1990 à Dijon (21)

BIOMARQUEURS DE LA SALIVE ET SANTE GENERALE

Présentée et soutenue publiquement le :

Vendredi 9 Février 2018

Examineurs de la thèse :

| | | |
|----------------------|--|-------------------|
| Pr. C. STRAZIELLE | Professeur des Universités | Président |
| <u>Dr. C. BISSON</u> | <u>Maître de Conférences des Universités</u> | <u>Directrice</u> |
| Dr. B. PHULPIN | Maître de Conférences des Universités | Juge |
| Dr. L. ROCCHI | Docteur en Chirurgie Dentaire | Juge |

*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.*

Président : Professeur Pierre MUTZENHARDT
Doyen : Professeur Jean-Marc MARTRETTE
Vice-Doyens : Dr Céline CLEMENT – Dr Rémy BALTHAZARD – Dr Anne-Sophie VAILLANT

Membres Honoraires : Dr L. BABEL – Pr. S. DURIVAUX – Pr A. FONTAINE – Pr G. JACQUART – Pr D. ROZENCWEIG - Pr ARTIS - Pr M. VIVIER

Doyens Honoraires : Pr J. VADOT, Pr J.P. LOUIS

Professeur émérite : Pr M-P FILLEUL

| | | |
|--|----------------------------------|---|
| Département Odontologie pédiatrique Sous-section 56-01 | Mme <u>DROZ Dominique</u> | Maître de Conférences * |
| | Mme JAGER Stéphanie | Maître de Conférences * |
| | M. PREVOST Jacques | Maître de Conférences |
| | Mme HERNANDEZ Magali | Maître de Conférences Associée * |
| | M. LEFAURE Quentin | Assistant |
| | M. MERCIER Thomas | Assistant * |
| Département Orthopédie dento-faciale Sous-section 56-01 | Mme DARSAT Claire | Assistante* |
| | M. <u>EGLOFF Benoît</u> | Maître de Conférences * |
| | Mme GREGOIRE Johanne | Assistante |
| Département Prévention, épidémiologie, économie de la santé, odontologie légale Sous-section 56-02 | Mme LAWTON Mathilde | Assistante |
| | Mme <u>CLÉMENT Céline</u> | Maître de Conférences * |
| Département Parodontologie Sous-section 57-01 | M. BAUDET Alexandre | Assistant * |
| | Mme NASREDDINE Greyce | Assistante |
| | M. <u>AMBROSINI Pascal</u> | Professeur des Universités * |
| | Mme BISSON Catherine | Maître de Conférences * |
| | M. JOSEPH David | Maître de Conférences * |
| | M. PENAUD Jacques | Maître de Conférences |
| | M. LACH Patrick | Assistant |
| | Mme MAYER-COUPIN Florence | Assistante |
| Département Chirurgie orale Sous-section 57-01 | Mme PAOLI Nathalie | Enseignante univ. – Praticien attachée* |
| | Mme <u>GUILLET-THIBAUT Julie</u> | Maître de Conférences * |
| | M. BRAVETTI Pierre | Maître de Conférences |
| | Mme PHULPIN Bérengère | Maître de Conférences * |
| | M. CLERC Sébastien | Assistant* |
| Département Biologie orale Sous-section 57-01 | M. HASNAOUI Nasr | Assistant |
| | Mme KICHENBRAND Charlene | Assistante * |
| | M. <u>YASUKAWA Kazutoyo</u> | Maître de Conférences * |
| Département Dentisterie restauratrice, endodontie Sous-section 58-01 | M. MARTRETTE Jean-Marc | Professeur des Universités * |
| | Mme EGLOFF-JURAS Claire | Assistante* |
| | M. <u>MORTIER Éric</u> | Maître de Conférences * |
| | M. AMORY Christophe | Maître de Conférences |
| | M. BALTHAZARD Rémy | Maître de Conférences * |
| | M. ENGELS-DEUTSCH Marc | Maître de Conférences |
| | M. VINCENT Marin | Maître de Conférences* |
| | Mme GEBHARD Cécile | Assistante |
| | M. GEVREY Alexis | Assistant |
| M. GIESS Renaud | Assistant * | |
| Département Prothèses Sous-section 58-01 | M. <u>DE MARCH Pascal</u> | Maître de Conférences |
| | M. SCHOUVER Jacques | Maître de Conférences |
| | Mme VAILLANT Anne-Sophie | Maître de Conférences * |
| | Mme CORNE Pascale | Maître de Conférences Associée * |
| | M. CIESLAK Steve | Assistant |
| | M. GILLET Marc | Assistant |
| | M. HIRTZ Pierre | Assistant * |
| | M. KANNENGIESSER François | Assistant |
| | Mme MOEHREL Bethsabée | Assistante* |
| M. VUILLAUME Florian | Assistant | |
| Département Fonction-dysfonction, imagerie, biomatériaux Sous-section 58-01 | Mme <u>STRAZIELLE Catherine</u> | Professeur des Universités * |
| | Mme MOBY (STUTZMANN) Vanessa | Maître de Conférences * |
| | M. SALOMON Jean-Pierre | Maître de Conférences |
| | Mme KARKABA Alaa | Assistante Associée |

Souligné : responsable de département

* temps plein

Mis à jour le 17/11/2017

REMERCIEMENTS

À NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE,

Madame le Professeur STRAZIELLE Catherine,

Docteur en Chirurgie Dentaire,

Docteur en Neurosciences

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Responsable de la sous-section : Sciences Anatomiques et Physiologiques,

Occlusodontiques, Biomatériaux, Biophysiques, Radiologie.

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider le jury de notre thèse.

Nous vous remercions pour vos qualités pédagogiques et humaines que nous avons pu apprécier durant toutes nos années d'études.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de notre vive reconnaissance et de notre profond respect.

A NOTRE JUGE ET DIRECTRICE DE THESE

Madame le Docteur Catherine BISSON

Docteur en Chirurgie dentaire

Docteur de l'Université de Lorraine

Maître de conférence des Universités – Praticien Hospitalier

Sous-section : Parodontologie

Vous nous avez fait l'honneur de diriger ce travail et de nous guider avec intérêt et attention tout au long de son élaboration.

Vos conseils et votre disponibilité nous ont permis de mener à bien sa réalisation.

Nous avons su apprécier tout au long de notre cursus universitaire la qualité de vos enseignements théoriques et cliniques des plus enrichissants.

Veillez trouver dans cette thèse l'expression de nos remerciements les plus sincères et de notre profonde reconnaissance.

A NOTRE JUGE,

Madame le Docteur Bérangère Phulpin

Docteur en chirurgie dentaire

Maître de Conférences Universitaire Associé

Sous-section : Chirurgie Buccale, Pathologie et Thérapeutique, Anesthésiologie et Réanimation

Nous vous remercions pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous acceptez de faire partie de ce jury de thèse.

A travers ce travail, veuillez trouver l'expression de notre gratitude et de notre plus profond respect.

A NOTRE JUGE,

Madame le Docteur Léa ROCCHI

Docteur en Chirurgie Dentaire

Nous vous remercions pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous acceptez de faire partie de ce jury de thèse.

A travers ce travail, veuillez trouver l'expression de notre gratitude et de notre plus profond respect.

A Toi, ma reconnaissance est éternelle, j'espère rester fidèle à tes enseignements. Je te demande Ton amour, l'amour de ceux qui t'aiment et l'amour de l'action qui me fera accéder à Ton amour.

A mes parents, à Mamma qui sans l'amour et le dévouement d'une mère exemplaire je ne serai ce que je suis et à Abi dont la persévérance et les sacrifices au service du succès de ses enfants sont inestimables et que je remercie pour sa confiance en moi que j'espère mériter pour tous mes futurs projets. Je vous aime.

A ma famille, Oussema, mon grand frère, mon modèle, celui qui m'a toujours élevé auprès de lui, intégré et éduqué. A ton épouse Imane, qu'ensemble vous continuez sur le chemin du bonheur déjà rempli par la magnifique Alya, ma nièce que j'aime et je vous aime.

Firdaous, petite ou grande sœur ? Tu as toujours pris soin de moi depuis ta tendre enfance, j'espère que je te le rends de la meilleure des manières. J'ai confiance en la femme que tu deviens, je t'aime

Sarah, notre bébé. Tu grandis bien vite, pleine de ressources, je sais que quelquefois je t'en demande beaucoup, pourtant tu apprends vite et continue à te dépasser, je suis fier de toi, je t'aime.

A mes compagnons de route, je suis heureux d'être aussi bien entouré, il est difficile d'être exhaustif, mais je remercie chacun d'être intervenu dans ma vie et m'excuse auprès de ceux que je n'ai pas pu citer, ils se reconnaîtront. Ceux de mon enfance : Ilyas, Yassine, Sophia, Sener, Tim. Ceux de ma promotion: Rachid, Amel, Mélissa, Ayyoub, Yassine, Lina, Yala, Logan, Toufic, Léa et Julie. Ceux d'EMF, de l'OMAS. Ceux de la résidence : Sarah I, Sarah B, Enda, Malika. Sans oublier mes frères et sœurs de cœur, Mohammed, Housseem, Nadine pour ne citer qu'eux. Il y a tellement d'autres personnes exceptionnelles autour de moi, rencontrés lors de voyages, de séminaires, d'expériences professionnelles. Vous êtes aussi dans mon cœur.

A Oussama, parti subitement. Tant de souvenirs et moments passés, j'espère honorer ta mémoire.

La Salive : Biomarqueurs de la salive et santé générale

Sommaire

| | |
|--|-----------|
| Liste des Abréviations | 14 |
| Liste des Figures | 15 |
| Liste des Tableaux | 16 |
| Introduction..... | 17 |
| Partie 1 : Généralités | 18 |
| 1- Les glandes salivaires | 18 |
| 1.1 - Anatomie des glandes salivaires | 18 |
| 1.2 - Vascularisation des glandes salivaires..... | 20 |
| 1.3 - Innervation des glandes salivaires | 20 |
| 2 - La Salive..... | 22 |
| 2.1 - Définition | 22 |
| 2.2- Principales caractéristiques physico-chimiques de la salive | 23 |
| 2.2.1 - Densité et pression osmotique..... | 23 |
| 2.2.2 - Viscosité | 23 |
| 2.2.3 - pH | 24 |
| 2.2.4 - Potentiel d'oxydoréduction | 24 |
| 2.2.5 - Température | 24 |
| 2.3 - Composition de la salive | 24 |
| 2.3.1 - Constituants inorganiques | 25 |
| 2.3.2 - Constituants organiques | 27 |
| 2.3.3 - Compartiment microbien..... | 33 |
| 2.3.4 - Compartiment cellulaire | 33 |
| 2.4 - Organisation macromoléculaire..... | 33 |

| | |
|--|-----------|
| 2.5 - Sécrétion : mécanisme et contrôle | 34 |
| 2.5.1 - Formation de la salive | 34 |
| 2.5.2 - Contrôle de la sécrétion | 35 |
| 2.6 - Rôles de la salive | 36 |
| 2.6.1- Fonction protectrice | 37 |
| 2.6.2 - Maintien de l'intégrité des tissus dentaires et du milieu | 37 |
| 2.6.3 - Rôle dans l'alimentation | 37 |
| 2.7 - Débit salivaire..... | 39 |
| 2.7.1 - Fonctionnement général | 39 |
| 2.7.2 - Modifications d'origine pathologique et iatrogène | 39 |
| Partie 2 : Les biomarqueurs de la santé générale dans la salive | 41 |
| 1 - La salive, source de biomarqueurs..... | 41 |
| 1.1 - Potentiel de la salive | 41 |
| 1.2 - Les biomarqueurs | 42 |
| 1.3 - Collection des échantillons salivaires | 42 |
| 1.3.1 – Collection des différentes salives | 43 |
| 1.3.2 - Critères de choix..... | 45 |
| 1.3.3 - Collecte des échantillons | 46 |
| 1.4 - Les champs d'investigation salivaires : Les salivaomics | 48 |
| 1.4.1 - Le protéome..... | 49 |
| 1.4.2 - Le génome, le transcriptome | 51 |
| 1.4.3 - Le métabolome | 52 |
| 1.4.4 - Le microbiome | 53 |
| 1.4.5 - L'immunologie salivaire..... | 54 |
| 2 - Les biomarqueurs de la santé générale dans la salive..... | 56 |
| 2.1 - Maladies infectieuses et parasitaires | 56 |
| 2.1.1 - Maladies virales | 56 |

| | |
|--|----|
| 2.1.2 - Maladies infectieuses d'origine bactérienne | 57 |
| 2.1.3 - Maladies infectieuses d'origine fongique | 57 |
| 2.1.4 - Rejet du greffon par l'hôte..... | 57 |
| 2.1.5 - Piqûres du moustique vecteur de la dengue | 58 |
| 2.1.6 - Paludisme | 58 |
| 2.2 – Tumeurs malignes..... | 59 |
| 2.2.1 - Cancers Oraux..... | 59 |
| 2.2.2 - Cancer du sein..... | 63 |
| 2.2.3 - Cancer gastrique..... | 65 |
| 2.2.4 - Cancer des Poumons | 66 |
| 2.2.5 - Cancer du pancréas..... | 67 |
| 2.2.6 - Cancer de la prostate..... | 69 |
| 2.3 - Maladies auto-immunes | 70 |
| 2.3.1 - Syndrome de Gougerot-Sjögren | 70 |
| 2.3.2 - Sclérodémie systémique..... | 71 |
| 2.4 - Maladies endocriniennes, nutritionnelles et métaboliques | 71 |
| 2.4.1 - Diabète | 71 |
| 2.4.2 - Amylose/Amyloïdose | 73 |
| 2.4.3 - Obésité | 74 |
| 2.4.4 - Autres troubles endocriniens | 75 |
| 2.5 - Troubles mentaux et du comportement..... | 76 |
| 2.5.1 - Dépression..... | 76 |
| 2.5.2 - Stress..... | 76 |
| 2.5.3 – Migraine | 77 |
| 2.6 - Maladies du système nerveux..... | 77 |
| 2.7 - Maladies de l'appareil cardiovasculaire..... | 78 |
| 2.8 - Maladies de la peau : | 80 |

| | |
|---|-----|
| 2.9 - Maladies de l'appareil respiratoire..... | 81 |
| 2.9.1 - Mesure de la concentration de nicotine | 81 |
| 2.9.2 - Asthme/ Allergies | 81 |
| 2.10 - Maladies de l'appareil digestif | 82 |
| 2.10.1 - Maladies carieuses | 82 |
| 2.10.2 - Maladies Parodontales | 83 |
| 2.10.3 - Orthodontie | 86 |
| 2.10.4 - Maladie cœliaque (intolérance au gluten) | 87 |
| 2.10.5 - Allergies alimentaires | 87 |
| 2.10.6 - Plaintes sensorielles orales (OSC) | 88 |
| 2.11 - Maladies rénales | 88 |
| 2.12 - Médecine du Sport | 89 |
| 2.13 - Médecine légale | 89 |
| 2.14 - Pharmacothérapie | 90 |
| 2.14.1 - Surveillance du niveau médicamenteux et de l'empoisonnement..... | 90 |
| 2.14.2 - Usage de stupéfiants | 90 |
| 2.14.3 - Consommation de boissons alcoolisées. | 90 |
| 3 – Plateformes de diagnostic salivaire | 91 |
| 3.1 - Outils non moléculaires | 92 |
| 3.1.1 Maladies infectieuses, hormones et drogues | 92 |
| 3.1.2 – Parodontite et péri-implantite | 98 |
| 3.2 - Outils moléculaires..... | 101 |
| Conclusion..... | 103 |
| Bibliographie..... | 104 |

Liste des Abréviations

- ARN : Acide ribonucléique
- ATP : Adénosine triphosphate
- Ca^{2+} : Ion calcium ;
- CO_2 : Dioxyde de carbone
- Cl^- : Ion chlorure
- EGF : *Epithelial growth factor*, facteur de croissance épithéliale
- FDA : Food Drug Administration

- H^+ : Ion hydrogène
- HCO_3^- : Bicarbonate
- IFN- γ : Interféron gamma
- IgA : Immunoglobuline A
- IgAs : IgA sécrétoires
- IL-2, 4, 6, 10 ... : Interleukine-2, 4 6, 10, ...
- K^+ : Ion potassium
- MALT : Tissu lymphoïde associé aux muqueuses
- Mg^{2+} : Ion magnésium
- N_2 : Azote
- Na : Ion sodium
- NGF : *Nerve growth factor*, facteur de croissance nerveux
- NH_3^+ : Ion ammoniacque
- PEA : Pellicule exogène acquise
- pH : Potentiel hydrogène
- PO_4^{3-} : Ion phosphate
- PRG : PRP glycosylées
- PRP : Protéines riches en proline
- ROR : Rougeole-Oreillons-Rubéole
- SCN^- : Ion Thiocyanate
- SLPI : *secretory leukocyte protease inhibitor*
- TGF- β : *Transforming growth factor beta*
- TNF *Tumornecrosis factor*,

Liste des Figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Anatomie des glandes salivaires (source: Netter, 2011) | 18 |
| Figure 2 : Schéma des glandes salivaires et des canaux du côté gauche (Katz, 2006) | 19 |
| Figure 3 : Innervation des glandes salivaires (Devoize, 2010) | 21 |
| Figure 4 : Constituants de la salive totale ou fluide oral (Pellat, 2010) | 22 |
| Figure 5 : Représentation schématique de l'organisation microvasculaire autour de l'axe sécréteur salivaire avec les principaux sites d'échange (Devoize et coll., 2010) | 35 |
| Figure 6 : Schéma des fonctions de la salive (Pellat, 2010) | 38 |
| Figure 7 : Constituants de la salive ou fluide oral (Zhang et coll., 2014) | 41 |
| Figure 8 : Face inférieure de l'appareil de collection de la salive parotidienne (ou appareil de Carlson) (Stephen et coll., 1976) | 44 |
| Figure 9 : Appareil de Carlson positionné sur le conduit parotidien (Dhillon et coll., 2016) | 44 |
| Figure 10 : Face inférieure de l'appareil de collection de la salive submandibulaire (Stephen et coll., 1976) | 45 |
| Figure 11 : Tubes capillaires de collection salivaire : Microcaps® (Drummond Scientific)..... | 45 |
| Figure 12 : Illustration représentant les protéines et peptides provenant d'une goutte de salive. (Khurshid et coll., 2016)..... | 48 |
| Figure 13 : Champs d'investigation des salivaomics (Zhang et coll., 2014) | 55 |
| Figure 14 : OraQuick ADVANCE Rapid HIV -1/2 Antibody Test Kit Controls (Meridian Bioscience)..... | 92 |
| Figure 15 : Alere DDS2 Mobile Test System (Alere Toxicology) | 96 |
| Figure 16 : Test de dépistage de drogue universel DrugWipe® 5 A Cannabis (Marijuana/Haschich/THC), Amphétamines/Méthamphétamine/Ecstasy, Cocaïne /Crack, Opiacés (Morphine/Héroïne) (Securetec)..... | 96 |
| Figure 17 : Rapid STAT®. AMP : Amphétamines, BZO : Benzodiazépines, COC : Cocaïne, MTD : Méthadone, MET / MDMA : Méthamphétamine/Ecstasy, OPI : Opiacés, THC : Marijuana (Mavand) | 97 |
| Figure 18 : PerioSafe/ImplantSafe (Perio Prevention Network)..... | 99 |

Liste des Tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Tableau récapitulatif de la viscosité salivaire (Szpirglas et Ben Slama, . | 23 |
| Tableau 2 : Concentration en électrolytes (en mmol/L) au niveau du plasma et de la salive mixte stimulée ou non (Devoize et coll., 2010) | 26 |
| Tableau 3 : Principaux dispositifs commerciaux de collecte salivaire (Yoshizawa et coll., 2011)..... | 47 |
| Tableau 4 : Principaux fabricants de kits de tests de drogues (Slowey et coll., 2015) | 98 |

Introduction

La salive est le fluide biologique non invasif le plus disponible du corps humain. La cavité buccale est un milieu unique, exposé à l'environnement externe et dans lequel il existe des interactions complexes entre différentes surfaces: les tissus mous et durs de l'hôte, les aliments, l'air et les microorganismes. La salive comprend un grand nombre de composés inorganiques et organiques qui peuvent être quantifiés et devenir des biomarqueurs de la santé générale.

Utilisé en tant que fluide de diagnostic, nous découvrirons que la salive offre des avantages spécifiques distincts de ceux du sérum que ce soit d'un point de vue psychologique, technique, économique et médical.

A l'ère de la médecine génomique, les champs d'investigations se sont élargis. En effet, plusieurs milliers de protéines salivaires, d'espèces d'ARN et de métabolites ont ainsi pu être identifiés dans la salive, permettant à cette dernière de jouer un rôle de plus en plus important dans le dépistage précoce, la surveillance et la progression des maladies systémiques et buccales.

Notre première partie présentera une synthèse des éléments nécessaires pour appréhender le système salivaire.

Puis en deuxième partie de ce manuscrit, nous examinerons les données actuelles au sein de la littérature concernant le potentiel clinique diagnostic de la salive ainsi que la présentation des nombreux tests disponibles à ce jour.

Partie 1 : Généralités

1- Les glandes salivaires

1.1 - Anatomie des glandes salivaires

Les glandes responsable de la production salivaire, sont des glandes exocrines et comprennent:

- des glandes salivaires macroscopiques ou glandes salivaires principales qui forment des organes anatomiquement bien individualisés. Ce sont: les parotides, les sous-maxillaires, les sublinguales (Figure 1)
- des glandes salivaires microscopiques ou glandes salivaires accessoires. Elles sont réparties dans la muqueuse buccale (Pellestor, 2007).

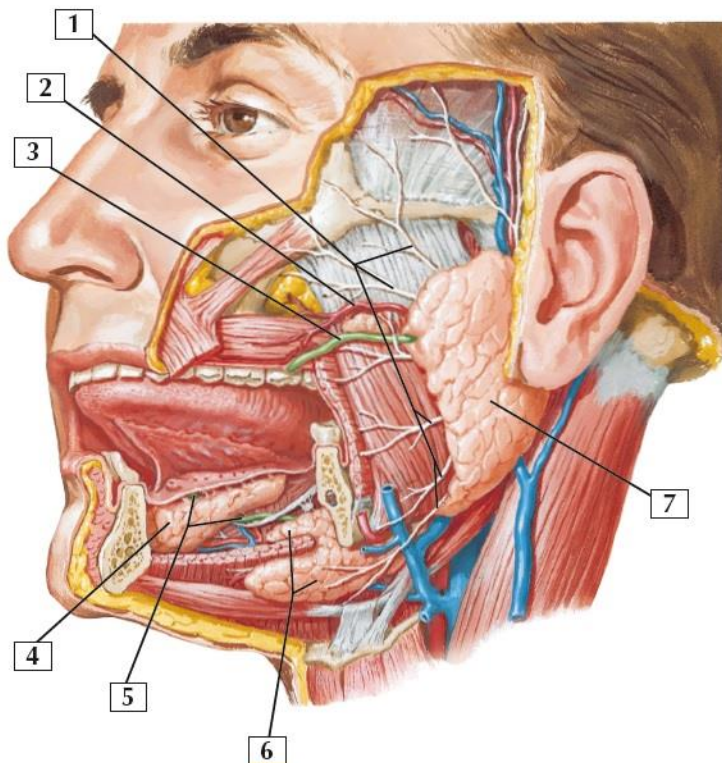


Figure 1 : Anatomie des glandes salivaires (source: Netter, 2011)

1. Branches du nerf facial ; 2. Artère faciale transverse ; 3. Conduit parotidien ; 4. Glande sublinguale ; 5. Conduit submandibulaire ; 6. Glande submandibulaire ; 7. Glande parotide

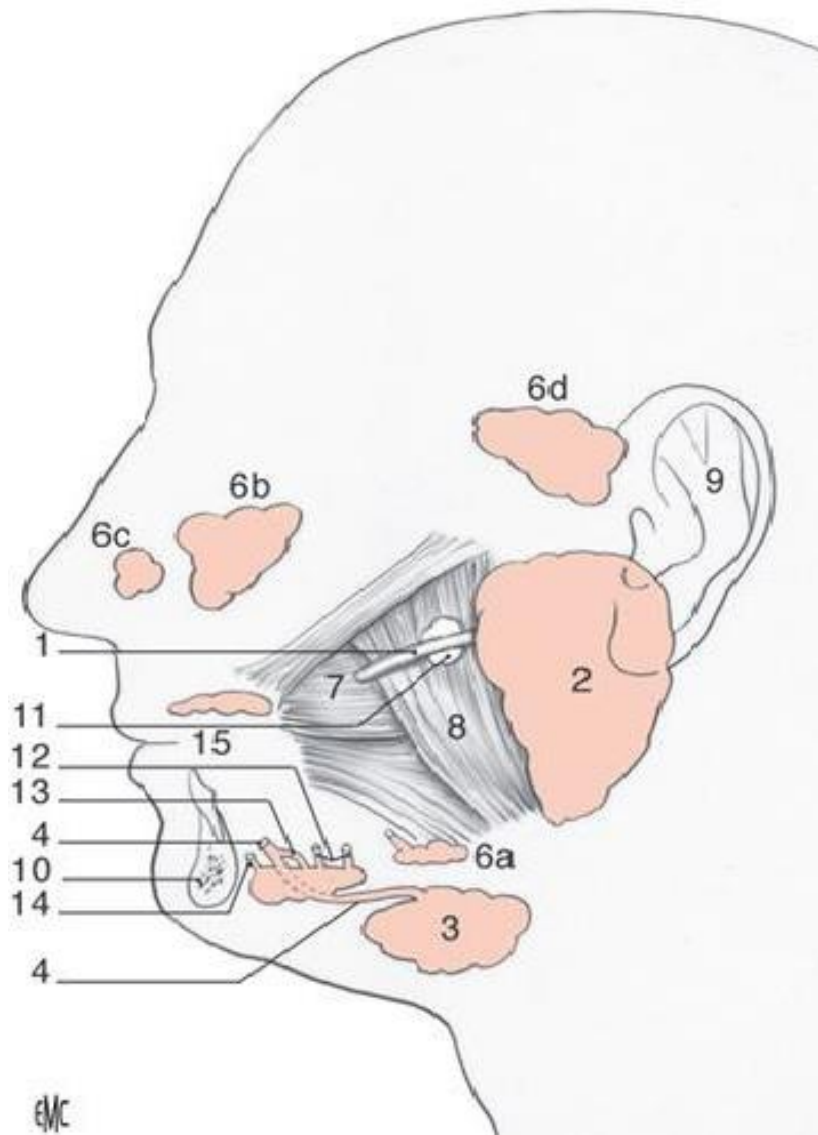


Figure 2 : Schéma des glandes salivaires et des canaux du côté gauche (Katz, 2006)

1. Canal parotidien ; 2. Glande parotidienne ; 3. Glande submandibulaire ; 4. Canal de Wharton ; 5. Glande sublinguale ; 6. Glandes salivaires accessoires : buccales (a), palatines (b), nasales (c), nasopharyngées (d) ; 7. Muscle buccinateur ; 8. Muscle masséter ; 9. Auricule de l'oreille ; 10. Mandibule ; 11. Glande salivaire accessoire et canal se jetant dans le canal parotidien ; 12. Canal sublingual postérieur ; 13. Canal sublingual ; 14. Canal sublingual antérieur ; 15. Cavité buccale

1.2 - Vascularisation des glandes salivaires

La vascularisation des glandes salivaires est issue de différentes branches de l'artère carotide externe. La glande parotide est alimentée par l'artère faciale.

La vascularisation des glandes sous-mandibulaires est fournie par les artères faciale et linguale, celle des glandes sublinguales par les artères sublinguale et sous-mentale (Collège hospitalo-universitaire français de chirurgie maxillo-faciale et stomatologie, 2014).

1.3 - Innervation des glandes salivaires

Le système autonome ou végétatif est responsable de la régulation nerveuse de la sécrétion salivaire. Le système nerveux autonome contrôle les différents paramètres de la sécrétion : le débit salivaire, le débit sanguin et la composition physico-chimique de la salive.

Le système nerveux autonome est composé :

- Du système nerveux parasympathique qui est responsable de la formation d'une salive abondante et fluide. Les fibres prennent leur origine au niveau du bulbe rachidien à partir des noyaux salivaires supérieur et inférieur (limite anatomique non définie).
 - La sécrétion des glandes submandibulaires et sublinguales est contrôlée par le noyau salivaire supérieur, les fibres empruntant le trajet du nerf intermédiaire (VII bis), de la corde du tympan et enfin la branche linguale du nerf mandibulaire (nerf lingual).
 - La sécrétion des glandes parotides et mineures est contrôlée par le noyau salivaire inférieur. Les fibres efférentes pré-ganglionnaires empruntent le trajet du nerf glossopharyngien (IX), puis du nerf tympanique et du nerf petit pétreux. Le relais synaptique avec les fibres post-ganglionnaires s'effectue au niveau du ganglion otique pour se distribuer au niveau parotidien via le nerf auriculotemporal, branche du nerf mandibulaire.

- Du système orthosympathique qui stimulerait la sécrétion d'une salive visqueuse peu abondante et riche en mucines. Les fibres nerveuses sont issues du tractus intermediolateralis (localisation exacte encore imprécise), au niveau des segments dorsaux supérieurs (D1-D2) de la moelle épinière. Ces fibres pré-ganglionnaires effectuent leur relais synaptique dans le ganglion cervical supérieur. Les fibres post-ganglionnaires suivent les axes vasculaires (carotide externe, artère maxillaire, artère faciale, artère linguale) pour rejoindre les glandes salivaires.

La sécrétion salivaire est sous la dépendance de *stimuli* qui après intégration au niveau du système nerveux central provoquent la stimulation du système nerveux autonome. Les stimuli afférents ont quatre origines : locale sensitive, locale gustative, distante ou centrale lors d'intoxication ou d'émotions violentes (Devoize et coll. 2010).

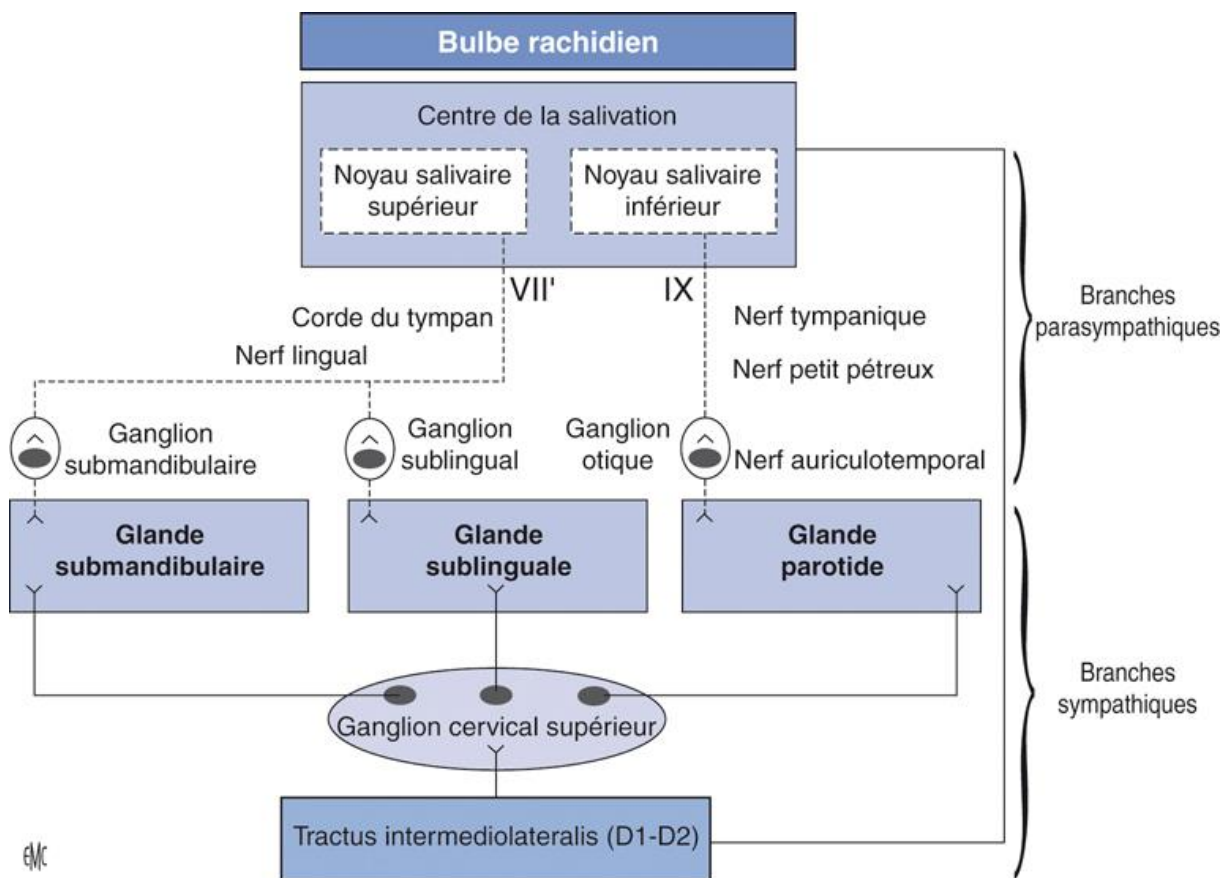


Figure 3 : Innervation des glandes salivaires (Devoize, 2010)

2 - La Salive

2.1 - Définition

La salive est le liquide biologique sécrété par les glandes salivaires, à l'intérieur de la cavité buccale.

La salive totale, appelée également fluide oral, est composée de tous les fluides sécrétés par les glandes salivaires principales et accessoires, du fluide gingival, du transsudat des muqueuses buccales, des bactéries sessiles non adhérentes, du mucus provenant des fosses nasales et du pharynx, des restes alimentaires, des cellules épithéliales desquamées de la muqueuse buccale, de cellules sanguines et des traces de divers médicaments et produits chimiques (De Almeida et coll., 2008). La figure 3 illustre les différentes contributions constituantes de la salive.

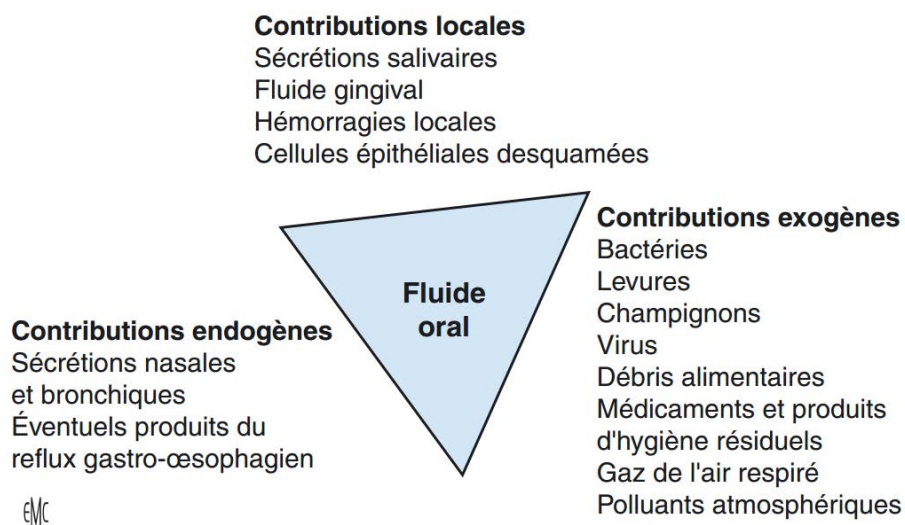


Figure 4 : Constituants de la salive totale ou fluide oral (Pellat, 2010)

Différentes compositions de la salive

La composition salivaire peut varier. On parle de salive mixte lorsque la salive totale ne contient pas les bactéries non adhérentes, ni les cellules épithéliales desquamées etc. La salive pure est la salive prélevée à l'*ostium* des glandes salivaires.

Différents flux salivaires

Le flux salivaire basal correspond au fluide salivaire non stimulé et le flux salivaire provoqué ou stimulé correspond au fluide salivaire résultant des stimuli gustatifs, olfactifs, visuels, mécaniques ou pharmacologiques (Humphrey et coll., 2001).

2.2- Principales caractéristiques physico-chimiques de la salive

2.2.1 - Densité et pression osmotique

Rapportée à la masse volumique de l'eau. La salive a une densité qui varie entre 1,004 et 1,012 (Liebaut, 2011).

La concentration salivaire en solutés (60 à 120 mOsm/kg) est inférieure à celle de l'organisme (plasma : 290 mOsm/kg). La salive est donc hypotonique (Pellat, 2010).

2.2.2 - Viscosité

La viscosité est la résistance à l'écoulement uniforme et sans turbulence se produisant dans la masse d'un liquide. La viscosité de la salive résulte de la proportion de mucines produites par les cellules acineuses muqueuses par rapport aux cellules séreuses. Logiquement on obtient une viscosité de la salive différente suivant la glande dont elle est originaire, le tableau ci-dessous (Tableau 1) décrit la viscosité de chaque glande (Szpirglas et Ben Slama, 1999).

Tableau 1 : Tableau récapitulatif de la viscosité salivaire (Szpirglas et Ben Slama, 1999)

| Glande salivaire | La parotide | La submandibulaire | La sublinguale |
|------------------------|-------------|--------------------|----------------|
| Viscosité (centipoise) | 1,5 | 3,4 | 13,4 |
| Salive (consistance) | aqueuse | filante | très visqueuse |

2.2.3 - pH

Le potentiel hydrogène (ou pH) salivaire se mesure chez un sujet éveillé à jeun, ayant peu parlé et n'ayant pas fumé. Selon la glande considérée, il peut varier de 5,8 pour la glande parotide à 6,5 pour la submandibulaire (Aps et Martens, 2005).

Le pH global de la salive est compris entre 6,2 et 7,6. Avec une valeur moyenne de 6,7 au repos. La salive contribue donc à maintenir la cavité orale à un pH presque neutre. Le maintien de cette neutralité repose sur deux mécanismes principaux : le premier consiste à éliminer les glucides fermentescibles qui pourraient servir de substrat aux bactéries ainsi que les acides qu'elles produisent. Le second, consiste à la capacité de tamponner et de neutraliser les acides ingérés (notamment présents dans les boissons) (Baliga et coll., 2013).

2.2.4 - Potentiel d'oxydoréduction

Le potentiel d'oxydoréduction consiste à la capacité d'engendrer des réactions chimiques. Celui de la salive est intimement lié au pH et il est inversement proportionnel au pH. Lorsque le pouvoir oxydatif est élevé, le développement de germes aérobies est favorisé. A l'inverse, lorsque l'environnement buccal contient un grand nombre de germes anaérobies, le pouvoir oxydatif est diminué (Perrin et coll., 2003)

2.2.5 - Température

La localisation de la cavité buccale fait que le milieu salivaire est soumis à d'importantes variations de température. Suivant les périodes de la journée, la température varie entre 36,2 et 37,2 °C, avec le pic de la journée situé en fin d'après-midi aux alentours de 16h40 (Dawes, 1972).

2.3 - Composition de la salive

Indispensable dans le fonctionnement physiologique de la cavité buccale, les sécrétions salivaires proviennent d'un assemblage complexe des produits des glandes salivaires majeures et mineures, du fluide sulculaire, ainsi que les éléments

exogènes tels que les bactéries, les débris alimentaires, et des cellules desquamées. Les différents composants peuvent provenir d'une filtration de la circulation sanguine, mais aussi être produits au sein des cellules des glandes ou encore, être partiellement réabsorbés, excrétés ou modifiés au niveau des canalicules excréteurs (Pellat, 2010). Composée d'au moins 99% d'eau, il reste dans la salive des composants qui se distinguent en deux compartiments principaux : les éléments organiques et inorganiques (Devoize et coll., 2010).

2.3.1 - Constituants inorganiques

- **Gaz**

Se trouvant sous forme dissoute, l'élément retrouvé principalement est le dioxyde de carbone CO_2 représentant 20 ou 30% du volume salivaire basal. L'azote N_2 (0,9%) est présent à des niveaux moindres et le dioxygène O_2 en quantité infime (environ 0,2%) (Liebaut, 2011).

- **Éléments minéraux**

Les constituants inorganiques de la salive sont l'ion hydrogène (H^+), les ions sodium, potassium, calcium, chlorures, phosphates, bicarbonates, thiocyanates, des halogènes (l'iode, le fluor) et des métaux (le cuivre et le fer) (Vidailhet et coll., 2008).

Ces composants proviennent d'un transport actif issu du plasma, (Nunes et coll., 2014) parmi eux, le sodium, les chlorures et les bicarbonates ont une concentration salivaire inférieure à la concentration plasmatique, du fait d'une réabsorption active par les cellules des canaux salivaires (Proctor et coll., 2014). À l'inverse, le potassium, le calcium, les phosphates, l'iode et les thiocyanates sont plus présents dans la salive que dans le plasma, le tableau suivant (Tableau 2) compare les concentrations des électrolytes en comparaison aux concentrations salivaires.

Tableau 2 : Concentration en électrolytes (en mmol/L) au niveau du plasma et de la salive mixte stimulée ou non (Devoize et coll., 2010)

| | Plasma | Salive mixte non stimulée | Salive mixte stimulée |
|-------------------------------|--------|---------------------------|-----------------------|
| Na ⁺ | 143,3 | 1,5 | 20-80 |
| K ⁺ | 4,1 | 24 | 20 |
| Ca ²⁺ | 2,2 | 1-4 | 1-4 |
| Cl ⁻ | 100,9 | 22 | 30-100 |
| HCO ₃ ⁻ | 27,5 | 1 | 15-80 |
| Phosphates inorganiques | 1,2 | 6 | 4 |
| Mg ²⁺ | < 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| SCN ⁻ | 0,05 | 2,5 | 2 |
| NH ₃ ⁺ | 2-7 | 6 | 3 |

Na⁺ : ion sodium ; K⁺ : ion potassium; Ca²⁺ : ion calcium ; Cl⁻ : chlorure ; HCO₃⁻ : Bicarbonate ; Mg²⁺ : ion magnésium ; SCN⁻ : thiocyanate ; NH₃⁺ : ammoniacque

Ions sodium, ions potassium et chlorure (Na⁺, K⁺, Cl⁻)

Le retrait des ions sodium, potassium et chlorure permet de rendre la salive hypotonique et facilite la discrimination des saveurs salées dans la nourriture (Proctor et coll., 2014).

Bicarbonate (HCO₃⁻)

Les ions bicarbonate sont les principaux acteurs du pouvoir tampon salivaire et donc de la prévention de la déminéralisation. Ils participent aussi à faciliter la solubilité des macromolécules et modifient les propriétés d'écoulement et de déformation des mucines (Proctor et coll., 2014).

Thiocyanate (SCN⁻), iode et nitrates

Le thiocyanate a principalement une action antibactérienne associée aux enzymes peroxydases, tout comme l'iode et les nitrates. À noter que les nitrates salivaires ont probablement une influence sur la pression sanguine (25% des nitrates circulant, sont filtrés par les glandes salivaires) (Proctor et coll., 2014).

Ions Calcium et phosphates (Ca^{2+} , PO_4^{3-})

Une partie des ions phosphates et calcium est liée à des protéines ou forme des complexes. Ces ions calcium et phosphate jouent un rôle important dans les mécanismes pH-dépendants de dissolution et de reminéralisation de l'hydroxyapatite. Le calcium joue aussi un rôle dans l'agencement et l'état de réticulation des mucines (Proctor et coll., 2014).

2.3.2 - Constituants organiques

Selon Pellat, 0,30 à 0,34% de substances organiques composent la salive. Les protéines en sont le principal composant organique (Pellat, 2010) et leur concentration augmente avec le débit salivaire, un litre de salive contient environ 2,5 grammes de protéines (Cabras et coll., 2014). Plus de 3000 protéines ont été identifiées à ce jour (Kaczor-Urbanowicz et coll. 2017).

Les protéines salivaires sont classées en fonction de leur origine en :

- protéines extrinsèques (plus de 2000 composants), provenant du sang par différentes voies de diffusion ou de transport actif
- protéines intrinsèques synthétisées localement par les glandes salivaires (environ 400 composants).

Protéines extrinsèques

Principalement composées d'hormones (cortisol, testostérone, dehydro-epiandrosterone, mélatonine ...) et de molécules immunologiques (Immoglobuline A, protéine C-réactive...) (Bosch, 2014).

Protéines intrinsèques

- **Enzymes salivaires**

Alpha-amylase salivaire (ou ptyaline)

Cette protéine est une composante majeure des protéines salivaires. Elle est sécrétée à 70% par les glandes parotides. Cette enzyme hydrolyse les liaisons

glucidiques des amidons alimentaires, les transformant ainsi en maltose, glucose, maltotriose et quelques dextrans. Elle travaille en amont de l'amylase pancréatique permettant, entre autre, la digestion des amidons alimentaires (Pellat, 2010).

Lipase salivaire

Principalement synthétisée par les glandes sublinguales de VonEbner, la lipase salivaire est une enzyme qui peut hydrolyser les triglycérides, les phospholipides, les esters de cholestérol, ainsi que de nombreux autres esters (Devoize et coll., 2010).

Lysozyme

Représentant 10 % des protéines totales, le lysozyme possède un pouvoir antiseptique (attribué à son activité muramidase) de part la lyse des parois bactériennes (surtout à Gram positif) mais aussi la paroi des germes fongiques (Devoize et coll., 2010). Mais il semblerait que dans le milieu oral, son potentiel bactéricide et fongicide soit discutable (Pellat, 2010).

Peroxydases salivaires

Les peroxydases salivaires (anciennement appelées lactoperoxydases) sont actives sur un certain nombre de bactéries, virus et levures. Le mécanisme d'action provient de l'oxydation du thiocyanate (SCN^-) comme substrat aboutissant à la formation de peroxyde d'hydrogène (Pellat, 2010).

Les peroxydases présentes dans le milieu oral sont synthétisées par les glandes salivaires (LPO-SH) et par le fluide oral : la myéloperoxydases (MPO). Celle-ci représente entre 30 et 75% du total des peroxydases (Devoize et coll., 2010).

Autres enzymes

Egalement présentes, d'autres enzymes comme les collagénases d'origine tissulaire, les gélatinases, les élastases, les protéases, les cholinestérases et les ribonucléases ont pour la plupart un rôle antimicrobien et dans la digestion (Devoize et coll., 2010).

- **Protéines riches en proline**

La famille des protéines riches en proline (PRP) représente près des deux tiers du total des protéines de la salive submandibulaire (1,335-270 µg/ml) et 70% de celles de la salive parotidienne (1,251-230 µg/ml). Il existe plusieurs types de PRP (Pellat, 2010) :

- PRP salivaires acides, provenant des trois glandes majeures. Elles peuvent participer à la formation de la pellicule exogène acquise contribuant au maintien de l'homéostasie du calcium et servent de récepteur à certaines bactéries.
- Le rôle des PRP basiques n'est pas encore bien défini, cependant les PRP basiques glycosylées auraient un rôle de lubrifiant (Devoize et coll., 2010).

- **Mucines**

Les mucines, ou glycoprotéines muqueuses sont des glycoprotéines ramifiées (75 % de protéines-25 % d'hydrates de carbone). La famille des mucines représente 16% des protéines totales de la salive mixte. Elles sont sécrétées principalement par les cellules à mucus des glandes sublinguales (Devoize et coll., 2010).

Deux grandes familles de mucines sont présentes :

- Les glycoprotéines muqueuses 1 (molécules de haut poids moléculaire, supérieur à 1 mégadalton, et fortement glycosylées), contribuent à la formation de tous les films recouvrant l'émail en 2 heures et les surfaces épithéliales (Pellat, 2010).
- Les glycoprotéines muqueuses 2 (molécules à bas poids moléculaire, compris entre 200 et 250 kilodaltons), sont solubles et piègent via leurs adhésines certains micro-organismes. Ces derniers ne pouvant adhérer aux surfaces orales, ils sont éliminés par la déglutition.

La variation de leur proportion module les caractéristiques viscoélastiques de la salive. Suite à des stimulations gustatives et masticatoires, le débit salivaire et la production de mucines augmentent.

En effet les mucines polymérisent en milieu aqueux et retiennent de grandes quantités d'eau. Il se forme ainsi un gel visqueux recouvrant les tissus de la cavité buccale, qui joue donc un rôle de lubrifiant et de protection des surfaces orales. Les mucines facilitent donc l'ingestion du bol alimentaire et participent à la protection des surfaces dentaires (sans mucines la pellicule exogène acquise perd 70% de son potentiel de protection) (Pellat, 2010).

- **Lactoferrines**

La lactoferrine appartient à la famille des transferrines. C'est une protéine de transport du fer produite majoritairement par les polynucléaires neutrophiles du parenchyme des glandes salivaires. Lorsque qu'elle est clivée au niveau buccal, elle libère la lactoferricine qui a des effets bactériostatique, bactéricide, virucide et fongicide (Pellat, 2010). La lactoferrine possède également des propriétés anti-inflammatoires par modulation de la réponse immunitaire, ainsi que des propriétés antitumorales (Devoize et coll., 2010).

- **Histatines**

Les histatines sont des petites protéines (3 à 5 KDa) riches en histidine, sécrétées uniquement dans la salive parotidienne et submandibulaire. Elles ont une activité antifongique, voire candidacides principalement. Elles contribuent aussi à la formation de la pellicule exogène acquise et semblerait stimuler la cicatrisation buccale (Pellat, 2010).

- **Stathérines**

Les stathérines sont de petites phosphoprotéines (5 kDa) riches en résidus tyrosine et tyrosine phosphorylée. Elles sont sécrétées par les glandes parotides et submandibulaires. Les stathérines inhibent la précipitation spontanée des phosphates de calcium de la salive, empêchant que des accrétions minérales se forment sur la surface de l'émail et préviennent la formation de calculs salivaires

dans les glandes salivaires. Les stathérines participent à l'élaboration de la pellicule exogène acquise et à la lubrification des muqueuses (Pellat, 2010).

- **Cystatines**

Les cystatines salivaires sont sécrétées par les glandes salivaires parotides, submandibulaires et sublinguales (certaines cystatines semblent spécifiques à la salive). Elles protègent les muqueuses buccales des protéases à cystéine des bactéries en les inhibant. Les cystatines contribuent à la formation de la pellicule exogène acquise (Devoize et coll., 2010 ; Pellat, 2010).

- **Défensines**

Les défensines sont une famille de peptides antimicrobiens de 3 à 5 kDa. On distingue les alpha-défensines produites essentiellement par les leucocytes issus du fluide gingival, et les bêta-défensines synthétisées par les cellules épithéliales de la muqueuse orale et des glandes salivaires. Elles jouent un rôle antimicrobien efficient tant sur les bactéries (Gram positif et négatif) que sur les champignons, voire certains virus (Pellat, 2010).

- **Immunoglobulines sécrétoires**

La muqueuse buccale, l'anneau de Waldeyer (comprenant les amygdales et le tissu adénoïde palatin), les tissus lymphoïdes pharyngés et des glandes salivaires composent le système immunitaire muqueux de la cavité orale ou communément appelé « Tissu Lymphoïde Associé aux Muqueuses » (MALT). La majeure partie de ces immunoglobulines est synthétisée au niveau de ce système et, en particulier, au niveau des glandes salivaires.

L'immunoglobuline A (IgA), fait partie des immunoglobulines les plus présentes. En effet, sa concentration salivaire est largement supérieure à la concentration sérique. Etant fortement glycosylée, elle est très résistante à la dégradation protéolytique (Van't Hof et coll., 2014).

Lorsqu'un élément potentiellement antigénique pénètre dans la cavité orale, il est majoritairement en contact avec des IgA sécrétoires (IgAs). Ces IgAs, se lient à un grand nombre de micro-organismes, ce qui les neutralise sans causer de réponse immunitaire. Par conséquent, elles constituent une importante ligne de défense contre les bactéries et les virus qui s'introduisent dans l'organisme (Hug et coll., 2007 ; Renegar et coll., 2001).

- **Facteurs de croissance**

Il existe des facteurs de croissance dans les glandes salivaires. Principalement, on détecte un facteur de croissance nerveux NGF (*nerve growth factor*) et un facteur de croissance épithéliale EGF (*epithelial growth factor*), associés à certaines maladies parodontales (Devoize, 2010). L'origine de ces hormones salivaires semble être la circulation sanguine mais une production locale, notamment au niveau de la glande submandibulaire est possible (Vidailhet et coll., 2008).

Autres composantes organiques

La salive contient en faible concentration de l'urée (environ 2 mmol/l). Cette molécule est utilisée comme substrat pour la synthèse d'ammoniac, qui métabolisé permet d'augmenter le pH (Devoize, 2010). D'autres composés salivaires ont été identifiés comme : le glucose (0,056 mmol/l), la créatinine, le cholestérol et plus de 3 000 acides ribonucléiques (ARN) (Arellano et coll., 2009).

La glande submandibulaire aurait comme fonction hormonale, la sécrétion d'androgènes, d'insuline et d'hormones thyroïdiennes (Pellat, 2010).

Il existe également des cytokines au niveau glandulaire : *tumor necrosis factor* (TNF), interleukine (IL)-2, 4, 6, 10, interféron (IFN)- γ et *transforming growth factor* (TGF)- β (Streckfus et coll., 2002).

2.3.3 - Compartiment microbien

La cavité buccale présente un écosystème très complexe. Des microorganismes divers sont à l'origine d'une entité: le biofilm buccal. La présence et concentration des bactéries dans l'écosystème buccal varient selon certains facteurs notamment physico-chimiques qui dépendent directement de la salive.

Deux types de flores distinctes mais étroitement liées :

- La flore supra-gingivale : lorsque l'équilibre est rompu, elle est à l'origine de la déminéralisation acide des tissus durs dentaires. Elle implique principalement : *Streptococcus sobrinus*, *S. mutans*, *S. sanguinis*, *S. mitis*, *S. salivarius*, *Lactobacillus sp.*, *Actinomyces sp.* dont *A. viscosus*
- la flore sous-gingivale : elle est responsable de l'apparition des maladies parodontales et composée majoritairement de micro-organismes à Gram négatif anaérobies stricts (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*...) (Sixou et coll., 2007).

2.3.4 - Compartiment cellulaire

Les cellules sont rares dans la salive à l'état normal mais dans certaines pathologies telles que les oreillons, cancer,..., elles sont retrouvées en quantité plus importantes. On identifie principalement des cellules desquamées de l'épithélium oral et des leucocytes.

2.4 - Organisation macromoléculaire

Différentes phases constituent la salive :

- phase liquide,
- phase gazeuse,
- phase de gel : ce gel, ou biofilm, se retrouve sur toutes les surfaces orales. Grâce aux liaisons intermoléculaires des mucines de haut poids moléculaire, sa structure lui confère une perméabilité aux macromolécules. Il contient également des protéines moins hydrosolubles, organisées en micelles (Devoize et coll., 2010).

2.5 - Sécrétion : mécanisme et contrôle

2.5.1 - Formation de la salive

L'hypothèse d'une formation en deux étapes de la salive, émise par Thaysen en 1954 est aujourd'hui internationalement reconnue. Ces deux étapes permettent d'expliquer la variation de concentration des principaux électrolytes salivaires par rapport à leur taux plasmatique et son évolution en fonction du débit salivaire:

- Première phase: le fluide plasmatique est filtré à travers les cellules acineuses sans modification ionique et aboutit à la formation d'une salive isotonique au plasma appelée : salive primaire. La différence de pression entre les cellules acineuses et les capillaires permet la fuite d'eau plasmatique et des ions (Figure 4). C'est durant cette étape que certaines molécules issues de la circulation sanguine, marqueurs de la santé vont passer. Certains acides aminés et le glucose sont transportés activement grâce à l'intervention de l'adénosine triphosphate (ATP), de l'adénosine monophosphate cyclique (APMc) et de l'ion calcium (Ca^{2+}). En parallèle, il existe une fixation importante d'iode circulant, une réabsorption passive d'ions chlorures et une sécrétion d'ions bicarbonates au niveau des canaux striés (Figure 4). Ceci assure la régulation du pH salivaire qui est à l'origine du pouvoir tampon de la salive. Ainsi le pH légèrement acide de la salive primaire va augmenter au cours de la progression de la salive dans les canaux striés.

- La deuxième phase: la salive primaire est modifiée par une sécrétion et une réabsorption d'électrolytes au niveau des canaux striés, aboutissant à la formation d'une salive finale fluide hypotonique au plasma. Les cellules acineuses sécrètent 90% des protéines salivaires. Ensuite, La salive secondaire est déversée par les canaux collecteurs dans la cavité buccale (Vidailhet et coll., 2008).

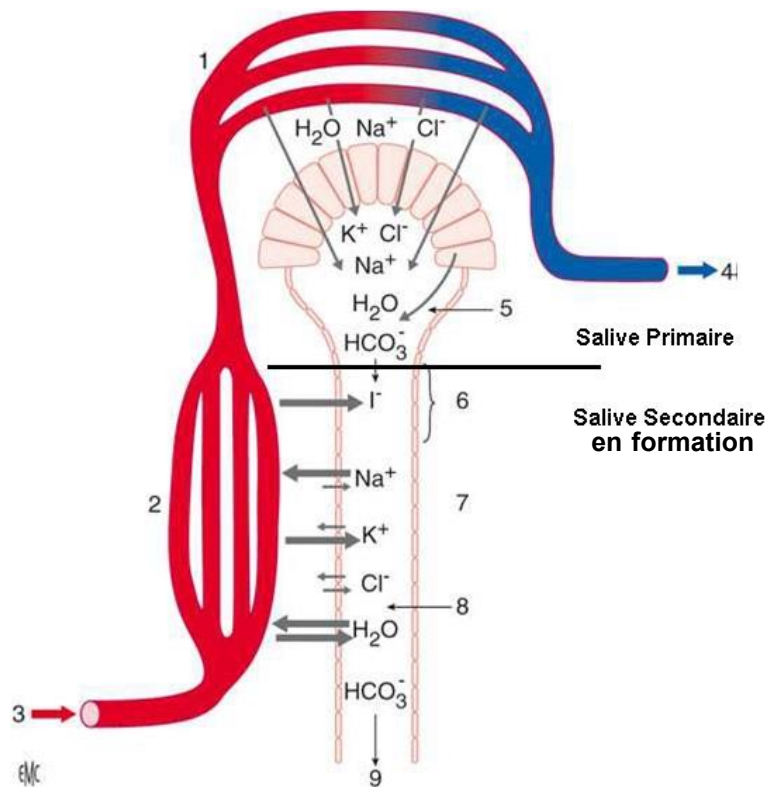


Figure 5 : Représentation schématique de l'organisation microvasculaire autour de l'axe sécréteur salivaire avec les principaux sites d'échange (Devoize et coll., 2010)

1. Réseau capillaire entourant les cellules acineuses ; 2. réseau capillaire entourant les canaux (surtout intralobulaires ou striés) ; 3. sang artériel ; 4. sang veineux ; 5. urée ; 6. acides aminés ; 7. modifications secondaires ; 8. glucose ; 9. salive

Na^+ : ion sodium; Cl^- : ion chlorure; K^+ : ion potassium; HCO_3^- : bicarbonate

2.5.2 - Contrôle de la sécrétion

- **Contrôle nerveux**

Connexions neuroeffectrices

Voire Partie 1.3 : Innervation des glandes salivaires

Sécrétion salivaire réflexe

La sécrétion salivaire est régulée par de multiples systèmes et dépend de réflexes qui peuvent être innés ou acquis.

- Concernant les réflexes innés : la cavité buccale et les fosses nasales présentent de nombreux récepteurs à l'origine de la stimulation des réflexes innés. Des réflexes chimico-salivaires liés à l'olfaction et la gustation sont observés ainsi que des réflexes trigéminaux, grâce à l'activation des propriocepteurs des muscles masticatoires, de l'articulation temporo-mandibulaire et du parodonte.
- Concernant les réflexes conditionnés (acquis) : plusieurs catégories de stimulus existent : visuel (expérience de Pavlov), auditif, tactile et douloureux. Les réflexes acquis sont encore mal connus (Devoize et coll., 2010).

- **Contrôle endocrinien**

La salivation est modulée par de nombreux facteurs, à titre d'exemple on trouve (Vidailhet, 2008):

- les hormones thyroïdiennes,
- la prolactine,
- les hormones de croissance,
- les androgènes,
- les œstrogènes,
- les corticoïdes, qui régulent la synthèse protéique au sein des glandes salivaires.

Ces molécules jouent principalement un rôle dans les modifications de la composition et de la concentration de la salive.

2.6 - Rôles de la salive

La salive remplit de multiples fonctions : mécanique, d'humidification et lubrification, protectrice, digestive. Les variations quantitatives et qualitatives du fluide salivaire conditionnent les principaux rôles : digestif, protecteur, excréteur et endocrinien. Ces remaniements, comme la diminution en protéines salivaires (mucines), d'ions sodium et chlorure, auront une influence non négligeable sur la physiologie salivaire et orofaciale. Les rôles principaux sont développés ici avec un récapitulatif sous la forme d'une illustration (Figure 5) qui synthétise toutes les fonctions principales.

2.6.1- Fonction protectrice

La salive est la cause essentielle de la très grande résistance de la cavité buccale à l'infection. Son action physique, permet tout particulièrement :

- l'auto-nettoyage de la cavité buccale,
- l'humidification, la lubrification et l'hydratation des tissus buccaux,
- une protection antibactérienne,
- la cicatrisation des muqueuses buccales.

2.6.2 - Maintien de l'intégrité des tissus dentaires et du milieu

Un des rôles prépondérants de la salive consiste à la protection des tissus dentaires des phénomènes d'abrasion, d'attrition, d'érosion et cariogène mais aussi de favoriser la reminéralisation de l'émail après une attaque acide (Amerongen et coll., 2002). Ce rôle est permis grâce à la formation de la pellicule exogène acquise (PEA) qui couvre non seulement les muqueuses mais aussi l'ensemble des surfaces dentaires (amélaire, cémentaire, dentinaire).

De plus grâce à son pouvoir tampon, la salive régule la concentration de pH suite à la prise d'aliments et/ou une hygiène déficiente qui peut être à l'origine de la déminéralisation des tissus dentaires (Dawes et coll., 2015) (Devoize et coll., 2010).

2.6.3 - Rôle dans l'alimentation

- **Gustation, déglutition, digestion**

La salive joue un rôle dans la gustation et permet la dissolution des arômes favorisant leur répartition dans la cavité orale et leur fixation sur les cellules neurosensorielles des récepteurs du goût. Elle facilite la formation du bol alimentaire, ainsi que la déglutition, grâce aux substances mucilagineuses qu'elle contient et permet de débiter la digestion (Dawes et coll., 2015).

L' α -amylase salivaire dégrade en partie l'amidon et les polysaccharides alimentaires tandis que la lipase décompose une fraction des triglycérides (Dawes et coll., 2015, Kawai et Fushiki, 2003).

- **Rôle dans l'homéostasie hydrique**

La sensation de bouche sèche déclenche la soif et permet de réguler l'apport hydrique indispensable à la vie (Azerad, 1992).

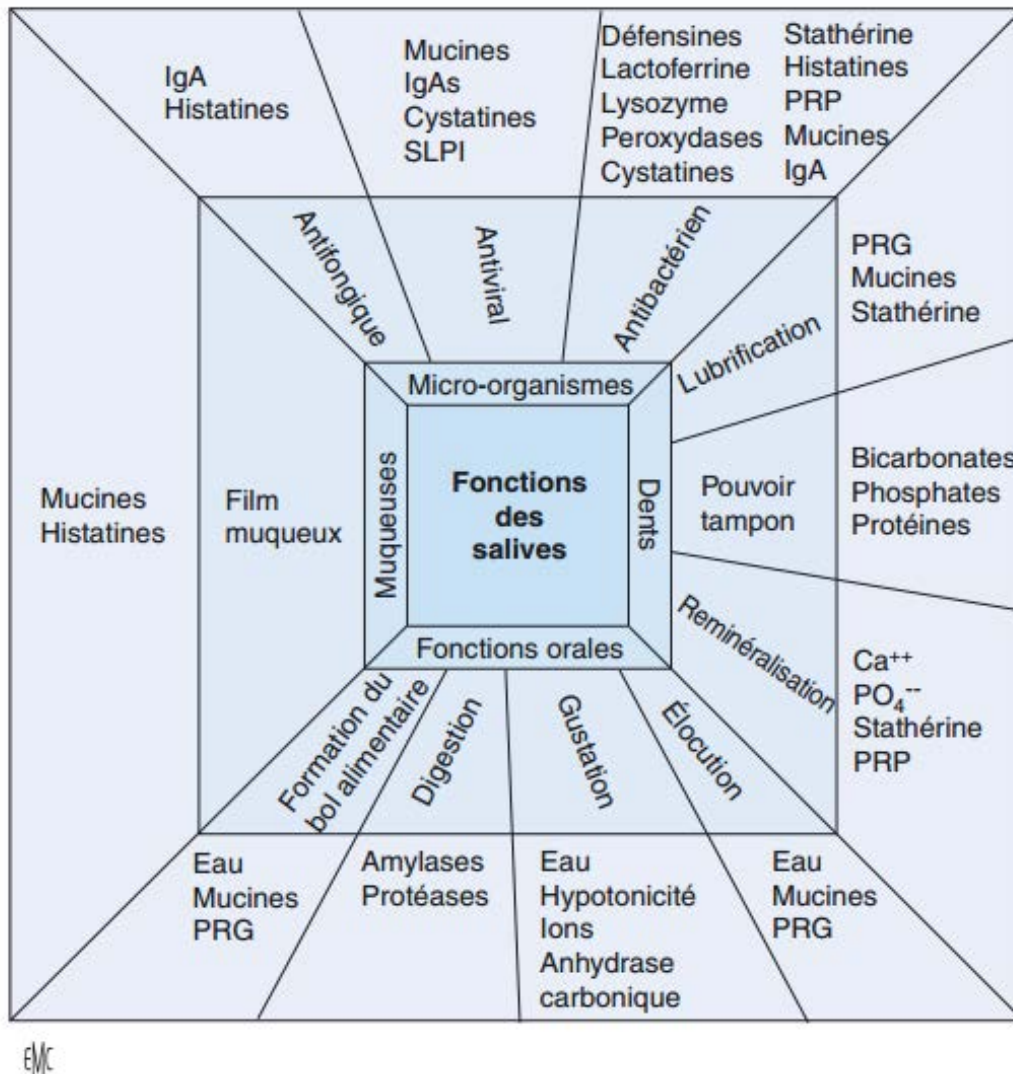


Figure 6 : Schéma des fonctions de la salive (Pellat, 2010)

IgA : immunoglobulines A ; **IgAs** : immunoglobulines A sécrétées ; **PRP** : *proline-rich proteins* ; **PRG** : PRP glycosylées ; **SLPI** : *secretory leukocyte protease inhibitor*

2.7 - Débit salivaire

2.7.1 - Fonctionnement général

Le volume salivaire sécrété quotidiennement varie selon les individus. En moyenne, 750 ml de salive sont produites en 24 heures (entre 500 ml et 1,5l). De multiples facteurs influencent la sécrétion :

- le degré d'hydratation : Ainsi en cas de déshydratation, arrêt de production de salive pour conserver l'eau dans l'organisme (Edgar, 1992)
- les rythmes circadiens : sécrétion minimale nocturne, maximale au moment du repas
- Selon l'âge et les conditions physiques de la personne, le débit salivaire varie. Ainsi la xérostomie du sujet âgé est la conséquence de maladies systémiques, de traitements médicamenteux, mais aussi du processus de sénescence du parenchyme glandulaire.

2.7.2 - Modifications d'origine pathologique et iatrogène

- Variation suite à une pathologie

De nombreuses maladies systémiques affectent les glandes salivaires directement ou indirectement, et peuvent avoir un effet sur le débit et la composition de la salive. Voici celles où les symptômes salivaires et en particulier l'atteinte du débit sont importants (Kaufman et Lamster, 2002 ; Devoize et coll., 2010):

- maladies auto-immunes: syndrome de Gougerot-Sjögren, maladies rhumatoïdes, maladie du greffon contre l'hôte,
- maladies héréditaires: mucoviscidose, maladie coéliquaue,
- maladies neurologiques: maladie de Parkinson, maladie d'Alzheimer,
- séroposivité au VIH (virus de l'immunodéficience humaine ou sida),
- insuffisance rénale chronique,
- autres : troubles hépatiques, stomatodynie,...

L'ensemble de ces pathologies seront abordées dans la troisième partie de cet ouvrage.

- Variation suite à une origine iatrogène

Des effets d'hypersalivation ou d'hyposalivation peuvent survenir après :

- L'ingestion de substances médicamenteuses : les médicaments peuvent interférer sur le système nerveux voire sur la nature des glandes salivaires. Les traitements ayant un effet anticholinergique (bloqueurs muscariniques comme l'atropine, les antidépresseurs ou les antihistaminiques) provoquent une réduction importante du débit salivaire. À l'inverse, les substances agonistes de l'acétylcholine et/ou de la noradrénaline permettent la sécrétion d'une grande quantité de salive mais ces molécules sont rapidement métabolisées par l'organisme.
- L'exposition aux radiations ionisantes dans la sphère de la tête et du cou : Une radiothérapie conventionnelle expose le sujet à une dose totale comprise entre 50 et 70 Gy. Ainsi les glandes parotides exposées à des doses supérieures à 60 Gy sont endommagées de manière permanente. Toutefois, tout dépend du volume irradié et de la dose totale administrée. Mais il est indispensable d'apporter aux patients subissant ces traitements des alternatives pour soulager les symptômes des défauts de débit salivaire provoqués (Devoize et coll., 2010).

Toutes ces variations peuvent nuire à l'analyse des composants salivaires à visée diagnostic, cependant les évaluations qualitatives restent parfaitement exploitables.

Partie 2 : Les biomarqueurs de la santé générale dans la salive

1 - La salive, source de biomarqueurs

1.1 - Potentiel de la salive

La figure 6 illustre les différents constituants de la salive décrits précédemment (Cf. Partie 1 : 2.1).

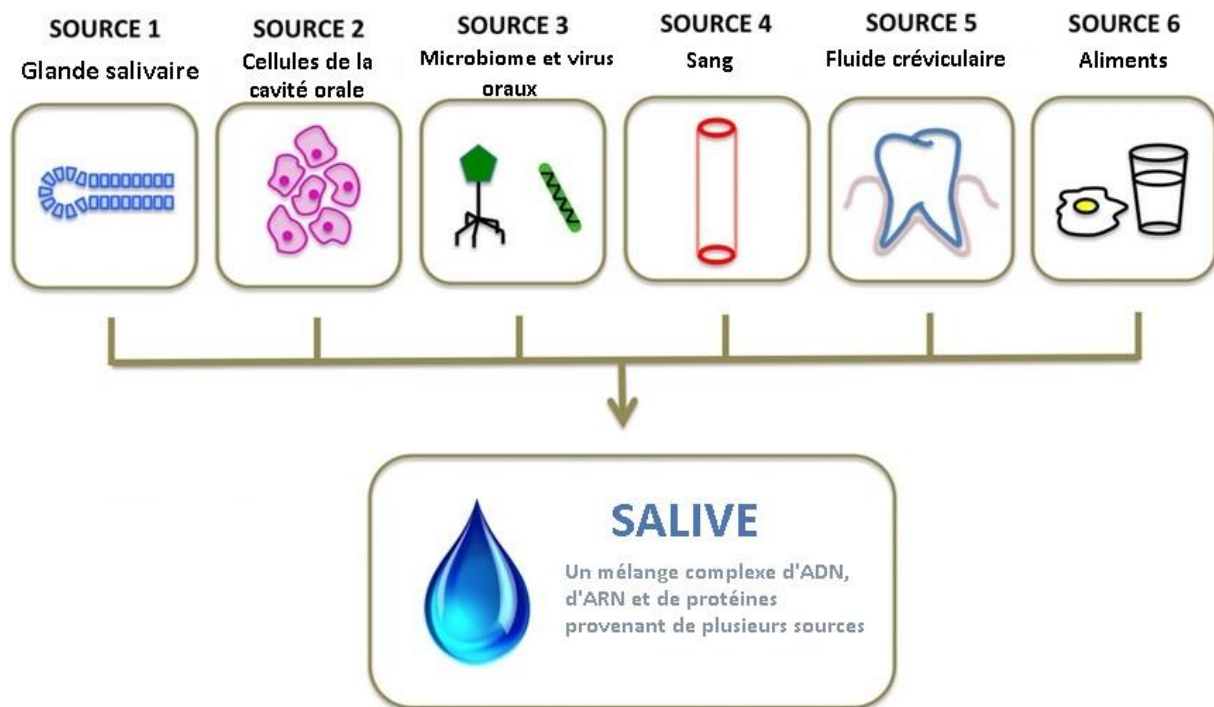


Figure 7 : Constituants de la salive ou fluide oral (Zhang et coll., 2014)

Il existe de nombreuses propriétés de la salive humaine que les cliniciens ou les chercheurs mettent en avant pour adopter l'usage des échantillons de salive et de renforcer l'utilisation de ce fluide dans les algorithmes de diagnostic :

- Collection non invasive ;
- Protocoles de collecte simple ;
- Échantillon non infectieux ;
- Élimination facile ;
- Facilement transportable ;
- Économiquement rentable ;

- Collection sûre et efficace ;
- Meilleure acceptation et collaboration des patients (sans heurter les dogmes culturels et religieux) (Khurshid et coll., 2016).

1.2 - Les biomarqueurs

L'administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments a établi une définition générale de ce que l'on appelle communément un biomarqueur. Il s'agit d'une caractéristique mesurée qui constitue un indicateur de la réalisation des processus normaux, pathogènes ou de la présence de réponses à une exposition ou une intervention (y compris thérapeutique). Les caractéristiques moléculaires, histologiques, radiographiques ou physiologiques sont des types de biomarqueurs. Un biomarqueur n'est pas une évaluation de la façon dont un individu se sent, fonctionne, ou survit mais un outil pour :

- Evaluer un risque,
- Etablir un diagnostic,
- Procéder à une surveillance,
- Emettre un pronostic,
- Prédire une évolution,
- Observer la réponse biologique/la pharmacodynamique,
- Assurer une sécurité (par exemple : les personnes portant le biomarqueur HLA-B*1502 ne peuvent pas prendre de traitement à base de carbamazépine) (Food And Drug Administration, 2016).

1.3 - Collection des échantillons salivaires

La collecte facile et rapide de la salive ainsi que les qualités mentionnées plus haut font de ce fluide biologique un outil de choix pour être la source de biomarqueurs. Pourtant des limites se sont posées dans la mise en place de protocoles, afin d'obtenir une reproductibilité des résultats.

1.3.1 – Collection des différentes salives

Selon le type de salive considéré, le protocole de collecte diffère.

Pour la collecter la salive, les patients doivent s'abstenir de manger, de boire et d'avoir tout geste d'hygiène bucco-dentaire pendant au moins 1 heure avant la collecte de la salive. Ainsi, l'heure optimale de collecte est à 8-10 heures du matin. Avant de procéder à celle-ci, il faut effectuer un rinçage de la bouche durant une minute avec de l'eau distillée puis, après 5 minutes, collecter environ 5 ml de salive. L'échantillon collecté doit être traité en laboratoire dans l'heure qui suit (Khurshid et coll., 2016).

- Collecte de la salive totale :
 - Non stimulée:
 - Collecte par écoulement passif: dans cette méthode, il suffit d'abaisser la tête et laisser la salive couler de la lèvre inférieure dans un flacon en plastique.
 - Collecte par crachats: demander au patient de cracher dans un flacon de collecte. Avec cette méthode, il y a quatorze fois plus de contamination bactérienne introduite dans l'échantillon.
 - Stimulée: Pour la stimulation des glandes, l'utilisation de divers stimulateurs comme la mastication de gomme naturelle ou de paraffine, ainsi que de l'acide citrique sont courants.

- Collecte de la salive parotidienne: pour l'obtenir la méthode introduite par Carlson et Crittenden (1910) est utilisée. Dans cette méthode, on utilise une coupelle métallique à double chambre avec deux tubes de sortie. Une extrémité retient la tasse en utilisant une aspiration sous vide. La deuxième sert de récipient collecteur pour la salive. La collecte des échantillons peut être améliorée en déposant de l'acide citrique (10%; 1 ml) sur le dos de la langue toutes les trente secondes. Par contre il est indispensable de jeter les premiers 1,5 ml de salive avant la collecte des échantillons (Khurshid et coll., 2016).

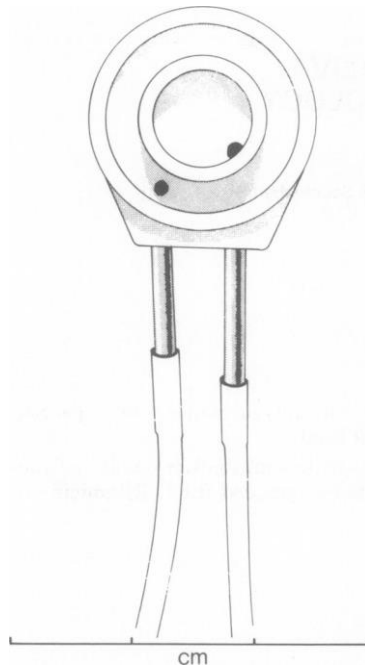


Figure 8 : Face inférieure de l'appareil de collection de la salive parotidienne (ou appareil de Carlson) (Stephen et coll., 1976)



Figure 9 : Appareil de Carlson positionné sur le conduit parotidien (Dhillon et coll., 2016)

- Collecte de la salive submandibulaire / sublinguale: Truelove, Bixler et Merrit (1967) ont utilisé un collecteur en forme de "V". Cette méthode est semblable à celle de la collecte de la parotide, mais dans cette méthode, les deux premiers millilitres sont éliminés (Khurshid et coll., 2016).

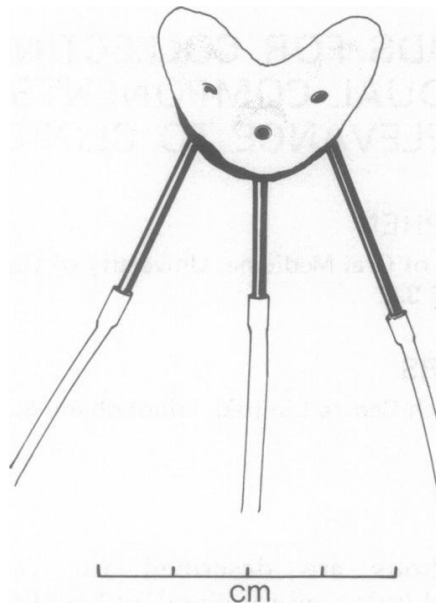


Figure 10 : Face inférieure de l'appareil de collection de la salive submandibulaire (Stephen et coll., 1976)

- Collecte de la salive des glandes mineures : Kutscher et coll. (1967) ont utilisé des tubes capillaires pour collecter la salive des glandes mineures situées à la surface des lèvres inférieures (Khurshid et coll., 2016).



Figure 11 : Tubes capillaires de collection salivaire : Microcaps® (Drummond Scientific)

1.3.2 - Critères de choix

La façon dont la salive est collectée est dictée par l'analyte testée et les informations désirées. Certaines considérations générales s'appliquent. Les aspects à considérer avant de commencer à recueillir la salive sont les suivants:

- Recueil de salive stimulée ou au repos. En cas de salive stimulée, il faut caractériser les paramètres de la stimulation. De nombreuses études ont utilisé de la gomme sans sucre car elle n'interfère pas avec les analyses de stéroïdes.
- Quantité de salive nécessaire pour compléter l'analyse.
- Prétraitement de la salive avant le dosage et le stockage jusqu'à l'analyse. Cela dépend essentiellement de la méthode de collecte et si un conservateur est utilisé.
- Contrôler l'absence de traitement ou de médicaments pouvant causer une sécheresse de la bouche ou modifier la production salivaire (hormone stéroïdiennes).
- Etablir le type d'analyses quantitatives ou qualitatives qui seront effectuées sur le spécimen (Hofman, 2001).

1.3.3 - Collecte des échantillons

Différentes études ont eu pour objet d'évaluer les conditions pour obtenir une salive la plus stable possible pour être un objet d'étude fiable. En 2007, une étude a démontré que pour obtenir un outil optimal, ces conditions devaient être réunies pour maintenir la stabilité des échantillons :

- Collecter sur un environnement froid (sur de la glace ou à 4°C),
- Ajouter un inhibiteur de protéases,
- Centrifuger l'échantillon pour retirer les matériaux insolubles,
- Conserver les échantillons à -20°C ou -80°C.

(Chevalier et coll., 2007).

Indépendamment de la méthode utilisée, il est impératif que les sujets nettoient la cavité buccale en rinçant avec de l'eau pour éviter la présence de contaminants avant la collecte (Yoshizawa et coll., 2011).

Dispositifs commerciaux

Pour commencer une procédure de diagnostic basée sur la salive totale, il faut d'abord recueillir les échantillons nécessaires. Bien que s'agissant d'une procédure

simple à bien des égards, la collecte de salive peut manifester des problèmes uniques au sein de certaines populations. Cela peut inclure le débit salivaire, le rythme circadien, le type de glande salivaire, le type de stimulus salivaire, le régime, l'âge, le statut physiologique et la méthode de collecte. Pour illustrer ce dernier point, des études récentes indiquent que l'utilisation d'écouvillons de coton peut introduire des biais indésirables (Kozaki et coll., 2011).

Aujourd'hui, un certain nombre d'entreprises fabriquent différents dispositifs visant à collecter la salive, dont les plus courants sont résumés ici:

Tableau 3 : Principaux dispositifs commerciaux de collecte salivaire (Yoshizawa et coll., 2011)

| Compagnie | Dispositif |
|------------------------------|--|
| Salimetrics | Saliva collection aid® Salimetrics oral swab® Salimetrics children's swab® Salimetrics infant's swab® |
| Oasis Diagnostics | DNA·SAL® UltraSal-2® Super·SAL® |
| Malvern Medical Developments | Oracol® |
| DNA Genotek | ORAc collect · DNA® Oragene · DNA® Oragene · RNA® |
| Immunalysis | Quantisal® |
| Norgen | Saliva DNA collection and preservation device® |
| Sarstedt | Salivette® |
| Biomatrica | DNAGard® |

Bien que le drainage, le crachat et l'aspiration restent les approches les plus communes, il n'existe actuellement aucune technique universellement acceptée pour la collecte d'échantillons de salive. Cela peut entraver le processus de recherche en rendant difficile la reproduction fiable des résultats. Après avoir fixé des lignes

directrices, la normalisation de la procédure pourrait résoudre les problèmes de confusion entre les chercheurs et atténuer une partie de la variabilité inhérente entre les individus et les populations (Yoshizawa et coll., 2011).

1.4 - Les champs d'investigation salivaires : Les salivaomics

La salive contient une variété de biomolécules, y compris l'ADN, l'ARNm, le microRNA, les protéines, les métabolites et le microbiota. Les changements de concentration de ces biomolécules dans la salive peuvent être utilisés pour développer des biomarqueurs afin d'aider à identifier certaines maladies, d'évaluer leur pronostic et leurs risques et de surveiller la réponse au traitement. Le terme «salivaomic» a été inventé en 2008 pour décrire le champ d'études sur la salive qui s'est développé depuis deux décennies. Le suffixe anglais «-omics» traduit l'ampleur du champ d'études qui consiste à traiter de la totalité des sujets concernant la salive, y compris le génome, l'épigénome, le transcriptome, le protéome, le métabolome et le microbiome (Zhang et coll., 2014).

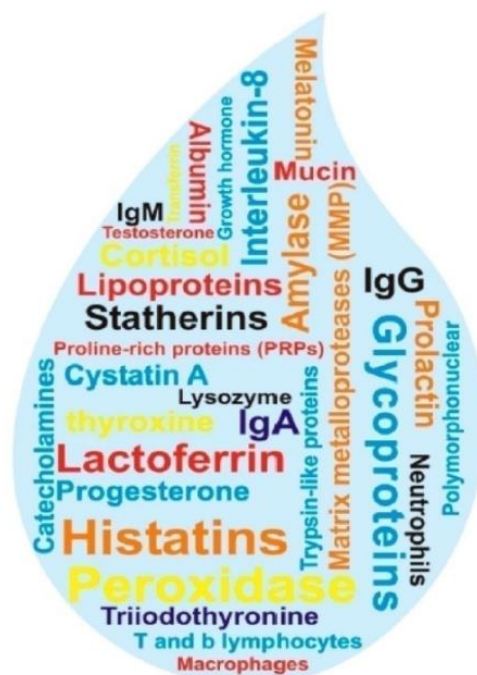


Figure 12 : Illustration représentant les protéines et peptides provenant d'une goutte de salive. (Khurshid et coll., 2016)

1.4.1 - Le protéome

Le mot "protéome", inventé par Mark Wilkins en 1961, est utilisé pour décrire toutes les protéines individuelles qui peuvent constituer un système biologique.

En termes simples, la protéomique est le dépistage des protéines, de leur expression, l'étude de leur distribution et de leur interaction dans le temps et l'espace, dans une cellule, des organismes ou un écosystème. Au cours des dernières années, une percée remarquable est apparue dans le domaine de la protéomique. D'environ 40 protéines identifiées au début des années 1980, plus de 3000 protéines différentes ont aujourd'hui été détectées (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

L'équipe menée par Schulz a examiné en 2013 un ensemble de données de protéines dans le plasma, compilé par des études antérieures dans le projet international de protéome du plasma humain. Elle a constaté qu'environ 30% des protéines totales de la salive se trouvent dans le plasma. Ce chevauchement montre des connexions raisonnables qui peuvent être établies entre le protéome salivaire et différentes parties du corps (Schulz et coll., 2013).

Toutefois, l'analyse protéomique de la salive est entravée par la présence abondante de certaines protéines, qui masquent ou réduisent la sensibilité des tests les détectant. Ces protéines comprennent principalement l'alpha-amylase, l'albumine et des protéines riches en proline (75% du protéome de la salive totale). Ces protéines gênent la détection de protéines de faible abondance apparaissant dans différentes conditions de maladie et, en conséquence, devraient être écartées de l'analyse.

Contrairement aux protéines sériques relativement stables, les protéines de la salive semblent être plus sensibles aux processus biochimiques et à la dégradation (Zhang et coll., 2014).

Actuellement, on connaît deux principales méthodes d'analyse protéomique:

- *L'électrophorèse sur gel bidimensionnelle (2DE) : qui permet la séparation de protéines en deux dimensions selon le point isoélectrique (IE) et le poids moléculaire (MW) de chacune des protéines.*
- *L'analyse par spectrométrie de masse (MS) qui permet d'identifier les protéines et leur évaluation qualitative (qualitative MS) ainsi que quantitative (quantitative MS). Les protéines identifiées par MS peuvent être analysées plus précisément par ionisation à l'électrospray (ESI), par désorption-ionisation laser assistée par matrice (MALDI), piège quadripolaire à ion linéaire, analyseur à temps de vol (TOF), analyseur TOF quadripolaire (QTOP), spectrométrie de masse à résonance cyclotronique ionique transformée de Fourier (FT-ICR) ou par OrbiTrap™ (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017)*

Nous verrons dans ce manuscrit que le protéome salivaire peut être utilisé pour établir des liens entre la salive et notamment la fibrose kystique, le diabète, la parodontite, les caries dentaires et le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). L'analyse protéomique salivaire peut même être utile pour les applications de sécurité sanitaire telles que l'exposition au rayonnement. Une application particulièrement intéressante des biomarqueurs protéomiques salivaires est l'application au carcinome épidermoïde oral (OSCC). L'OSCC constitue 90% de tous les cas de cancer de la tête et du cou. Bien que la cavité buccale soit très accessible, la plupart des cas d'OSCC ne sont pas détectés jusqu'à ce que le cancer se soit développé à des stades avancés. Il existe de nombreux efforts de recherche dédiés à l'étude des biomarqueurs salivaires en tant qu'analytes de diagnostic précoce fiables.

À l'heure actuelle, l'une des principales maladies pour laquelle le diagnostic salivaire est en voie de validation définitive est le syndrome primaire de Gougerot-Sjögren (SS) (Wang et coll., 2016).

1.4.2 - Le génome, le transcriptome

Le génome

Le génome salivaire se compose d'ADN humains et microbiens. Près de 70% du génome salivaire est d'origine humaine, alors que les 30% restants proviennent du microbiota oral. La qualité de l'ADN salivaire est bonne: 72 à 96% des échantillons peuvent être génotypés; 84% peuvent être amplifiés; et 67% peuvent être séquencés et stockés à long terme sans dégradation significative. Les analyses génétiques et épigénétiques salivaires fournissent des profils de transcription génique qui reflètent des processus génétiques pathologiques anormaux. La méthylation de l'ADN est un processus épigénétique qui peut changer en réponse au passage du temps, au développement ou à l'exposition environnementale. La méthylation aberrante des gènes est fréquente dans les cancers (Zhang et coll., 2014).

Le transcriptome

Le transcriptome étudie la qualité et la quantité de tous les transcrits de gènes présents dans une cellule pour un stade de développement ou un état physiologique spécifique. Il aide à révéler les éléments fonctionnels du génome ainsi que les composants moléculaires des cellules et des tissus. Il permet d'indiquer le stade de développement de l'individu et la présence ou non de maladies.

Les études de transcriptome ont porté principalement sur l'ARNm et le microARN (miARN), qui sont sécrétées à partir de cellules dont l'origine dans la cavité buccale provient de diverses sources : en particulier les glandes salivaires, le fluide crévulaire et les cellules épithéliales orales desquamées. La transcription de l'ARNm spécifique et du miARN est modifiée dans les états pathologiques. Des recherches récentes ont révélé la présence de plus de 3 000 espèces d'ARNm et 300 miARN dans la salive de sujets sains et malades, ce qui suggère que l'analyse transcriptomique peut être utile pour surveiller les états de santé et de maladie des patients (Zhang et coll., 2014).

Plusieurs exons salivaires ont déjà été identifiés pour permettre la détection de nombreuses maladies. Des auteurs ont récemment obtenu des preuves à partir de données conceptuelles selon lesquelles les biomarqueurs salivaires possèdent un

pouvoir discriminatoire pour la détection du cancer du pancréas avec une sensibilité¹ élevée (90,0%) et une spécificité² élevée (95,0%) qui ouvre la voie à une étude de validation du modèle de prédiction suivie d'une validation clinique essentielle (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

1.4.3 - Le métabolome

Le métabolome est l'ensemble de petits métabolites moléculaires des tissus vivants, y compris les intermédiaires métaboliques tels que les glucides, les lipides, les acides aminés, les acides nucléiques, les hormones et d'autres molécules de signalisation. Les métabolites salivaires sont importants pour élucider les voies qui mènent aux différentes maladies, ce qui les rend idéal pour la détection précoce d'un large éventail de pathologies, y compris le cancer buccal et les maladies parodontales.

Une étude systématique des métabolites est appelée métabolomique. Le rôle majeur de la métabolomique est d'identifier de nouveaux biomarqueurs métaboliques à partir de cellules, de tissus ou de fluides corporels au moyen de multiples plateformes analytiques pour discerner les divergences dans l'empreinte chimique de la salive des patients. Wang et coll. relèvent que différentes études ont permis d'identifier et d'annoter 308 métabolites salivaires dans la salive humaine. Par ailleurs, la recherche métabolomique de la salive menée à l'Université de Los Angeles (Californie, USA) par Sugimoto et coll. a permis de déterminer le profil métabolique

1

Définition sensibilité : La sensibilité d'un test décrit sa capacité à identifier correctement les patients atteints de la maladie. Il est très important de pouvoir utiliser des tests de haute sensibilité pour identifier différents résultats. Par exemple, un test clinique avec 75% de sensibilité identifie 75% des patients atteints de la maladie (vrais positifs), mais identifie aussi 25% des patients comme malades alors qu'ils ne le sont pas (faux négatifs).

2

Définition spécificité : La spécificité d'un test décrit la capacité du test clinique à identifier correctement les patients sains. Par exemple, un test clinique avec une spécificité de 75% montre de manière appropriée 75% des patients sains comme négatifs du test (vrais négatifs) mais identifie 25% de patients atteints de la maladie comme sains (le test est faussement identifié comme positif, il s'agit de faux positifs). Un test clinique avec une spécificité et une sensibilité élevées est nécessaire pour obtenir des résultats acceptables.

des patients atteints de cancer du poumon, de cancer du sein, de cancer du pancréas et de diabète (Wang et coll., 2016 ; Sugimoto et coll., 2010).

L'équipe menée par Kageyama a noté que les patients du syndrome de Gougerot-Sjögren expriment un ensemble plus petit de métabolites par rapport aux témoins en bonne santé. Les résultats présentés par ces auteurs sur les échantillons salivaires suggèrent le potentiel du profil métabolomique de ce fluide pour détecter une variété de maladies et permettre la mise en place de dispositifs de soins (Kageyama et coll., 2015).

1.4.4 - Le microbiome

La cavité buccale est un habitat riche et diversifié de bactéries et autres micro-organismes. Les études montrent qu'un déséquilibre de la flore buccale peut conduire à des maladies bucco-dentaires, ainsi qu'à des cancers et autres maladies systémiques. Avec plus de 10 000 espèces présentes, les scientifiques ont commencé à démêler les interactions complexes entre les microorganismes et le corps humain (Zhang et coll., 2014).

L'utilisation du séquençage du génome bactérien ainsi que d'autres techniques émergentes favorisent l'étude du microbiome salivaire et permettent d'identifier les associations entre des bactéries spécifiques ou d'autres microorganismes et des maladies orales ou systémiques. Les techniques communes utilisées par les chercheurs sont les microarrays bactériens, l'hybridation d'ADN, la PCR, le séquençage de nouvelle génération et le séquençage quantitatif de l'ARNr 16S. La technique la plus récente et prometteuse est l'emploi d'un microarray oligonucléotidique basé sur l'ARNr 16S, ce sont des puces à ADN communément appelé microarray d'identification de microbes humains (HOMIM). HOMIM a été utilisé dans des études comparant des échantillons de personnes malades à ceux témoins, afin de détecter les variations d'espèces du microbiote. L'objectif est d'identifier les profils pathogènes, de surveiller les changements et de cartographier les altérations identifiées chez les malades, qui sont pour nombre d'entre elles corrélées au microbiote (Zhang et coll., 2014).

D'après Farrell et coll., chez les patients atteints de cancer du pancréas, les concentrations de 31 espèces bactériennes ont augmenté tandis que celles de 25 autres ont diminuées par rapport à des sujets sains. Cette étude a permis d'identifier deux bactéries (*Neisseria elongata* et *Streptococcus mitis*) qui pouvaient être utilisées pour distinguer les patients atteints du cancer du pancréas (Farrell et coll., 2012).

Les maladies infectieuses, les maladies locales et systémiques qui ont été identifiées grâce au microbiome sont le VIH-1 (Virus d'Immunodéficience Humaine), le VIH-2, l'hépatite A, l'hépatite B, l'hépatite C, le paludisme, la dengue, la tuberculose, la maladie du virus Ebola, les maladies causées par la familles *Herpesviridae* (virus Epstein-Barr, l'herpès simplex virus, cytomégalovirus), le cancer buccal, à la maladie de Crohn, au cancer du pancréas et à la pancréatite chronique, à la maladie parodontale, à la carie dentaire et à l'obésité (Wang et coll., 2016).

1.4.5 - L'immunologie salivaire

Un secteur prometteur d'investigation dans le diagnostic salivaire, consiste en l'utilisation de marqueurs immunologiques d'infections systémiques pour diagnostiquer et pronostiquer des patients.

Les glandes salivaires étant hautement vascularisées, la concentration de marqueurs immunologiques est sensiblement comparable à celles du système vasculaire.

Cette similarité permet de développer des outils diagnostiques, notamment des kits de tests pour le sida déjà commercialisés, des études sont en cours concernant les hépatites A, B et C par des tests sur les immunoglobulines (IgA, IgM, IgG) avec pour l'hépatite C une précision de 97,5% mais dont le test n'est pas encore validé. Dans cette perspective, des antigènes spécifiques de *Plasmodium falciparum*, du virus de la dengue ou d'Ebola sont détectables dans la salive. La recherche de marqueurs immunologiques est donc un processus bien engagé mais doit être étendue pour obtenir plus de systèmes de dépistage pour une plus grande variété de microbes.

Les chercheurs de l'Université de Los Angeles (Californie, USA) se sont penchés sur les marqueurs de la maladie de Gougerot-Sjögren. Ils ont montré que les marqueurs immunologiques associés au protéome permettent la construction d'un profil

moléculaire discriminant les patients atteints de la maladie, de ceux atteints de lupus érythémateux et des individus sains.

L'utilisation de biomarqueurs immunologiques permet de diagnostiquer, de classer et prédire certaines maladies, mais son utilité est d'autant plus remarquable en complément d'autres biomarqueurs, car elle permet d'obtenir ces informations de manière fiable et plus claire (Wang et coll., 2016).

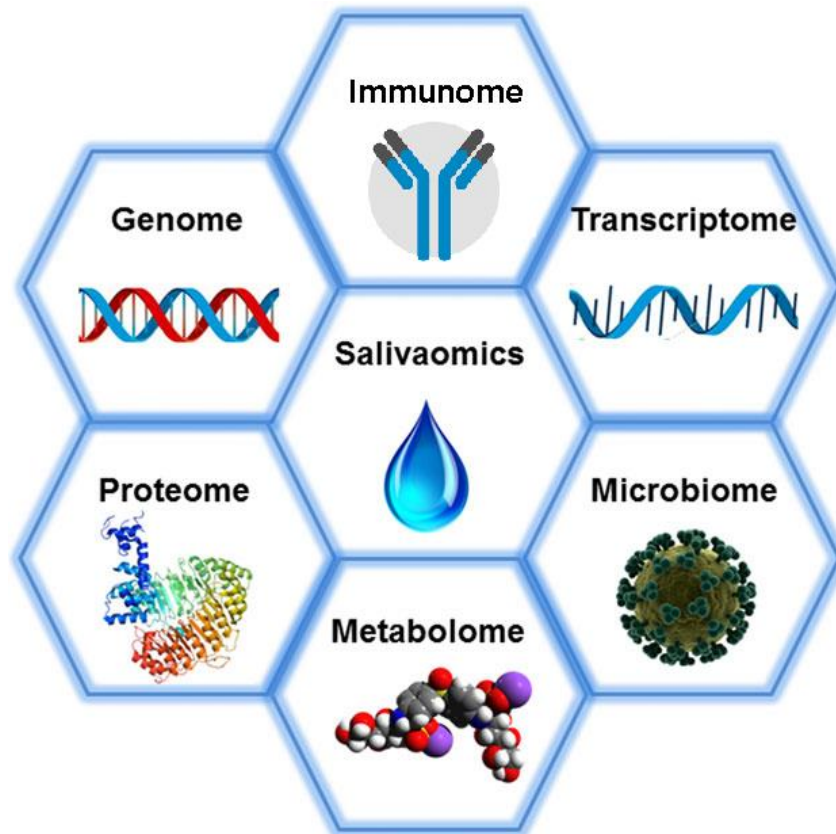


Figure 13 : Champs d'investigation des salivaomics (Zhang et coll., 2014)

2 - Les biomarqueurs de la santé générale dans la salive

Cette partie consiste à rassembler, sans être exhaustif, les avancées scientifiques identifiant les molécules qui sont potentiellement des biomarqueurs dans différentes maladies répertoriées selon la classification mis en place par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)

2.1 - Maladies infectieuses et parasitaires

2.1.1 - Maladies virales

Les tests diagnostiques pour les infections virales reposent actuellement sur des biomarqueurs salivaires, tels que l'ADN et l'ARN viral, des antigènes et des anticorps. Aujourd'hui, la salive est supérieure au sérum et à l'urine à la fois pour la sensibilité et la spécificité détectant le VIH, ce test est capable de détecter le déclin des taux d'IgA salivaire du VIH lorsque les patients sont infectés. Il a été suggéré que la détection d'anticorps IgA contre le VIH dans la salive pourrait donc être un indicateur pronostic de cette l'infection. La collecte et l'analyse de la salive offrent une méthode simple, sûre, bien tolérée et précise pour le diagnostic du VIH (Greabu et coll., 2009).

Au niveau protéomique, il existe des tests basés sur les anticorps présents dans la salive pour détecter différents virus, comme ceux de l'hépatite A, de l'hépatite B, de l'hépatite C, du VIH-1, du *Morbillivirus* causant la rougeole (avec 97% de sensibilité et 100% de spécificité), du *Paramyxoviridae* causant les oreillons (94% de sensibilité et 94% de spécificité), ou du *Togaviridae* causant la rubéole (98% de sensibilité et 98 % de spécificité) et de la stomatite vésiculeuse. L'Institut scientifique Raffaele de Milan a utilisé un nouveau test salivaire appelé test d'anticorps rapide du virus de l'hépatite C, OraQuick®, pour détecter ce virus de manière plus simple et plus rapide. Dans la littérature, certaines études montrent que la salive semble être plus sensible que le sang pour détecter le virus de l'herpès (HHV-6) ou du cytomégalovirus humain (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017 ; Zhang et coll., 2016).

2.1.2 - Maladies infectieuses d'origine bactérienne

Helicobacter pylori (*H. pylori*) est un agent pathogène bactérien microaérophile à Gram négatif qui se développe habituellement dans le mucus de l'estomac. L'infection à *H. pylori* est le facteur de risque le plus important pour le développement des ulcères gastriques et duodénaux. Cet ulcère est la maladie la plus fréquente du système digestif et a été classé comme cancérigène de type I par l'OMS en raison de son implication connue dans le développement du lymphome de l'intestin gastrique dans les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT).

Dans l'estomac, *H. pylori* peut être diagnostiqué au moyen d'une endoscopie (examen relativement pénible) et d'un test respiratoire à l'urée. Cependant, ce test respiratoire devrait être évité pour le diagnostic de cette infection car dans la salive, il existe aussi de nombreuses bactéries de type *Campylobacter* et *Streptococcus* donnant une réponse positive à l'urée, pouvant contribuer à des résultats faussement positifs du test respiratoire. En raison de ces faux positifs, la détection de *H. pylori* dans la salive par la technique de réaction en chaîne par polymérase (PCR) est plus efficace et plus fiable que le test respiratoire (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

2.1.3 - Maladies infectieuses d'origine fongique

Certaines infections locales fongiques, comme la candidose, ont déjà été diagnostiquées dans la salive (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

2.1.4 - Rejet du greffon par l'hôte

Les personnes ayant subi une greffe d'organe sont dans l'obligation de suivre un traitement antirejet pour maintenir la survie optimale du greffon, considéré par l'organisme comme un corps étranger à éliminer.

L'intensité de cette réponse peut-être suivie dans le protéome salivaire par la quantification de la concentration d'interleukine 1 et de cystatine B. Cette découverte est très intéressante et ouvre des perspectives de recherches importantes. Il est donc nécessaire de continuer à étudier ces phénomènes et augmenter le nombre de recherches à ce sujet (Khurshid et coll., 2016).

2.1.5 - Piqûres du moustique vecteur de la dengue

Les moustiques *Aedes aegypti* sont des vecteurs importants de maladies ré-émérgentes dans les pays en développement. L'exposition croissante à *Aedes* dans les pays industrialisés est actuellement une source de préoccupation car c'est un des vecteurs principaux de la dengue. Compte tenu des limites des méthodes entomologiques (zoologie des insectes) actuelles, il est nécessaire de créer un nouveau moyen efficace d'évaluer l'exposition à *Aedes*.

L'hypothèse soumise était d'évaluer les réponses d'anticorps spécifiques à *Aedes aegypti* dans la salive, comme biomarqueur de l'exposition à ces moustiques dans une zone urbaine endémique de dengue. Les réponses à IgG salivaires ont été fortes chez les jeunes enfants puis ont progressivement diminué avec l'âge. Les taux spécifiques d'IgG étaient significativement plus élevés chez les personnes vivant dans des sites ayant une présence d'*Aedes aegypti* plus élevée, mesurée en utilisant des paramètres entomologiques. Il y a donc une corrélation significative entre l'IgG salivaire et le niveau d'exposition, indépendamment de l'âge ou du sexe. Ces résultats suggèrent que les réponses d'anticorps dans la salive pourraient être utilisées pour surveiller l'exposition humaine aux piqûres d'*Aedes* (Doucoure et coll., 2012).

2.1.6 - Paludisme

En 2015, près de la moitié de la population mondiale était exposée au risque de contracter le paludisme même si la plupart des cas de paludisme surviennent en Afrique subsaharienne, avec 212 millions de cas de paludisme et 429 000 décès selon les dernières estimations de l'OMS (OMS, 2017).

Une analyse protéomique d'échantillons de salive a été réalisée chez 17 enfants souffrant de fièvre due au paludisme, et chez 17 enfants témoins. La signature protéomique des patients malades a révélé une forte production de protéines inflammatoires et érythrocytaires. Trois protéines de *Plasmodium falciparum* (PFL0480w, PF08_0054 et PFI0875w) ont été identifiées chez les patients atteints de paludisme mais pas chez les patients témoins.

Cette étude montre que la salive est un échantillon clinique approprié pour la découverte de biomarqueurs. Les protéines parasitaires et plusieurs biomarqueurs potentiels ont été identifiés chez les patients atteints de paludisme mais pas chez les patients présentant d'autres causes de fièvre. La performance diagnostique de ces marqueurs devrait être abordée de manière prospective (Huang et coll., 2012).

2.2 – Tumeurs malignes

L'oncologie est une branche de la médecine qui traite de la prévention, du diagnostic et du traitement du cancer. La salive est un moyen de diagnostic utile dans la détection précoce de divers cancers touchant la cavité orale, du pancréas, du sein, du poumon ou le système gastrique. L'objet principal du domaine de recherche des diagnostics salivaires est de détecter ou de surveiller ces différents types de cancer.

2.2.1 - Cancers Oraux

L'utilisation de biomarqueurs salivaires pour le dépistage précoce du cancer de la bouche, pour lequel le taux de survie à cinq ans est encore très faible (62%), a récemment suscité beaucoup d'intérêt au sein de la communauté scientifique. Plus de 90% des cancers de la bouche sont des carcinomes épidermoïdes oraux (OSCC : Oral Squamous Cell Carcinoma) et la plupart des OSCC sont diagnostiqués à un stade avancé, soulignant ainsi la nécessité d'aides diagnostiques cliniques pour le dépistage précoce de ceux-ci (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

À l'heure actuelle, plus de 100 biomarqueurs d'OSCC de différents types ont été signalés dans la littérature et les diverses technologies abordées précédemment ont été utilisées pour leur découverte (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017). Ces biomarqueurs sont de type transcriptome, protéome, métabolome, microbiome ou une association de ces derniers.

- Génome, transcriptome

Des mutations somatiques de l'ADN spécifique de la tumeur, se retrouve dans la salive, le plasma ou d'autres fluides corporels. Ces mutations somatiques peuvent

être utilisées comme biomarqueurs pour diagnostiquer des tumeurs orales ou autres. Dans la salive, la présence d'ADN spécifique de la tumeur buccale était détectée chez 100% des patients développant cette dernière. Ainsi, la surabondance d'ADN tumoral dans la salive pourrait potentiellement être un outil de diagnostic des cancers oraux (Zhang et coll., 2016).

L'évaluation des miARN de la salive montre qu'ils sont exprimés différemment chez les malades (patients atteints de carcinome épidermoïde de la tête et du cou) et chez des patients sains. Ils peuvent servir de nouveaux biomarqueurs pour détecter de manière fiable le carcinome. Ainsi, les miARN dérivés de la salive (miR-9, miR-134 et miR-191) pourrait être utilisés comme des biomarqueurs pour détecter de manière fiable le carcinome épidermoïde de la tête et du cou (Rathnayake et coll., 2017).

D'autres auteurs rapportent que les patients atteints de carcinome épidermoïde oral (OSCC) présentent dans leur salive des niveaux de miARN inférieurs miR-125a et de miR-200a par rapport aux individus sains (Zhang et coll., 2016).

- Protéome

Les protéines tumorales salivaires peuvent également être utilisées pour détecter certains cancers. Ainsi, il a été rapporté que l'augmentation de l'antigène tumoral CA15-3 et les anticorps pour les marqueurs de protéines tumorales c-erbB2, CA-125 et P53 dans la salive peuvent également être considérés comme des biomarqueurs salivaires pour les cancers buccaux et extra-buccaux.

Les protéines inflammatoires telles que l'IL-6 et IL-8 avaient une concentration élevées chez les patients avec un cancer des voies aéro-digestives ayant un antécédent de cancer (Rathnayake et coll. 2017)

De même, les niveaux d'IL-4, IL-10, IL-13 et IL-1Ra sont augmentés dans la salive des patients atteints d'OSCC. Il est à noter que le niveau d'IL-1RA était le plus élevé dans les lésions OSCC mal différenciées par rapport aux lésions OSCC bien et modérément différenciées. Une étude similaire a révélé que les niveaux du TNF- α étaient plus élevés chez les patients atteints de tumeurs modérément et mal différenciées que ceux ayant des tumeurs bien différenciées et au stade IV. De plus,

il y a une corrélation positive entre le classement histologique de l'OSCC et le TNF- α (Zhang et coll., 2016).

L'équipe dirigée par Rathnayake complète ces découvertes avec d'autres biomarqueurs connus tels que l'interféron-gamma (IFN- γ), et l'IL-1 β .

D'autres études ont montré que l'hyaluronidase, la surexpression de la glyco-protéine zinc- α -2 dans la salive des patients cancéreux, ainsi que d'autres protéines (MRP14, M2BP, CD59, catalase, profiline, M2BP, involucrine, histone H1, S100A12, et S100P) pouvaient être utilisés dans le diagnostic des cancers buccaux (Khurshid et coll., 2016) (Zhang et coll., 2016).

Ces auteurs concluent tout de même que ces biomarqueurs, malgré un potentiel prometteur, ont une fiabilité encore trop dépendante des méthodes et techniques d'analyse utilisées mais aussi de l'état inflammatoire de la cavité buccale qui serait un biais dans l'analyse de ces cytokines poussant à considérer ces résultats avec prudence (Rathnayake et coll. 2017).

- Métabolome

Les patients atteints d'OSCC possèdent un marqueur spécifique du stress oxydatif, le malondialdéhyde (MDA) présent dans leur salive, plus sensible et spécifique il semble être un meilleur outil de diagnostic par rapport au MDA sérique. Sont aussi présentes plusieurs variations d'autres molécules comme le facteur de croissance transformant-bêta-1 (TGF- β 1), le facteur de croissance épidermique (EGF), facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) et l'endothéline (Rathnayake et coll., 2017).

De plus, les changements de concentration de la valine, l'acide lactique et la phénylalanine ont permis de différencier un sujet sain, d'un sujet malade et d'un sujet présentant des conditions précancéreuses, avec une sensibilité élevée (90%) et une spécificité intéressante (83%). De même, une étude récente signale des différences significatives comparées aux sujets sains dans la concentration de choline, de bêtaïne, d'acide pipécolinique (élevé dans les OSCC) et de L-carnitine (faible dans les OSCC). Enfin, de nouvelles techniques d'analyse a permis d'identifier cinq

nouveaux marqueurs métaboliques pour les OSCC, tels que la propionylcholine, le N-acétyl-L-phénylalanine, sphinganine, phytosphingosine et S-carboxyméthyl-L-cystéine (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

- Microbiome

Avec le développement de la technologie de séquençage à haut débit, les chercheurs se sont rendu compte de l'importance des microorganismes dans le développement du cancer buccal. La diversité des espèces et l'abondance relative des bactéries dans la salive des patients atteints de tumeurs buccales sont plus importantes que chez les patients en bonne santé, mais une élimination des facteurs confondant tels que la parodontite devrait être considérée (Zhang et coll., 2016).

- Association de biomarqueurs

Dans certaines études, les biomarqueurs salivaires évalués ont été plus prédictif dans les stades primaires que les stades avancés des OSCC (Guerra et coll., 2015). L'association de certains de ces biomarqueurs (interleukine-8, choline, acide pipécolinique, L-phénylalanine et S-carboxyméthyl-L-cystéine) peut améliorer la précision du test diagnostique (Guerra et coll., 2015).

De même que l'association de cinq protéines : M2BP, MRP14, profiline, CD59 et catalase a pu discriminer le cancer buccal avec une précision clinique de plus de 90% (sensibilité de 90% et spécificité de 83%).

Des biomarqueurs d'ARN salivaire pour les OSCC au moyen d'une analyse par microarray, y compris des transcriptions d'IL8, IL-1 β , DUSP1, HA3, OAZ1, S100P et SAT discriminent le cancer oral avec 91% de sensibilité et 91% de spécificité.

Les biomarqueurs salivaires représentent une approche prometteuse pour la détection du cancer buccal. Cependant, il reste certains problèmes à résoudre pour que cette approche soit une méthode fiable, hautement sensible et spécifique de diagnostic (Dahiya et coll., 2016).

Toutes ces études démontrent que des biomarqueurs salivaires peuvent être utilisés pour diagnostiquer plusieurs types de cancers buccaux, en particulier dans leurs premiers stades. Cependant, tous les biomarqueurs ne présentent pas les mêmes degrés de précision et à l'heure actuelle, seulement certains d'entre eux ont une fiabilité prouvée. L'utilisation de biomarqueurs combinés semble, en revanche, entraîner une meilleure précision avec une sensibilité et une spécificité plus élevées, par rapport à l'utilisation de biomarqueurs isolés.

2.2.2 - Cancer du sein

Le cancer du sein est la forme la plus commune de cancer et la première cause de décès par cancer chez les femmes en France. Malgré les progrès réalisés dans son traitement, plus de 11 900 personnes sont mortes de cette maladie en France en 2015. La plupart des cancers du sein sont diagnostiqués à un stade tardif, entraînant des taux de mortalité élevés. La mammographie de dépistage traditionnel est considérée comme le diagnostic de référence du cancer du sein, mais la sensibilité de cet examen est variable selon le type de mammographie. D'autres biomarqueurs de ce cancer sont à l'étude :

- **Transcriptome**

Utilisant les technologies récentes de profilage des transcriptomes salivaires, huit biomarqueurs d'ARNm et un biomarqueur de protéines ont été validés pour la détection du cancer du sein, avec une précision de 92% (83% de sensibilité, 97% de spécificité) (Wang et coll., 2017).

- **Protéome**

Les niveaux de CA15-3 et c-erB-2 ont également été augmentés dans la salive des patients malades, ces taux salivaires sont positivement corrélés avec les taux sériques des patientes atteintes de cancer du sein (Zhang et coll., 2016).

CA15-3 est désormais un biomarqueur protéomique approuvé par la Food and Drug Administration des États-Unis (FDA) pour surveiller la métastase du cancer du sein (Wang et coll., 2017).

L'expression de la protéine de résistance du poumon (LRP) dans la salive a été mesurée dans les échantillons de salive obtenus chez 16 sujets sains, et chez 16 patientes atteintes de tumeurs du sein. Les analyses de ces échantillons ont montré que les niveaux de LRP sont significativement plus élevés chez les sujets atteints de cancer du sein par rapport aux femmes en bonne santé (Wang et coll., 2017).

- Métabolome

ATP6AP1 est une ATPase exprimée dans des tissus normaux tels que la moelle osseuse, le sang, les nerfs et la peau. Cette enzyme est corrélée avec plusieurs tumeurs dont le cancer du sein et pourrait contribuer à la détection précoce de ce dernier.

Dans une autre étude, on a constaté que les niveaux de facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), de facteur de croissance épidermique (EGF) et d'antigène carcino-embryonnaire dans la salive étaient significativement augmentés chez les patientes atteintes de cancer du sein (Zhang et coll., 2016).

Une analyse des métabolites d'échantillons salivaires obtenus auprès de 60 patientes atteintes d'un cancer du sein et 20 contrôles sains a révélé que cinq biomarqueurs potentiels (Choline, Isethionate, Cadavarine, N1-Acetylspermidine et Spermine) ont montré des concentrations significativement plus élevées chez les patientes atteintes de cancer du sein comparativement à des individus en bonne santé. De plus une analyse de la métabolomie de la salive humaine a permis d'identifier de nombreux biomarqueurs susceptibles de diagnostiquer et de déterminer le stade du cancer du sein. Parmi ceux-ci, certaines molécules ont révélé des différences significatives telles que, la lysophosphatidylcholine et le monoacylglyceride (Wang et coll., 2017).

La taurine semble intéressante en ce qui concerne l'identification des stades précoces du cancer du sein, tandis que la valine a démontré un excellent résultat au

test de précision diagnostique pour les stades avancés. L'augmentation de l'acide sialique salivaire peut être un marqueur prédictif utile pour ce cancer (Porto et coll., 2017).

- Association de biomarqueurs

La combinaison de ces molécules : CSTA + TPT1 + IGF2BP1 + GRM1 + GRIK1 + H6PD + MDM4- + S100A8 + CA6 a présenté un excellent résultat au test de précision diagnostique, distinguant précisément les patientes atteintes du cancer du sein des témoins (Porto et coll., 2017).

Toutes ces études montrent l'intérêt croissant des métabolites salivaires dans l'identification de biomarqueurs cancéreux pouvant orienter le diagnostic. Cependant, à ce jour, les preuves restent trop limitées pour confirmer l'utilisation des biomarqueurs salivaires comme outils de diagnostic de ce cancer.

2.2.3 - Cancer gastrique

Le cancer gastrique est le quatrième cancer le plus courant et l'une des principales causes de décès liée au cancer dans le monde entier. Environ 880 000 personnes succombent dans le monde à cette malignité chaque année. Une telle mortalité élevée est principalement due au diagnostic retardé, car les premiers stades du cancer gastrique sont généralement asymptomatiques ou ne causent que des symptômes non spécifiques. Trois marqueurs salivaires ont été associés au cancer gastrique: la présence des protéines cystatine B (CSTB) et triosephosphate isomérase (TPI1) et la perte du gène suppresseur de tumeur cérébrales 1 (DMBT1). Ces marqueurs pourraient être utilisés pour différencier les patients atteints de cancer gastrique des sujets témoins avec 85% de sensibilité et 80% de spécificité (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

Bien que l'incidence et la mortalité aient considérablement diminué au cours des dernières décennies, *H. pylori*, causant l'inflammation de la muqueuse de l'estomac, peut également conduire à un cancer gastrique. Des niveaux cliniquement pertinents de deux métabolites de *H. pylori* dans la salive, NH₃ et CO₂, pourraient être utilisés

en complément des analyses de routine pour diagnostiquer ces cancers (Wang et coll., 2017).

2.2.4 - Cancer des Poumons

Le cancer du poumon est la principale cause de décès par cancer chez les hommes et les femmes du monde entier. Étant donné que la plupart des symptômes constatés pour le cancer du poumon ne sont pas spécifiques, le diagnostic se fait principalement à la fin et à un stade avancé avec un mauvais taux de survie. Des techniques efficaces de détection précoce sont nécessaires. Le domaine émergent du diagnostic salivaire pourrait fournir des méthodes de détection scientifiquement crédibles, faciles à utiliser, non invasives et rentables.

Certaines techniques peuvent détecter les mutations du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) directement dans les fluides corporels, y compris la salive. L'étude des marqueurs hormonaux circulants d'une biopsie liquidienne est possible par L'EFIRM (Electric Field Induced Release and Measurement) qui est une méthode d'analyse électrochimique basé sur des sondes d'acide nucléique fixées capturant les séquences mutées après l'application de champs électriques pour faciliter le processus d'hybridation. En raison de la rapidité et de la simplicité de la méthode, EFIRM pourrait être un outil potentiellement intéressant pour la surveillance de la mutation oncogène des patients. Un test en aveugle a été effectué sur des échantillons de salive provenant de 40 patients atteints de carcinome pulmonaire à petites cellules (non-small cell lung carcinoma (NSCLC)). EFIRM a permis de détecter la suppression de l'exon 19 et les mutations L858R dans les échantillons de salive et de plasma de patients atteints de cancer du poumon, et a mis en évidence une surexpression de la mutation L858R, légèrement plus élevée dans la salive que dans le plasma (Wang et coll., 2017).

- Transcriptome

Les transcriptomes salivaires de patients atteints de cancer du poumon ont été établis et ont mené à la découverte et à la pré validation de sept biomarqueurs transcriptomiques hautement discriminatoires (BRAF, CCNI, EGRF, FGF19, FRS2,

GREB1 et LZTS1). Le modèle de régression logistique combinant cinq des biomarqueurs d'ARNm (CCNI, EGFR, FGF19, FRS2 et GREB1) pourrait différencier les patients atteints de cancer du poumon des sujets témoins sains, avec une sensibilité de 93,75% et une spécificité de 82,81%. Ces biomarqueurs d'ARNm salivaires sont discriminant de la détection du cancer du poumon. Ces résultats ont mis en évidence des biomarqueurs salivaires qui nécessitent d'être validés par des études multicentriques à cohorte importante pour être définitivement utilisés comme outil diagnostique de détection non invasive du cancer du poumon. Ainsi l'équipe menée par Zhang a initié une validation multi-centre PRoBE (acronyme de prélèvement d'échantillons prospectifs, évaluation aveugle rétrospective) afin de les valider (Zhang et coll., 2012).

- Protéome

Il existe en particulier trois protéines : haptoglobine, zinc- α -2-glycoprotéine et calprotectine, qui peuvent discriminer les patients atteints de cancer du poumon d'individus en bonne santé. Ce sont des biomarqueurs efficaces avec une sensibilité de 88,5% et une spécificité de 93,3%, qui pourraient être utilisés pour la détection précoce et le pronostic du cancer du poumon (Zhang et coll., 2016).

2.2.5 - Cancer du pancréas

Le cancer du pancréas affecte environ 340 000 individus et 330 000 succombent à la maladie chaque année dans le monde. La survie à cinq ans pour le cancer du pancréas est la plus basse de tous les cancers qui touchent l'être humain.

- Transcriptome

Les transcriptomes des échantillons de salive de 42 patients atteints de cancer du pancréas, dont 30 patients atteints de pancréatite chronique et 42 sujets témoins sains ont montré que la combinaison de 4 biomarqueurs d'ARNm (KRAS, MBD3L2, ACRV1 et DPM1) pourrait différencier les premiers des seconds avec une sensibilité élevée de 90,0% et une spécificité de 95,0%.

Il a été montré que les ARNm sont importants dans les diagnostics salivaires. Les meilleurs candidats sont 5 miARN (miR-17, miR-21, miR-181a, miR-181b et miR-196a) qui ont été exprimés différemment dans les échantillons de salive des patients atteints de cancer du pancréas par rapport aux témoins. Wang et son équipe rapportent que parmi 94 miARNs salivaires examinés chez les patients atteints de cancer du pancréas, de pancréatite, de néoplasie muqueuse papillaire intraductive et des témoins sains, les transcriptomes miR-21, miR-23a, miR-23b et miR-29c sont présents de manière significative dans la salive des patients atteints de cancer du pancréas par rapport aux témoins, montrant une spécificité parfaite (100%), mais avec une faible sensibilité respectivement de 71,4%, 85,7%, 85,7% et 57% (Wang et coll., 2017). De plus que les ARN miR-23a et miR23b ont été surexprimés dans des lésions au stade précoce (Zhang et coll., 2016).

Des puces à ADN (microarray) ont été utilisées pour évaluer le miARN salivaire des patients atteints d'un cancer pancréatique résecable. Le modèle combinant miR-3679-5p et miR-3679-5p a permis de distinguer le cancer du pancréas résecable, présentant respectivement des sensibilités de 72,5%, 62,5%, 70,0% et des spécificités de 70%, 80% et 70% (Wang et coll., 2017).

Selon l'équipe dirigée par Kaczor-Urbanowicz, le pouvoir discriminatoire des miARN salivaire permettrait de différencier les patients atteints de tumeurs pancréatiques non opérables de ceux présentant des lésions précancéreuses, des maladies inflammatoires ou des sujets témoins sans cancer (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

L'équipe de Liu a utilisé une méthode de calcul efficace pour utiliser pleinement l'information à partir du transcriptome salivaire. Elle a caractérisé les gènes liés au cancer du pancréas grâce à une méthode de classification fondée sur des caractéristiques biologiques et a identifié 29 biomarqueurs d'ARNm salivaires, parmi lesquelles: *CA2*, *HES1*, *MGMT*, *STAT5B*, *FOXC1*, *MCM7* et *PDGFRA*. Ces nouveaux biomarqueurs d'ARNm identifiés s'ajoutent à ceux déjà mis en évidence et renforcent l'intérêt des tests salivaires pour la détection précoce plus précise et plus spécifique du cancer du pancréas (Liu et coll., 2017).

- Métabolome

Dans la famille métabolomique, huit marqueurs spécifiques du cancer du pancréas (leucine avec isoleucine, tryptophane, valine, acide glutamique, phénylalanine, glutamine et acide aspartique), permettraient de discriminer les sujets sains des sujets atteints de cancer du pancréas (Wang et coll., 2017).

De plus une surexpression du récepteur au facteur de croissance épidermique (EGFR) a été détectée dans la salive de patients avec le cancer du pancréas (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

- Microbiome

Une variation significative du microbiote salivaire a été relevée entre 10 sujets atteints de cancers du pancréas et 10 sujets témoins en utilisant une microarray d'identification microbienne orale humaine (HOMIM), puis validée au moyen d'une qPCR. Il a été noté une diminution de 25 espèces bactériennes dans la salive et la présence combinée de *N. elongata* et de *S. mitis* ont permis de distinguer les patients atteints de cancer du pancréas des sujets sains avec une sensibilité de 96,4% et une spécificité de 82,1%. Ces données sont complétées par la présence significativement plus élevée de *Leptotrichia* et *Porphyromonas* dans la salive des patients diagnostiqués avec un cancer du pancréas par rapport aux témoins sains et à ceux souffrant d'autres maladies (Wang et coll., 2017).

2.2.6 - Cancer de la prostate

Le cancer de la prostate se situe au premier rang des cancers chez l'homme, la mortalité suite à ce cancer ne cesse de diminuer mais une prise en charge précoce grâce aux biomarqueurs continuera à lutter contre ce cancer.

MiR-141 et miR-21 sont deux biomarqueurs de la tumeur de la prostate détectés dans la salive. Le premier est significativement élevé chez les patients atteints de cancer de la prostate à un stade avancé, alors que le dernier est surexprimé dans le cancer de la prostate à un stade précoce. On espère que leur détection permettra une approche non invasive pour diagnostiquer le cancer de la prostate, en particulier

à ses prémices après validation dans des cohortes plus importantes (Zhang et coll., 2016).

En conclusion, toutes ces différentes publications mettent en avant la possibilité de diagnostic non invasif par le biais de biomarqueurs salivaires afin de mettre en évidence certains cancers.

Toutefois, en dépit de l'intérêt scientifique des biomarqueurs salivaires pour la détection de maladies humaines, l'absence d'une dissémination identique et reproductible des molécules tumorales issues des différents cancers dans la salive nuit à l'application et son utilité clinique comme outil diagnostic.

À l'heure actuelle, les microvésicules dérivées des cellules tumorales (exosomes) présentent un intérêt pour les chercheurs, car ils pourraient être la clé pour comprendre la communication entre le cancer et la cavité buccale, entraînant un nouveau champ d'investigation prometteur dans le développement de biomarqueurs salivaires spécifiques de tumeurs.

2.3 - Maladies auto-immunes

2.3.1 - Syndrome de Gougerot-Sjögren

Le syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) est une maladie auto-immune systémique et chronique caractérisée par une kératoconjonctivite et une xérostomie. Avec le développement du SGS, le débit salivaire est diminué et les constituants salivaires changent.

Ainsi, les études protéomiques montrent une diminution du niveau de cytokines telles que IL-2, IL-4, IL-5 et d'IL-6 qui pourrait aider de diagnostiquer les patients atteints du SGS.

On constate également une augmentation de la concentration des éléments métabolomiques suivants : IgA, IgG, IgM, Na, lactoferrine, albumine, microglobuline β_2 , cystatine S et C, lipides, prostaglandines E2 et thromboxane B2.

Les analyses génomiques ont identifiés 19 gènes (EPSTI1, IFI44, IFI44L, IFIT1, IFIT2, IFIT3, MX1, OAS1, SAMD9L, PSMB9, STAT1, HERC5, EV12B, CD53, SELL, HLA-DQA1, PTPRC, B2M et TAP2) qui seraient étroitement liés au processus pathologique de SGS, caractérisé par des fonctions telles que l'induction d'interférons, l'osmose des lymphocytes et la présentation d'antigènes.

La découverte avec succès d'un panel de biomarqueurs chez les patients atteints du SGS primaire, y compris l'association de trois biomarqueurs d'ARNm (antigène de différenciation nucléaire de cellules myéloïdes, protéines de liaison au guanylate 2 et récepteur IIIb à faible affinité pour le fragment Fc d'IgG) et de trois biomarqueurs de protéines (cathepsine D, A-énolase et β 2-microglobuline), constitue un pas de plus vers la validation d'un diagnostic de SGS à partir de biomarqueurs. La synthèse des données du protéome et du transcriptome pourrait déboucher sur le développement d'un outil clinique peu coûteux et simple pour le diagnostic des SGS primaires et secondaires dans les premiers stades (Zhang et coll., 2016 ; Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017 ; Khurshid et coll., 2016).

2.3.2 - Sclérodémie systémique

La sclérodémie systémique (ScS) est une maladie auto-immune caractérisée par une fibrose progressive de la peau et des organes internes. Une étude a établi une corrélation entre les niveaux de psoriasine salivaire (S100A7) et l'atteinte pulmonaire chez les patients atteints de ScS par rapport à des populations saines. Les résultats montrent une augmentation de la psoriasine chez les patients souffrant de ScS. Son dosage pourrait être une méthode rapide permettant aux cliniciens d'évaluer l'atteinte pulmonaire, qui jusqu'à maintenant n'est révélée que par l'utilisation de techniques plus invasives et coûteuses (Giusti et coll., 2016).

2.4 - Maladies endocriniennes, nutritionnelles et métaboliques

2.4.1 - Diabète

L'une des maladies chroniques les plus courantes est le diabète, qui se produit soit lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline, soit lorsque le corps ne peut pas utiliser efficacement l'insuline qu'il produit. L'hyperglycémie est un effet du

diabète incontrôlé et au fil du temps entraîne des dommages graves au niveau de plusieurs organes du corps, principalement les vaisseaux sanguins et les nerfs.

Le diabète sucré est un trouble métabolique qui conduit à des changements morphologiques dans les glandes salivaires et la composition de la salive. Selon Malicka et ses co-auteurs, la myéloperoxydase et l'IgA sont corrélées avec un état parodontal altéré chez les patients diabétiques (Malicka et coll., 2015).

Dans une étude transversale portant sur 451 patients, Rathnayake et son équipe ont trouvé des niveaux salivaires élevés de métalloprotéases matricielles MMP-8 chez les patients diabétiques (Rathnayake et coll., 2017).

- Diabète de type 1 :

Chez les patients atteints de diabète de type 1, la N-acétyl- β -d-hexosaminidase salivaire a été significativement augmentée par rapport aux sujets témoins sains. Tandis qu'une autre étude a détecté 52 protéines différentes et certains biomarqueurs inflammatoires salivaires hautement liés au diabète (Rathnayake et coll., 2017).

L'étude menée par Caseiro s'est focalisée sur le diabète de type 1 : les résultats du protéome salivaire ont mis en évidence une surexpression des régulateurs endogènes comme le récepteur de type Toll Like Receptor (TLR), les anticorps MRP8/14 et la protéine PAUF, affectant l'activation de la protéine myéloïde MyD88 dépendante du facteur de transcription NF- κ B et l'expression du facteur de nécrose tumorale TNF- α dans la salive des sujets atteints de rétinopathie et de néphropathie liée au diabète (Caseiro et coll., 2013).

- Diabète de type 2 :

Chez les patients souffrant de diabète sucré de type 2, une corrélation positive existe entre l'hémoglobine glyquée (HbA1c) et la quantité totale de protéines (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

Une corrélation positive a été trouvée entre l'HbA1c et la glycoprotéine α -2-macroglobuline. Le niveau de cette protéine salivaire pouvait refléter le contrôle glycémique chez les patients atteints de diabète de type 2. En revanche, la concentration de la mélatonine salivaire a diminué chez les patients atteints de diabète de type 2. Cela indique que la mélatonine salivaire pouvant jouer un rôle important dans la pathogenèse du diabète et pourrait devenir un biomarqueur clé dans le diagnostic et le traitement de cette maladie. Par ailleurs, les patients atteints de diabète de type 2 avaient des niveaux significativement plus élevés de glucose et d' α -hydroxybutyrate. Par conséquent, ces métabolites pourraient être utiles pour le diagnostic, le traitement et l'évaluation pronostique du diabète. Il y avait une corrélation significative entre les concentrations de HbA1c et de glucose salivaire chez les patients atteints de diabète. Cela indique que la glycémie pourrait être surveillée par l'analyse de la salive chez les patients atteints de diabète (Zhang et coll., 2016).

On peut également analyser la salive chez les enfants. En effet, le profil salivaire des enfants diabétiques diffère du profil salivaire des enfants en bonne santé selon l'étude menée par De Oliveira et ses co-auteurs. De plus, les enfants atteints de diabète incontrôlé présentent plus d'altération de la salive avec une augmentation significative de lactate, d'acétate et de formate, ainsi qu'une diminution de succinate que les enfants ayant leur diabète contrôlé (De Oliveira et coll., 2016).

Étant donné que le diabète est une maladie chronique courante avec de nombreuses comorbidités associées, mesurer les altérations qualitatives et quantitatives des salives pourrait être un moyen prometteur, moins invasif et moins coûteux pour surveiller les patients atteints.

2.4.2 - Amylose/Amyloïdose

L'amyloïdose familiale de la transthyrétine (ATTR) est une maladie neurodégénérative autosomique dominante où la transthyrétine (TTR), une protéine du plasma homotétramérique, est le principal composant des dépôts de fibrilles amyloïdes. Il s'agit d'une maladie systémique et mortelle qui entrave les fonctions des organes et finit par causer la mort.

Plus de 80 mutations ponctuelles TTR sont connues pour être associées à des maladies amyloïdes systémiques. La mutation amyloïdeuse la plus courante est le remplacement de la valine à la position 30 par la méthionine, la variante V30M. Comme la TTR plasmatique est principalement produite dans le foie, la seule thérapie définitive pour l'ATTR est la transplantation du foie de donneurs cadavériques. Après la transplantation, la forme TTR mutée en circulation est facilement substituée par celle produite par le foie transplanté, c'est-à-dire la TTR non mutée. Pour que cette procédure soit plus efficace, les patients ATTR doivent recevoir un nouveau foie le plus tôt possible dès que le diagnostic de la maladie, qui reste difficile à faire, est posé. De plus, un nombre considérable de porteurs de mutation TTR sont asymptomatiques et sont déclarés non admissibles à une transplantation hépatique. Ainsi, la détection précoce de l'apparition de la maladie, grâce à l'utilisation de biomarqueurs appropriés, est une stratégie pour surmonter ces problèmes. Les changements de profil de l' α -synucléine salivaire ont été comparés entre des individus sains, des porteurs de mutation TTRV30M asymptomatiques et des patients ATTR (porteurs symptomatique de mutation TTRV30M). Il a été découvert une oligomérisation de l' α -synucléine salivaire accrue chez les patients ATTR par rapport aux sujets témoins ou aux porteurs TTRV30M asymptomatiques. De plus, dans le cas de patients transplantés, l'agrégation de l' α -synucléine est diminuée. Donc la collecte d'échantillons de salive totale, qui est une méthode simple et non invasive, permettrait de mettre en évidence l'oligomérisation de l' α -synucléine et pourrait être utilisée comme biomarqueur pour l'ATTR (Guerreiro et coll., 2012).

2.4.3 - Obésité

L'obésité touche toute la société. L'obésité infantile est un fléau et grâce à des biomarqueurs présents dans la salive, il est plus aisé de suivre l'intensité de cette maladie. Chez les enfants obèses, les concentrations salivaires en protéine C réactive (CRP), insuline et leptine sont remarquablement plus élevées que chez les enfants sains (Rathnayake et coll., 2017).

De plus, la découverte des endocannabinoïdes et leur rôle dans la régulation du bilan énergétique ont considérablement amélioré notre compréhension des

mécanismes physiopathologiques menant à l'obésité et au diabète de type 2. De nouvelles connaissances sur le rôle de ce système chez l'homme ont été acquises en mesurant les endocannabinoïdes sanguins. Les endocannabinoïdes et les N-acyléthanolamines sont quantifiables dans la salive et leurs niveaux sont en corrélation avec l'obésité mais pas avec le statut alimentaire. La perte de poids corporel diminue significativement la N-arachidonylethanolamide salivaire, qui pourrait représenter un biomarqueur utile dans l'obésité (Matias et coll., 2012).

2.4.4 - Autres troubles endocriniens

En endocrinologie, la salive s'est révélée être un outil de diagnostic utile pour mesurer la concentration d'hormones stéroïdes anabolisants et de mélatonine, composants analysés jusqu'à aujourd'hui dans d'autres fluides biologiques (tels que le plasma, le sérum et l'urine). Actuellement, les diagnostics salivaires permettent le suivi du cycle des sécrétions hormonales et des fonctions endocriniennes en utilisant des tests qui déterminent la fraction libre de ces dernières. Ces tests salivaires permettent aussi de contrôler la concentration et le métabolisme des hormones issues de traitement hormonal substitutif. Une mise au point affinant la spécificité de ces techniques pourrait réduire considérablement les coûts des études endocrines hormonales.

En pratique, la salive est utilisée pour surveiller les taux d'aldostérone, d'hormones parathyroïdiennes, de glucose et d'insuline. Les récents progrès ont permis de découvrir que le suivi de certains de ces marqueurs permet une meilleure prise en charge de certaines pathologies :

- Les niveaux de déhydroépiandrostérone sont utiles dans le diagnostic de l'hirsutisme, des tumeurs surrénales et du syndrome génital surrénal,
- La progestérone dans le diagnostic de troubles de la menstruation ou de l'infertilité, l'œstriol dans le diagnostic de maturation fœtale,
- Le cortisol dans le diagnostic du syndrome de Cushing.

La salive est également utilisée pour déterminer les taux d'œstradiol et de testostérone dans le diagnostic de l'hirsutisme, des troubles menstruels, des tumeurs surrénales et testiculaires, des troubles de la stéroïdogénèse et du contrôle des résultats de la thérapie anti-androgène. Du fait que la testostérone dans la salive est libre et non liée avec des protéines (globulines liant les hormones sexuelles-SHBG), sa détermination est incontestablement de meilleure qualité par rapport à d'autres biofluides (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

2.5 - Troubles mentaux et du comportement

2.5.1 - Dépression

L'élévation du cortisol sérique se retrouve chez de nombreux patients présentant un trouble dépressif majeur et peut être due à un dysfonctionnement chronique dans le rétrocontrôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire et surrénal. Le cortisol salivaire est un indicateur valide du cortisol sérique.

Un niveau plus élevé de cortisol dans la salive confirme la symptomatologie dépressive au fil du temps dans le trouble dépressif majeur unipolaire. Une sécrétion plus élevée de cortisol est associée à une tendance plus chronique de la dépression (Bringer et coll., 2007).

Récemment, des mesures de la testostérone dans la salive ont largement été utilisées dans l'évaluation du degré d'agressivité, de dépression, de violence et de comportement antisocial en psychiatrie (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

2.5.2 - Stress

Plusieurs biomarqueurs du stress salivaire sont actuellement reconnus, tels que l'amylase, le cortisol, les protéines de choc thermique et d'autres composés. À l'heure actuelle, il est peut-être trop tôt pour introduire la plupart de ces biomarqueurs dans les applications quotidiennes de diagnostic de routine, mais les progrès dans la normalisation des biomarqueurs salivaires devraient permettre leur utilisation à grande échelle à l'avenir, y compris une estimation sûre, fiable et non invasive des niveaux de stress aigus et chroniques chez les patients (Kerémi et coll., 2017).

Plusieurs auteurs ont démontré des variations dans les hormones telles que le cortisol et l'alpha-amylase dans les troubles anxieux. Il peut s'agir par exemple des taux de cortisol salivaire dans une population de femmes enceintes présentant un trouble anxieux (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

2.5.3 – Migraine

Jang et son équipe ont observé une augmentation des niveaux de facteur de croissance nerveux (NGF) et des neuropeptides sensoriels (y compris la substance P et le peptide relié au gène calcitonine [PRGC]) dans la salive chez les patients étudiés souffrant de migraine. Ces biomarqueurs sont fortement corrélés à la gravité de la douleur chez les patients diagnostiqués avec une migraine chronique. Les résultats des analyses de la salive pourraient, après de plus amples investigations, servir d'indice d'état pathologique et de résultat thérapeutique chez les patients souffrant de migraine chronique (Jang et coll., 2011).

2.6 - Maladies du système nerveux

- **Maladie d'Alzheimer**

Le diagnostic salivaire peut-être un outil efficace pour prévenir les maladies neurodégénératives et en premier lieu la maladie d'Alzheimer. C'est ce que révèle la synthèse des études menées par les membres de l'équipe dirigée par Kaczor-Urbanowicz, qui rapportent que les personnes souffrant de la maladie d'Alzheimer ont une concentration plus importante de protéines TAU phosphorylées. A cela s'ajoute une concentration plus importante de facteur de croissance nerveux (NGF) et de neuropeptides sensoriels (incluant la substance P, la calcitonine) (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

A cette découverte s'ajoute la découverte de Bermejo stipulant l'utilité de la protéine A β 42 pour le diagnostic des stades précoces de cette maladie (Bermejo et coll., 2010).

Certains auteurs ont proposé que le tréhalose salivaire puisse fournir un moyen sensible et direct de détecter la maladie d'Alzheimer (Lau et coll., 2015).

Récemment l'étude métabolomique de la salive par résonance magnétique nucléaire des protons (^1H NMR) a identifié avec précision des variations de la concentration de 22 métabolites dans la salive de patients souffrant d'Alzheimer (Yilmaz, 2017).

Ces découvertes basées sur les biomarqueurs montrent bien qu'ils peuvent jouer un rôle futur pour aider à cibler le traitement spécifique de la maladie d'Alzheimer et guider le pronostic. Mais les chercheurs indiquent qu'ils ne sont pas encore prêts pour obtenir un outil fiable, capable de modifier les procédures actuelles.

2.7 - Maladies de l'appareil cardiovasculaire

- **Infarctus du Myocarde**

L'évaluation de certaines molécules salivaires permettrait de connaître le risque de développer des maladies cardiovasculaires (MCV). Les dernières sont liées à des troubles circulatoires et comprennent l'athérosclérose, l'infarctus du myocarde et les maladies coronariennes. Dans la littérature, les niveaux salivaires de cytokines inflammatoires, telles que IL-1 β , IL-6, TNF- α et prostaglandine E2 augmentent de manière significative dans l'athérosclérose (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

Lors d'une lésion du myocarde causée par l'ischémie et la nécrose des tissus myocardiques, certains biomarqueurs sont libérés, comme les troponines cardiaques I (TnI) et T (TnT), la créatine kinase-MB, la créatine kinase totale, la myoglobine, et la lactate déshydrogénase. TnI cardiaque et TnT sont considérés comme la référence pour le diagnostic de l'infarctus aigu du myocarde (IAM) car ils sont spécifiques du myocarde (Zhang et coll., 2016).

Les niveaux de TnI dans la salive atteignent leur maximum dans les 10 à 14 heures qui suivent un IAM et, selon des études antérieures, les niveaux de TnI peuvent être détectés dans la salive dans les 24 heures suivant l'apparition de l'IAM.

Rathnayake décrit dans une revue de littérature que les tests salivaires couplés à un électrocardiogramme (ECG) pourraient fournir une méthode de dépistage rapide pour les patients atteints d'IAM au stade avant hospitalisation. De plus, cette revue rapporte la détection de niveaux salivaires élevés de créatine kinase -MB,

myoglobine, Tnl et T, protéines C-réactives (CRP), TNF- α , MMP-9 et myéloperoxydase chez les patients atteints d'IAM. En outre, d'autres marqueurs, comme la cystatine C, le facteur de croissance GDF15 et la pro hormone N-terminale du peptide cérébral natriurétique (NT-proBNP), sont détectables dans la salive (Rathanayake et coll., 2017).

L'analyse de la salive peut être particulièrement utile chez les patients présentant un IAM mais dont l'ECG ne présente pas d'élévation du segment ST (NSTEMI), car ces cas ne sont pas facilement identifiés par ECG. Le sérum et la salive entière non stimulée (UWS) recueillies auprès de 92 patients atteints d'IAM dans les 48 heures après le début de la douleur thoracique et 105 sujets témoins sains asymptomatiques ont été testés pour 13 protéines liées aux maladies cardiovasculaires. L'équipe de Miller a identifié que la protéine C-réactive (CRP) était le biomarqueur le plus prédictif de l'infarctus aigu du myocarde. L'infarctus aigu du myocarde a été prédit par une combinaison de l'ECG et du taux de CRP. Ces données ont démontré que l'utilisation potentielle de biomarqueurs salivaires couplés à un ECG permettait de faire le diagnostic d'infarctus aigu du myocarde avec 80,0% de sensibilité et 100% de spécificité (Miller et coll., 2014).

Parmi le protéome, on peut relever que:

- Les taux de glycoprotéine α -2-HS dans la salive ont diminué chez les patients atteints de maladie cardiovasculaire, appuyant le protéome comme moyen potentiel de diagnostic précoce des patients atteints de cette pathogénie (Zhang et coll., 2016).
- La protéine irisine, sécrétée par le muscle est d'autant plus présente dans le muscle squelettique cardiaque lors d'un exercice aigu et est associée à un infarctus du myocarde. Même si le moment et l'importance de sa libération chez les patients atteints d'infarctus aigu du myocarde nécessitent une enquête plus approfondie, il existe une relation entre la concentration d'irisine sérique et salivaire avec l'IAM chez l'homme. L'étude menée par Aydin et son équipe stipule que dans les premières 48h l'irisine sérique et salivaire a graduellement diminuée, par rapport au groupe témoin. L'irisine pourrait être un biomarqueur utile mais d'autres études sont nécessaires pour confirmer l'intérêt de ce biomarqueur (Aydin et coll., 2014).

- Le NT-proBNP est majoritairement secrété par les cardiomyocytes. Il possède une action antagoniste du système rénine-angiotensine/aldostérone/vasopressine exerçant ainsi des effets diurétique, natriurétique (augmentation de sodium) et vasodilatateur. En cas d'insuffisance cardiaque, il y a une élévation du NT-proBNP plasmatique, une surcharge hydrique et une hypertension artérielle. Cependant, le NT-proBNP ne peut être considéré seul comme un marqueur d'insuffisance cardiaque car il est aussi associé à d'autres pathologies pouvant entraîner une sécrétion de peptides natriurétiques. En 2012, Foo et ses collègues ont montré une corrélation significative entre le NT-proBNP salivaire et sérique. Ainsi le test salivaire, non invasif et peu coûteux, pourrait se substituer à un prélèvement sanguin techniquement plus difficile dans le diagnostic d'infections (Foo et coll., 2012).

En résumé, l'utilisation synergique de multiples marqueurs biologiques permettrait de définir des marqueurs optimaux, leur séquence d'utilisation et des seuils de concentration cliniquement pertinents pour prédire un diagnostic de détection d'IAM. Bien que les biomarqueurs de la salive soient moins sensibles et spécifiques que ceux du sérum, la facilité évidente de l'acquisition de la salive et son pouvoir discriminatoire présenté plus haut pallient la faiblesse actuelle de la reproductibilité des mesures hospitalières individuelles. L'analyse de l'ensemble de ces données et la littérature accumulée suggèrent que la salive pourrait fournir des informations de diagnostic de dépistage importantes des MCV. Celles-ci, après validation par des études cliniques futures, pourraient être essentielles pour orienter les patients vers une intervention coronarienne percutanée de première intention, il a été prouvé que cette prise en charge améliore l'état des patients, ainsi que les décisions diagnostiques ultérieures (Eitel et coll., 2010).

2.8 - Maladies de la peau :

- **Rosacée/Couperose**

Il a été démontré la présence de glycanes sulfatés en concentration similaire dans les larmes et la salive qui était significativement plus important chez les patients

atteints de rosacée par rapport au groupe témoin. L'abondance de N-glycans hautement fucosylés dans les échantillons témoins et d'O-glycans sulfatés dans les échantillons de patients présentant une rosacée oculaire pourraient être des marqueurs diagnostique objectif de cette maladie (Vieira et coll., 2012).

Dans cette perspective, les changements dans l'abondance des O-glycans sulfatés dans les larmes et la salive du patient à la rosacée peuvent signaler un changement potentiel dans l'interaction entre l'hôte et son microbiome. Cette situation pourrait favoriser des groupes spécifiques de bactéries. Il est important de suivre les futures études qui examineront les changements dans les microbiomes de la bouche et des yeux pour mieux prendre en charge les maladies des yeux secs comme la rosacée (Ozcan et coll., 2013).

2.9 - Maladies de l'appareil respiratoire

2.9.1 - Mesure de la concentration de nicotine

Une étude a montré que les niveaux de concentration de nicotine et cotinine dans l'air ambiant des foyers de personnes utilisant la cigarette électronique, étaient plus élevés que dans les maisons témoins. La concentration de nicotine dans la salive des non-fumeurs exposés à la vapeur des cigarettes électroniques était significativement plus élevée que celle relevée chez les non-fumeurs dans une maison témoin. Les niveaux salivaires de ces molécules étaient statistiquement similaires aux foyers utilisant les cigarettes classiques. Les résultats montrent que les non-fumeurs passivement exposés aux cigarettes électroniques absorbent la nicotine tout autant que ceux exposés à des cigarettes classiques, comme le prouve l'analyse salivaire (Ballbè et coll., 2014).

2.9.2 - Asthme/ Allergies

L'étude pilote menée par Langie et son équipe, indique que des profils de méthylation de haute qualité peuvent être générés à partir de la salive entière en utilisant des puces à ADN. Les profils de méthylation entre des individus atteints d'allergie respiratoire et des témoins sains sont différents. Les régions génétiques, telles que celles sélectionnées pour la validation de l'étude (STK32C, FGFR2 et

PM20D1) ont montré une forte différence de méthylation détectée entre les groupes malades et témoins. Le peu d'études sur ce sujet pousse à la prudence pour extrapoler les résultats mais l'analyse de la salive pourrait simplifier l'évaluation des schémas de méthylation de l'ADN dans les études d'épidémiologie moléculaire, en particulier pour contrôler les niveaux dans les populations vulnérables telles que les enfants (Langie et coll., 2016).

2.10 - Maladies de l'appareil digestif

2.10.1 - Maladies carieuses

L'utilisation du diagnostic salivaire pour l'évaluation des risques carieux comprend les approches microbiome, protéomique, génomique et transcriptomique. Les espèces et les propriétés des bactéries salivaires ont été étudiées comme marqueurs prédictifs potentiels pour l'apparition de la carie. Les pathogènes associés aux caries dentaires les plus courantes sont *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*), *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacilli* *Actinomyces spp*, *Veillonella* et *Candida albicans* (Rathnayake et coll., 2017).

Il existe aussi une surabondance du genre *Prevotella* dans le microbiote de la carie. Dans les caries actives, les espèces de *Prevotella* diffèrent, indiquant le rôle prédictif de *Prevotella* dans l'apparition des caries dentaires (Zhang et coll., 2016).

Une autre étude du même groupe a établi le premier modèle, connu sous le nom de « Microbial Indicators of Caries », pour diagnostiquer les caries et prédire l'apparition potentielle de caries pour des échantillons cliniquement considérés comme sains (Zhang et coll., 2016).

En sus des bactéries, il existe un certain nombre de protéines de défense et de peptides constitutives qui pourraient être utilisées comme biomarqueurs salivaires pour les caries dentaires. On peut notamment citer les agglutinines, l'amylase, les peptides antimicrobiens, les lysozymes, la lactoferrine, les glycoprotéines muqueuses, la peroxydase, la métalloprotéinase matricielle 9, la mucine-7 (MUC7), lactotransferrine, l'anhydrase carbonique 6 (CA6), l'azurocidine (AZU) (Khurshid et coll., 2016).

Les faibles niveaux salivaires des α -défensines HNP1-3 contribuent à la susceptibilité aux caries chez les enfants tandis que les mucines salivaires (en particulier MUC7) favorisent l'agrégation des streptocoques.

Les outils de diagnostic incluent des méthodes basées sur la culture bactérienne telles que la *bacitracin mitis salivarius* (MSBB), ainsi que les nouvelles technologies moléculaires émergentes telles que :

- l'hybridation d'ADN,
- l'empreinte génomique,
- le clonage et le séquençage du gène de l'ARNr 16S,
- le polymorphisme de longueur de fragments de restriction terminaux T-RFLP,
- le séquençage de l'ADN, y compris l'analyse des données sur le génome bactérien et l'identification bactérienne basée sur la PCR

Ces outils font tous partie de l'arsenal permettant de mesurer les espèces cariogènes dans la salive (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

Au-delà de ces champs de recherche, la combinaison avec le débit salivaire, le pH dans la salive, la capacité de tampon et le taux de clairance du sucre salivaire sont des biomarqueurs salivaires complémentaires pour cibler les patients à risque (Rathnayake et coll., 2017).

2.10.2 - Maladies Parodontales

La parodontite est la sixième maladie inflammatoire chronique la plus fréquente dans le monde. C'est une maladie multifactorielle qui est associée à des interactions complexes entre les bactéries parodontales, la réponse inflammatoire de l'hôte et les facteurs de risque génétique, environnementaux et comportementaux. La forme la plus fréquente de la maladie est la parodontite induite par la plaque, caractérisée par une inflammation gingivale, la libération de différentes cytokines pro-inflammatoires et la destruction des tissus parodontaux et de l'os alvéolaire. La présence de poches parodontales et de gencive oedématiée sont des signes cliniques de la parodontite. La parodontite chronique est une maladie qui progresse lentement, avec des phases d'activité et de latence (Rathnayake et coll., 2017).

L'évaluation de biomarqueurs salivaires spécifiques de cette maladie complémentaires aux examens cliniques et radiologiques pourrait apporter des informations pronostiques et/ou de dépistage précoce de cette maladie (Rathnayake et coll., 2017).

L'analyse de biomarqueurs salivaires pourrait servir d'outil pour l'évaluation de l'état parodontal durant l'examen initial, la surveillance de la réponse au traitement et la prédiction de la progression de la maladie. Les biomarqueurs salivaires pour cette pathologie comprennent les protéines provenant de l'hôte, les cellules hôtes, les hormones, les bactéries et leurs produits, les ions et les composés volatils (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

- Microbiome

Les agents pathogènes parodontaux les plus courants impliqués dans les maladies parodontales sont *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* et *Treponema denticola*, qui pour les trois dernières appartiennent au "complexe rouge" de bactéries (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

Porphyromonas gingivalis est la bactérie du «complexe rouge» qui est étroitement associée à la parodontite. Récemment, certains chercheurs ont développé un kit qui analyse une enzyme produite par *P. gingivalis* et donc permet de détecter spécifiquement cette bactérie dans la salive. Le kit de salive *P. gingivalis* est rapide et a une sensibilité de 92% et une spécificité de 96% (O'Brien-Simpson et coll., 2017).

- Protéome

La salive entière contient des molécules issues de la production locale et systémique. Les molécules inflammatoires, telles qu'IL-1 β , IL-6 et IL-8, MMP-8, TIMP-1 et TNF- α associés à la gingivite et à la parodontite, ont été détectés dans la salive (Rathnayake et coll., 2017).

Dans les troubles inflammatoires, les métalloprotéinases de la matrice (MMP) sont très impliquées. Parmi elles, selon plusieurs études, MMP-8 et -9 sont associées à une maladie parodontale. MMP-8 est libérée en raison de troubles inflammatoires par les neutrophiles, les cellules musculaires endothéliales et lisses et les macrophages. Des études antérieures ont montré que les niveaux de MMP-8 salivaire sont associés à une perte progressive du niveau d'attache dans la parodontite. De plus, ces niveaux de MMP-8 sont significativement associés aux taux salivaires d'IL-1 β chez les patients atteints d'une parodontite sévère par rapport aux témoins sains (Rathnayake et coll., 2017).

En complément de ceux cités précédemment, l'équipe dirigée par Kaczor-Urbanowicz évoque d'autres médiateurs inflammatoires comme l'élastase, l'aspartate et l'aminotransférase qui pourraient s'avérer pertinent, ainsi que les marqueurs spécifiques de la destruction des tissus osseux et de la rupture du tissu conjonctif tels que les télopeptides du collagène, l'ostéocalcine, les protéoglycanes ou la fibronectine (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

- Métabolome

Le profil métabolique de la salive peut fournir une vision globale des changements associés aux maladies parodontales. Ainsi en dehors des enzymes hôtes, les métabolites tels que la 8-hydroxy-désoxyguanosine, les dipeptides (la leucylisoleucine, le phénylphénol et la serylisoleucine), ainsi que les acides gras (arachidonate, arachidate et dihomolinolate) sont aussi quantifiés dans la salive (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

Une étude récente a évalué les niveaux d'adrénomédulline (AM) et d'oxyde nitrique (NO) dans la salive et le fluide crévicaire recueillis auprès de patients atteints de gingivite, de parodontite agressive et de parodontite chronique, et les ont comparé à ceux des témoins sains. Ces données indiquent une implication du NO et l'AM dans la maladie parodontale, ces molécules pourraient être utilisées comme marqueurs de diagnostic salivaire pour la parodontite. Les données provenant d'une autre étude ont démontré que le NO et ses métabolites finaux dans la salive sont plus discriminants

pour diagnostiquer les patients sains de ceux atteints de gingivite et/ou parodontite que le NO du fluide crévulaire (Zhang et coll., 2016).

De plus, les niveaux salivaires du TLR-4 (Toll Like Receptor), de l'IL-18, de l'acide urique, de l'aspartate transaminase et de la procalcitonine dans les patients atteints de parodontite étaient plus élevés que chez les individus en bonne santé, montrant des corrélations positives avec les mesures cliniques, y compris la profondeur de sondage, le niveau d'attachement clinique et l'indice gingival. Par conséquent, ces paramètres pourraient être utiles dans le diagnostic et le pronostic des maladies parodontales. Récemment, un nouveau système estimant l'abondance des neutrophiles dans la salive (à travers MMP-8) a été développé pour détecter la présence de maladies parodontales. Ce système, présenté ci-après (cf. 3.1.2), fournit des informations précieuses et exhaustives (Zhang et coll., 2016).

Il existe une corrélation entre le pH de la salive et les maladies parodontales. Le pH salivaire chez les patients atteints de gingivite chronique généralisée était plus alcalin que chez les patients présentant une gencive cliniquement saine. Chez les patients atteints de parodontite chronique généralisée, le pH salivaire était plus acide que le groupe témoin.

Des études incluant des cohortes plus importantes confirment ces analyses, le pH recoupé avec des analyses du microbiote pourrait aider à identifier les patients susceptibles de développer une parodontite (Baliga et coll., 2016).

2.10.3 - Orthodontie

Il existe de nombreuses raisons d'utiliser la salive comme aide diagnostique pour surveiller le risque et le développement de la résorption radiculaire pendant le traitement orthodontique. Actuellement, les méthodes d'évaluation clinique disponibles sont principalement radiographiques. Bien qu'elles soient faciles et accessibles, elles présentent des inconvénients tels que des angulations limitées et des rayonnements ionisant.

La composition de la salive peut refléter la physiopathologie de nombreuses maladies liées au traitement orthodontique. Plusieurs études ont rapporté des changements dans la salive chez les patients recevant un traitement orthodontique, y

compris la présence d'anticorps de l'immunoglobuline A salivaire. La présence en concentration élevée avant le traitement accentue le risque et la gravité du développement de la résorption radiculaire (Ramos S de P et coll., 2011).

Khurshid et son équipe rapportent que pour le mouvement des dents en orthodontie, ces protéines sont aussi valables en tant que marqueurs : S100-A9, CRISP-3, chaîne J d'immunoglobuline et région C de la chaîne Ig-1 et pourrait servir pour le suivi de l'inflammation et du remodelage osseux lors du mouvement (Khurshid et coll., 2016).

2.10.4 - Maladie cœliaque (intolérance au gluten)

La maladie cœliaque provoque une rare intolérance au gluten. Elle est souvent découverte par l'analyse de l'immunoglobuline A et l'anti-transglutaminase humaine (anti-TG) dans le sang. Ces molécules ont été également identifiées dans la salive dont l'échantillonnage est moins invasif. Les données indiquent que la mesure de l'immunoglobuline A et de l'anti-TG salivaire est en adéquation avec l'analyse sérologique. Le test salivaire est donc un test précieux et non invasif qui pourrait être utilisé pour le dépistage de la maladie cœliaque dans des populations présentant peu de symptômes (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017 ; Ocmant et coll., 2007).

Toute suspicion de maladie cœliaque basée sur ces tests devra être confirmée par le diagnostic classique, autrement dit, la mise en évidence d'une atrophie villositaire typique de la muqueuse duodénale.

2.10.5 - Allergies alimentaires

Des protéines ou peptides issues d'aliments allergènes sont identifiés dans la salive plusieurs heures après leur ingestion. Ces molécules pourraient être impliquées dans les réactions allergiques retardées. Des protéines d'arachide autour de 20 et 30 kDa ont été identifiées dans la salive de différents individus, 6 à 18 heures après l'ingestion. Par ailleurs, le fait que ces protéines ou ces peptides survivent aux enzymes digestives, soient absorbées dans la circulation sanguine puis excrétées dans des fluides biologiques, pourrait indiquer qu'elles sont très probablement des

agents de sensibilisation ou de tolérance de l'aliment allergène ingéré et aussi orienter le diagnostic d'allergie (Maleki et coll., 2006).

2.10.6 - Plaintes sensorielles orales (OSC)

Les troubles sensoriels idiopathiques du syndrome de la bouche brûlante, les troubles du goût (dysgeusie) et la bouche sèche (xérostomie) ont récemment été reconnus comme une entité à part entière qui a pris le nom générique des plaintes sensorielles orales (OSC : Oral Sensorial Complaints).

Le rôle possible de l'altération des ions salivaires dans la pathogenèse des OSC semble de plus en plus crédible grâce à plusieurs études qui démontrent clairement que les déséquilibres ioniques, comme les conditions hypertoniques, activent les neurones sensoriels de petit diamètre et augmentent la douleur.

Cependant il reste à découvrir si les altérations de la composition salivaire et les mécanismes de réduction du flux salivaire sont la cause ou le résultat de cette neuropathie. Ainsi, les résultats obtenus ne permettent pas de savoir s'il s'agit d'une neuropathie idiopathique régionale qui affecte la sécrétion salivaire et la sensation orale chez les patients atteints d'OSC, ou s'il s'agit d'un dysfonctionnement salivaire idiopathique primaire qui peut provoquer un dysfonctionnement sensoriel des neurones au niveau du récepteur en modifiant le milieu de la cavité buccale.

Quel que soit l'hypothèse retenue, il est préconisé d'inclure l'analyse salivaire et sensorielle/gustative dans le protocole diagnostique usuel des patients atteints d'OSC. Ainsi c'est selon les résultats de ces analyses, que des moyens thérapeutiques visant à corriger les irrégularités de l'un ou l'autre ou des deux aspects devront être considérés en conséquence (Granot et coll., 2005).

2.11 - Maladies rénales

La corrélation entre le niveau sérique et salivaire de la créatinine a été étudiée chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique. Les résultats de ces études ont montré que la créatinine était plus élevée dans le sérum et la salive des malades. La salive peut-être utilisée pour évaluer la créatinine des patients malades avec une

sensibilité de 97,1% et une spécificité de 86% lorsque la créatinine dépasse une valeur seuil de 0,2mg/dl (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

Les niveaux de créatinine salivaire dans la salive peuvent être utilisés pour surveiller les fonctions rénales et pour déterminer l'efficacité de la dialyse chez les patients atteints d'une maladie rénale en phase terminale.

De plus, la salive des patients atteints d'insuffisance rénale chronique a présenté des niveaux significativement plus élevés de nitrite comparés aux personnes saines. Après un traitement par hémodialyse, les niveaux salivaires d'immunoglobuline (Ig) A, IgG et la protéine C réactive (CRP) étaient significativement plus élevés par rapport aux patients non hémodialysés et sains. Des études plus approfondies sont nécessaires pour valider ces molécules en tant que marqueurs de l'efficacité de la dialyse et/ou du fonctionnement rénal (Zhang et coll., 2016).

2.12 - Médecine du Sport

L'analyse de la salive permet de surveiller la réponse métabolique des sportifs lors d'une activité physique. Ainsi, ils peuvent éviter le surentraînement et diminuer le risque de blessures. De plus, ils peuvent modifier leur plan de formation en termes de durée, de fréquence et d'intensité des exercices. Gatti et de Palo ont publié un examen approfondi des composants salivaires et de leurs changements par rapport aux exercices physiques. Il est intéressant de noter les changements découverts dans les niveaux de protéines et de métabolites dans la salive lors d'exercices excessifs, permettant ainsi de mieux connaître le fonctionnement métabolique lors d'activités physiques. L'usage de la salive dans la détection de substances illicites est aussi un champ d'investigation prometteur (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017, Gatti et coll., 2011).

2.13 - Médecine légale

La salive est un outil de diagnostic utile dans les sciences judiciaires, où il est possible de différencier les individus qui sont encore vivants des cadavres ; car en raison du renouvellement rapide des tissus oraux, l'ADN extrait de la salive est d'une

valeur beaucoup plus pertinente que les autres sources d'ADN (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

2.14 - Pharmacothérapie

2.14.1 - Surveillance du niveau médicamenteux et de l'empoisonnement.

Le diagnostic salivaire joue un rôle crucial dans la pharmacothérapie pour surveiller les niveaux des médicaments, évaluer les résultats du traitement des maladies par l'utilisation de médicaments, détecter un surdosage ainsi qu'étudier les effets biochimiques et physiologiques des médicaments tels que la carbamazépine, le cisplatine, le diazépam, la digoxine, l'éthosuximide, l'irinotecan, le lithium, le metoprolol, le paracétamol, la phénytoïne, la primidone, la procainamide, la quinine, la théophylline ou l'acide valproïque. Nous rappelons que la cotinine peut être surveillée dans la salive des sujets fumeurs (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

2.14.2 - Usage de stupéfiants

La salive joue un rôle important dans la détection de diverses substances également présentes dans le sang telles que l'amphétamine, la cocaïne, la méthadone, la phéncyclidine, la marijuana ou les opiacés. Nous verrons par la suite les dispositifs permettant leur détection (Cf. 3.1.1 pages 94-96) (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

2.14.3 - Consommation de boissons alcoolisées.

Le diagnostic salivaire permet la détection de la consommation d'alcool, même si ces molécules sont principalement détectées dans l'air expiré (Kaczor-Urbanowicz et coll., 2017).

3 – Plateformes de diagnostic salivaire

Dans cette section, nous tenterons de présenter les tests déjà présents sur le marché.

Un test « *point-of-care* » est un test réalisé et interprété sur place qui permet de prendre une décision clinique immédiate, c'est-à-dire au chevet du patient plutôt que dans un laboratoire. La personne habilitée à pratiquer ce type de test n'est, en principe, pas un professionnel de laboratoire, mais plutôt un médecin ou une infirmière (BioMérieux, 2017).

Le succès des sociétés comme Epitepe (OraSure), SDS (StatSure), Sarstedt et d'autres a ouvert la voie à une gamme beaucoup plus large de plateformes intégrées de diagnostic de salive qui permettent d'accéder à deux domaines principaux que sont les marchés du Diagnostic *In Vitro* (IVD) et des sciences de la vie.

On distingue d'une part les dispositifs de plateforme de salive non moléculaires, sur lesquels la plupart des technologies actuelles sont basées. Ils ciblent des protéines, des antigènes de maladies infectieuses et des anticorps. On distingue d'autre part un nouveau domaine qui repose sur la combinaison de prélèvements d'échantillons de manière non-invasive et de plateformes d'essais moléculaire qui intègrent la purification, l'hybridation et l'amplification d'acides nucléiques. Il offre la possibilité d'obtenir des résultats permettant un diagnostic rapide et immédiat pour la plupart, sinon pour toutes les maladies concernées par ce type de protocole. Ce secteur pourrait rapidement devenir celui qui croît le plus rapidement dans le développement des outils de diagnostic oral (Slowey et coll., 2015).

Il est utile de rappeler que la sensibilité et la spécificité d'un test sont les indicateurs importants de sa pertinence et sa fiabilité. Un test à 100% de sensibilité reconnaît tous les patients atteints de la maladie; un test à 100% de spécificité exclut la maladie chez tous les patients en bonne santé.

Dans le paragraphe suivant, seront décrits certains des outils / dispositifs qui ont déjà eu un impact dans les domaines importants mentionnés ci-dessus.

3.1 - Outils non moléculaires

3.1.1 Maladies infectieuses, hormones et drogues

La plupart des tests oraux actuels combinent la capacité de collecter les spécimens de salive de façon standardisée avec des bandes de test immunochromatographiques à flux latéral fonctionnel (LFT) pour obtenir des résultats immédiats ou au plus en 20 minutes. Le nombre de tests diagnostiquant des maladies est encore relativement peu élevé, mais des plateformes sont aujourd'hui en cours de développement afin d'augmenter considérablement le nombre de maladies ciblées au cours des prochaines années. Parmi les domaines qui ont connu la croissance la plus importante on peut notamment citer la détection de la toxicomanie et le diagnostic du VIH.

De tous les diagnostics salivaires présents aujourd'hui sur le marché, il ne fait aucun doute que le test qui a eu le plus grand impact est le test rapide et efficace ciblant le VIH « OraSure Technologies OraQuick Advance HIV 1 / 2® ». Ce produit a été lancé en 2000 à l'international. Le dispositif a reçu l'approbation de la FDA et a changé l'ensemble du paradigme pour les tests cliniques pour le VIH aux États-Unis. « OraQuick Advance® HIV 1/2 » a été largement adopté par des organismes gouvernementaux de santé publique, y compris par l'OMS à l'international comme outil pour identifier les personnes infectées par le VIH dans des lieux non médicalisés tels que les cabinets mobiles, à domicile, les salles d'urgence et les programmes de dépistage financés par des fonds publics. Il est disponible pour le grand public depuis 2012 (Slowey et coll., 2015).



Figure 14 : OraQuick ADVANCE Rapid HIV -1/2 Antibody Test Kit Controls (Meridian Bioscience)

L'OraQuick Advance® HIV 1/2 se compose d'un tampon assez rigide relié à une bandelette de test immunochromatographique à flux latéral (LFT). L'utilisateur frotte la zone sous ses lèvres et autour du haut de la ligne muco-gingivale pendant quelques secondes afin de collecter une quantité adéquate de salive. Le dispositif d'échantillonnage est ensuite immergé dans une solution tampon / réactif dans un tube fourni par OraSure et le tampon permet de migrer vers le haut et sur la bande de test LFT incorporée dans le dispositif. Après 20 minutes, les résultats du test (qualitatif) sont lus. Deux lignes sont présentes, la première correspond à la ligne témoin (d'un résultat positif signant le bon fonctionnement du test), la deuxième correspond au résultat de l'échantillon analysé. Donc si seulement la ligne témoin est observée, l'échantillon est négatif. Si les deux lignes apparaissent, le résultat est classé comme un résultat «préliminaire positif» jusqu'à ce que le résultat puisse être confirmé par un test plus précis (généralement l'analyse Western Blot). La performance d'OraQuick Advance® est équivalente ou supérieure à de nombreux tests ELISA approuvés par la FDA pour le virus du VIH et est devenue une norme pour le diagnostic dans l'industrie (Slowey et coll., 2015).

Chembio Diagnostics, Inc. (Long Island, NY, www.chembio.com) a suivi le fabricant OraSure et est devenu la deuxième entreprise à obtenir l'approbation de la FDA pour un test de diagnostic rapide du VIH à l'aide d'échantillons de salive (Slowey et coll., 2015).

De nouveaux tests de fluides oraux émergent et sont disponibles. Il existe un certain nombre d'autres tests LFT oraux rapides tel que celui réalisé par la société Microimmune et son partenaire la direction générale du laboratoire de santé publique au Royaume-Uni, qui ont mis en place un test oral pour détecter les IgM de la rougeole à partir d'échantillons salivaires ou sériques. Le dispositif détectant les IgM salivaires de la rougeole est un test qualitatif qui requiert une collecte orale d'échantillons à l'aide de l'ORACOL Oral Swab® (Malvern Medical Developments, Royaume-Uni) suivi d'une analyse à l'aide de bandes LFT. Les échantillons sont extraits du dispositif ORACOL® et placés sur les bandes microfilm IgM LFT et incubés pendant une période de 20 minutes. La ligne de signal est évaluée par rapport à une ligne témoin (même principe que l'OraQuick Advance®). Si deux lignes sont présentes, le test est positif pour les anticorps IgM de la rougeole (Slowey et coll., 2015).

En août 2013, Oasis Diagnostics® a reçu une bourse de recherche et d'innovation pour compléter le développement d'un test du cortisol salivaire humain avec sa plateforme « *point-of-care* » rapide VerOFy®. VerOFy® est un autre dispositif de type LTF qui permet la collecte de salive grâce à un tampon absorbant placé sous la langue pendant un certain temps, jusqu'à ce qu'un indicateur d'adéquation du volume de l'échantillon (intégré à l'appareil) change d'aspect (jaune pâle-vert à bleu foncé). Le dispositif test est retiré de la bouche et les résultats sont disponibles après 10 à 15 minutes. VerOFy® peut être configuré pour la lecture visuelle ou instrumentale, mais dans le cas du test de cortisol VerOFy®, les quantités de l'hormone sont quantifiées à l'aide de particules fluorescentes qui sont lues par un petit appareil de lecture portable appelé LIAM™ (Light Module d'Analyse d'Image). Les résultats peuvent être téléchargés sur un smartphone ou un ordinateur. Outre le cortisol salivaire, la plateforme VerOFy® peut être configurée pour évaluer plusieurs biomarqueurs (testostérone et d'autres hormones simultanément de manière quantitative (Slowey et coll., 2015).

Une équipe de l'Université de Rice (Etats-Unis), dirigée par le Dr John McDevitt, a été pionnière dans le développement de systèmes pour le diagnostic cardiaque par voie orale. L'approche ingénieuse de l'équipe du Dr McDevitt a permis le développement du système de capteurs, qui reposent sur l'utilisation de micro-puces dans des plaquettes de silicium, qui présentent une variété de "microréacteurs" sensibilisés chimiquement. Cet outil possède des capacités de détection multi-analytes ultrasensibles dans un format miniaturisé et a déjà adapté cette technologie aux tests de diagnostic pour la surveillance cardiaque, les électrolytes, les sucres, les protéines, les toxines, les anticorps et d'autres biomarqueurs. Les tests de la société McDevitt ont été mis à disposition de tous par une société qu'il a créée et qui est appelée LabNow, Inc. D'autres applications en développement comprennent des tests de parodontite, de protéines C-réactives (CRP), à destination de personnes infectées par le VIH ou atteintes d'un cancer buccal (Slowey et coll., 2015).

L'entreprise américaine Seattle Sensors, basée dans l'Etat de Washington, travaille avec la technologie de la résonance plasmonique de surface (SPR), qui consiste en un phénomène physique principalement connu pour son utilisation comme méthode de mesure de la liaison d'un « ligand » sur un « récepteur » absorbé à la surface d'une couche métallique. Un système de détection SPR mesure la variation de

l'indice de réfraction au voisinage de l'interface quand le ligand se fixe aux récepteurs. L'outil qui a été développé consiste en un système alternatif pour la détection du cortisol dans la salive. Une étape de pré-purification dans l'instrument sépare les petites molécules des macromolécules présentes dans la salive, avant la présentation de l'échantillon au capteur, ce qui entraîne une sensibilité accrue. Le système est considéré comme utile pour un large éventail de biomarqueurs, en particulier la détection de petites molécules dans des mélanges complexes. Les résultats sont disponibles en utilisant la technologie en 10-20 min, mais nécessitent une collecte de la salive totale séparée de ce dispositif, avec les outils de collecte disponibles dans le commerce (cf. Tableau 3) (Slowey et coll., 2015).

Le test de dépistage des drogues est un domaine dans lequel le test de la salive a pris de l'ampleur, ce développement peut être expliqué du fait de la simplicité de collection, d'une manière non invasive, des échantillons auprès des sujets. Au cours des dix dernières années, de nombreuses entreprises ont émergé avec de nouvelles innovations, chacune fournissant des méthodes uniques pour détecter la série de drogues les plus utilisées (THC / marijuana, opiacés, cocaïne, amphétamine/ méthamphétamine et la phénylcyclidine). On estime qu'entre 50 et 60 millions de tests de dépistage de drogues sont effectués chaque année aux États-Unis. Il reste encore des défis technologiques à surmonter, notamment la capacité à détecter efficacement la marijuana à des niveaux faibles dans les échantillons de salive, mais malgré cela, de nombreux tests de drogues par voie orale sont utilisés quotidiennement (Slowey et coll., 2015).

Les leaders historiques dans le domaine des tests oraux de dépistage des drogues étaient Alere Toxicology (Royaume-Uni <http://www.aleretoxicology.co.uk>), Securetec (Allemagne, www.securetec.net) et Mavand (Allemagne, www.mavand.com).

Alere Toxicology a créé le dispositif RapiScan, appelé DDS2, qui utilise un système absorbant à base de bandelettes pour collecter des fluides oraux. Une fois recueilli, l'échantillon est immédiatement transféré sur une cartouche de test à bord du DDS2. Les fluides oraux se mélangent avec des solutions tampons dans l'appareil puis s'écoulent le long des bandes de test LTF, situées dans l'unité. DDS2 peut analyser cinq classes de drogues en 5 minutes. Les résultats d'une étude récente sur cet

appareil sont encourageants mais dans 24% des cas, l'unité DDS2 n'a pas fourni de résultat valide (Slowey et coll., 2015).



Figure 15 : Alere DDS2 Mobile Test System (Alere Toxicology)

Le DrugWipe 5 S de Securetec AG (Allemagne) est un test qui peut détecter en 10 min le panel des 5 types de drogues (cf. Figure 15) les plus répandues suite à une collection très rapide d'échantillons. L'appareil DrugWipe abrite un tampon de collecte de salive à usage unique utilisé pour collecter la salive en essuyant l'intérieur des joues. Un colorant indicateur change de couleur du rouge au jaune, ce qui signifie qu'un échantillon adéquat a été collecté. Le bloc de collecte est placé dans la cassette du périphérique et les résultats sont lus visuellement sur la bandelette de test en 8 minutes (Slowey et coll., 2015).



Figure 16 : Test de dépistage de drogue universel DrugWipe® 5 A Cannabis (Marijuana/Haschich/THC), Amphétamines/Méthamphétamine/Ecstasy, Cocaïne /Crack, Opiacés (Morphine/Héroïne) (Securetec)

L'appareil du fabricant Mavand offre un écran multidrogue appelé RapidStat qui peut détecter jusqu'à 8 drogues en environ 6-8 minutes. La collecte de salive est facile à l'aide d'un écouvillon. Une fois recueillie, la salive est transférée dans des puits d'échantillonnage sur le dispositif Mavand RapidStat, qui sont directement connectés aux bandes de test incorporées dans l'appareil (Slowey et coll., 2015).

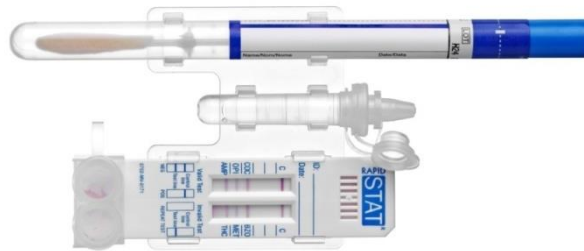


Figure 17 : Rapid STAT®. AMP : Amphétamines, BZO : Benzodiazépines, COC : Cocaïne, MTD : Méthadone, MET / MDMA : Méthamphétamine/Ecstasy, OPI : Opiacés, THC : Marijuana (Mavand)

Il existe de nombreux autres appareils sur le marché qui testent avec succès la salive pour les drogues récréationnelles.

Le tableau suivant répertorie les sites internet d'un certain nombre de sociétés qui commercialisent d'autres tests de drogues portables qui sont couramment utilisés pour les tests de toxicomanie en médecine légale, le dépistage en entreprise et la justice pénale. Cette liste n'est pas exhaustive et est fournie afin de compléter les informations présentées ci-dessus (Slowey et coll., 2015).

Tableau 4 : Principaux fabricants de kits de tests de drogues (Slowey et coll., 2015)

| Fabricant | Site internet | Nom du produit |
|-----------------------------|--|----------------|
| Confirm Biosciences | www.confirmbiosciences.com | SalivaConfirm® |
| Drug Testing America/others | www.drugtestingamerica.com | i-Screen® |
| ASC | www.americanscreeningcorp.com | Discover® |
| ABMC | www.abmc.com | OralStat® |
| JAJ Scientific | www.jajinternational.com | QikTech® |
| Innovacon (Alere) | www.innovaconinc.com | OrALert® |
| Mavand | www.mavand.com | RapidSTAT® |
| Envitec | www.envitec.com | SmartClip® |
| Ulti-med | www.ultimed.org | SalivaScreen® |
| Varian | www.varian.com | OraLab 6® |
| Securetec | www.securetec.net | DrugWipe 6® |
| Express Diagnostics | www.drugcheck.com | SalivaScan® |

Alors que les tests rapides de salive « *point-of-care* » donnent des résultats probants, ce type de diagnostic réalisé après l'analyse d'échantillons oraux est toujours à la phase embryonnaire de son développement malgré son potentiel (Slowey et coll., 2015).

3.1.2 – Parodontite et péri-implantite

PerioSafe et ImplantSafe sont deux tests « *point-of-care* » qui sont rapides, sensibles, précis, reproductibles et peu coûteux. Il s'agit de deux tests basés sur un dosage immunologique de MMP-8 actif (aMMP-8) pour mesurer l'état inflammatoire de la parodontite et de la péri-implantite.

PerioSafe



Figure 18 : PerioSafe/ImplantSafe (Perio Prevention Network)

PerioSafe, utilise la chromatographie à flux latéral aMMP-8 fluocentrique *point of care*-immunotest. Ce test permet d'identifier et d'afficher les sites anciens d'une parodontite initiale, distingue les sites actifs des autres sites, prédit la progression de la maladie et peut être utilisé pour surveiller le traitement ainsi que la maintenance. Par ailleurs, il identifie les adolescents génétiquement prédisposés. Une ligne sur le dispositif de test indique que le test a analysé avec succès la goutte de salive totale et que le résultat est négatif. Le résultat est positif si deux lignes sont observées, ce qui indique un risque élevé de parodontite (Rathnayake et coll., 2017).

La sensibilité et la spécificité du test PerioSafe aMMP-8 ont été établies à 76,5% et 96,7% suivant les zones sondées. Le test a été validé de manière indépendante et internationale en Afrique, en Europe et aux États-Unis, et dans toutes les études, il semble parfaitement différencier les patients atteints de maladies parodontales de patients sains et être un examen complémentaire à l'examen clinique (Rathnayake et coll., 2017).

ImplantSafe

L'ImplantSafe aMMP-8 (qui utilise également une chromatographie à flux latéral rapide immunotest), est un test destiné à être utilisé dans l'implantologie dentaire. Ce test PoC est un test rapide pour les examens de routine dans le cadre d'un programme régulier de maintenance des implants. Le test peut fournir des informations précieuses dans le cadre de soins préventifs et de maintenance grâce à un dépistage précoce d'un risque d'inflammation avec une destruction osseuse tissulaire et alvéolaire consécutive. Le dépistage précoce offre la possibilité d'un traitement opportun pour arrêter le développement des inflammations des muqueuses et/ou osseuse autour des implants. L'échantillon est recueilli directement par voie atraumatique autour de l'implant, en utilisant une bande de collecte de liquide de sulcus péri-implantaire stérile (PISF) munie du test. Les résultats montrent des valeurs élevées de collagénase (aMMP-8) dans le liquide de sillon péri-implantaire. Cette enzyme naturelle décompose les tissus et est sécrétée dans les stades précoces de d'inflammations parodontales / péri-implantaires (Rathnayake et coll., 2017).

Un résultat de test négatif (seule la ligne témoin apparaît) et aucun signe clinique suggère une absence d'inflammation péri-implantaire. De même un résultat au test négatif lors de la maintenance signifie que les mesures prophylactiques, et d'entretien des implants, ont été réalisées avec succès et dans le bon intervalle de temps. Cela peut également signifier que les mesures prises pour traiter un cas d'inflammation des muqueuses ou de péri-implantite ont été couronnées de succès (Rathnayake et coll., 2017).

Un résultat de test positif (lignes de test et de contrôle sont toutes les deux visibles) révèle une activité collagénolytique élevée. Cela suggère un risque élevé de destruction des tissus péri-implantaire et de perte osseuse alvéolaire due, notamment, aux processus inflammatoires. Le résultat du test doit être évalué par le dentiste traitant selon la situation clinique du patient. D'autres paramètres doivent être pris en compte, tels que la date de pose de l'implant, le saignement au sondage, la profondeur de poche de sondage et l'évaluation radiologique de la perte osseuse. Pour la fiabilité du test, il doit être pris en considération les facteurs confondants

systemiques tels que la grossesse ou une maladie systemique (diabète sucré, maladies rhumatismales, maladies cardiovasculaires, etc.). Les implants qui présentent un test positif doivent être surveillés de très près, soit tous les trois mois. Les valeurs élevées de MMP-8 suggèrent la présence d'un état inflammatoire en cours. De plus, même une ligne de test de faible intensité indique un risque, qu'il faut prendre en considération et contrôler (Rathnayake et coll., 2017).

3.2 - Outils moléculaires

La croissance des technologies moléculaires (PCR, génotypage, microarrays, études d'association à l'ensemble du génome, séquençage et autres) a coïncidé avec l'intérêt croissant pour la salive en tant qu'échantillon d'étude, ce qui a engendré un certain nombre d'outils commerciaux permettant l'analyse d'acides nucléiques présents dans la salive. L'analyse de la salive à visée de diagnostic est une technique qui présente l'expansion commerciale la plus rapide à l'heure actuelle. Ces nouveaux outils analysant échantillons salivaires utilisent les mêmes protocoles et techniques que ceux analysant les prélèvements sanguins mais sont plus pratiques, plus simples à utiliser et plus rentables (Slowey et coll., 2015).

Depuis la découverte de la PCR et d'autres techniques moléculaires, l'utilisation de l'ADN comme élément de base pour le diagnostic a rapidement évolué. De plus, de nouveaux projets de recherche visant l'ARN salivaire (y compris l'ARNm et le microARN) et les protéines (protéomique) confortent l'intérêt de réaliser des tests oraux et permettra de développer de nouveaux domaines de diagnostic où la salive sera un échantillon de choix. L'octroi récent de plus de 5 millions de dollars à l'équipe du Dr Wong, dans une université américaine, pour examiner l'ARN extracellulaire dans les exosomes et d'autres microvésicules dans le cancer gastrique est une illustration significative de cette tendance (Slowey et coll., 2015).

Une publication récente dirigée par Gallo a montré que la majorité des microARN détectables dans le sérum et la salive sont concentrés dans les exosomes, molécules sur lesquelles se focaliseront les futures études de recherche analysant la salive (Slowey et coll., 2015).

Plusieurs tests ont été validés dans les laboratoires certifiés et sont en cours d'obtention des approbations officielles pour commencer à être commercialisés. On peut citer sans être exhaustif certains des tests / plates-formes validés utilisant les spécimens de salive comme ceux ciblant le virus du papillome humain (VPH), la maladie parodontale, le profilage génomique personnel permettant de connaître ses origines (23andme, Mountain View), ou encore le séquençage du génome à travers le projet du génome personnalisé (PGP) dirigé par le Dr George Church à l'Université de Harvard (Etats-Unis) (Slowey et coll., 2015).

La littérature fait l'inventaire de nombreuses nouvelles applications pour la salive, ce qui rend difficile l'établissement d'une liste exhaustive. L'un des tests moléculaires les plus récents qu'il peut être intéressant de citer est le test de fibrose kystique InPlex de Hologic (Bedford, Etats-Unis), qui détecte simultanément 23 mutations dans le gène CFTR (pour Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) (Slowey et coll., 2015).

Conclusion

Les avantages de la salive en tant que fluide diagnostique sont nombreux : collecte rapide et non invasive, pratique à stocker, et collecté de manière non invasive. Ils sont, par ailleurs, de plus en plus étudiés par la communauté scientifique.

Le nombre croissant de biomarqueurs découverts, associés à l'analyse avec des technologies de plus en plus performantes, nous permet de dire que la salive est un substitut du sang très intéressant pour la recherche de biomarqueurs.

Les découvertes se multiplient et on peut, dès aujourd'hui à travers des tests disponibles pour les patients, les pouvoirs publics ou encore les professionnels de santé, diagnostiquer le VIH, la maladie parodontale ou encore les consommateurs de produits stupéfiants.

L'identification des biomarqueurs dans les différentes sphères de la « salivaomics » permet de diagnostiquer les maladies à leur stade précoce, notamment dans le diagnostic des cancers. Cependant, la recherche sur la salive et ses applications pour le diagnostic de maladies systémiques en est encore à ses débuts malgré les nombreuses publications sur le sujet. La variabilité inter- et intra-individuelle élevée de la salive (génétique, pathologique, prise de médicaments...) reste un obstacle dans la standardisation des échantillons salivaires afin de fournir des résultats satisfaisants pour certaines maladies.

L'association de différents biomarqueurs formant une signature biologique ou encore l'étude du contenu des exosomes libérés dans la salive sont les pistes les plus prometteuses. Il paraît nécessaire d'élaborer des systèmes d'identification complexes pour normaliser l'évaluation salivaire.

La meilleure compréhension des corrélations entre la salive et la santé générale commence à porter ses fruits, ce qui favorisera de plus en plus d'applications médicales facilitant le diagnostic et l'individualisation d'une thérapie ciblée précise, pratique et sans douleur.

Bibliographie

1. Alere Toxicology. Alere DDS2 Mobile Test System [Internet]. c2017 [cité 22 juin 2017]. Disponible sur :<http://www.aleretoxicology.co.uk/en/home/products-services/drug-testing/products/dds2.html>
2. Amerongen AV, Veerman EC. Saliva: the defender of oral cavity. *Oral Diseases*. 2002; 8(1) : 12-22
3. Aps JK, Martens LC. Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Sci Int*. 2005; 150(2-3):119–131
4. Arellano M, Jiang J, Zhou X, Zhang L, Ye H, Wong DT, et al. Current advances in identification of cancer biomarkers in saliva. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2009;1:296-303.
5. Azerad J. Salivation, *Physiologie de la manducation*. Paris : Masson ;1992. p.69-100.
6. Azevedo LR, Damante JH, Lara VS, Lauris JR. Age-related changes in human sublingual glands: a post mortem study. *Arch Oral Biol*. 2005; 50(6): 565-574.
7. Baliga S, Muglikar S, Kale R. Salivary pH: A diagnostic biomarker. *J Indian Soc Periodontol*. 2013;17(4):461.
8. Ballbè M, Martínez-Sánchez JM, Sureda X, Fu M, Pérez-Ortuño R, Pascual JA, et al. Cigarettes vs. e-cigarettes: Passive exposure at home measured by means of airborne marker and biomarkers. *Environ Res*. 2014;135C:76–80. doi:10.1016/j.envres.2014.09.005.
9. Ben-Aryeh H, Fischer M, Szargel R, Laufer D. Composition of whole unstimulated saliva of healthy children : changes with age. *Arch Oral Biol*.1990; 35(11):929-31.
10. Ben-Aryeh H, Roll N, Lahav M, Dlin R, Hanne-Paparo N, Szargel R, et al. Effect of exercise on salivary composition and cortisol in serum and saliva in man. *J Dent Res*. 1989; 68(11): 1495-7.
11. Bermejo-Pareja F, Antequera D, Vargas T, Molina JA, Carro E. Saliva levels of Abeta1-42 as potential biomarker of Alzheimer's disease: a pilot study. *BMC Neurol*. 2010;10:108. doi:10.1186/1471-2377-10-108.
12. BioMérieux Corporate Website. Point-Of-Care : Amener le diagnostic au chevet du patient – un enjeu pour une meilleure prise en charge [Internet]. [cité 22 juin 2017]. Disponible sur : <http://www.biomerieux.com/fr/point-care>

13. Biringer E, Egeland J, Stordal KI, Lund A. The predictive value of saliva cortisol for remission of major depressive disorder. *European Psychiatry*. 2007;22:S172. doi:10.1016/j.eurpsy.2007.01.563.
14. Bosch JA. The use of saliva markers in psychobiology: mechanisms and methods. In: Ligtenberg AJM, Veerman ECI. *Saliva: Secretion and Functions*. Paris : Karger; 2014. p. 99–108.
15. Cabras T, Lavarone F, Manconi B, Olinas A, Sanna MT, Castagnola M, et al. Top-down analytical platforms for the characterization of the human salivary proteome. *Bioanalysis*. 2014;6(4):56381.
16. Carlson AJ, Crittenden AL. The relation of ptyalin concentration to the diet and to the rate of salivary secretion. *Exp Biol Med*. 1909; 7: 52–54.
17. Chevalier F, Hirtz C, Chay S, Cuisinier F, Sommerer N, Rossignol M, et al. Proteomic Studies of Saliva: A Proposal for a Standardized Handling of Clinical Samples. *Clinical Proteomics*. 2007;3(1):13.
18. Collège hospitalo-universitaire français de chirurgie maxillo-faciale et stomatologie. *Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie*. 3^e édition. Issy-Les-Moulineaux: Elsevier Masson ; 2014. Chapitres 1, Anatomie craniofaciale : p. 12-13.
19. Dawes C. Circadian rhythms in human salivary flow rate and composition. *J Physiol*. 1972;220(3):529-45.
20. Dawes C, Pedersen AML, Villa A, Ekström J, Proctor GB, Vissink A, et al. The functions of human saliva: A review sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. *Arch Oral Biol*. 2015;60(6):863-74.
21. De Almeida PDV, Grégio AMT, Machado MAN, de Lima AAS, Azevedo LR. Saliva composition and functions: a comprehensive review. *J Contemp Dent Pract*. 2008;9(3):72-80.
22. De Lima CL, Acevedo AC, Grisi DC, Taba M, Guerra E, De Luca Canto G. Host-derived salivary biomarkers in diagnosing periodontal disease: systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol* 2016;43(6):492–502. doi:10.1111/jcpe.12538.
23. De Oliveira LRP, Martins C, Fidalgo TKS, Freitas-Fernandes LB, de Oliveira Torres R, Soares AL, et al. Salivary Metabolite Fingerprint of Type 1 Diabetes in Young Children. *J Proteome Res*. 2016;15(8):2491–9. doi:10.1021/acs.jproteome.6b00007
24. Devoize L, Dallel R. Salivation. *EMC - Médecine buccale*. 2010; 5(5): 1-18. [Article 28-080-B-10].

25. Dhillon M, Raju SM, Mohan RS, Tomar D. Efficacy of Transcutaneous Electric Nerve Stimulation on Parotid Saliva Flow Rate in Relation to Age and Gender. *J Dent Shiraz Univ Med Sci.* 2016; 17(3): 164-170.
26. Diaz-Arnold AM, Marek CA. The impact of saliva on patient care: a literature review. *J. Prosthet Dent.* 2002; 88(3): 337-343
27. Doucoure S, Mouchet F, Cournil A, Le Goff G, Cornelié S, Roca Y, et al. Human antibody response to *Aedes aegypti* saliva in an urban population in Bolivia: a new biomarker of exposure to Dengue vector bites. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;87(3):504–10. doi:10.4269/ajtmh.2012.11-0477.
28. Securetec. DrugWipe® 5 A Cannabis (Marihuana/Hashish/THC), Amphetamines/Methamphetamines/Ecstasy, Cocaine /Crack, Opiates (Morphine/Heroin) [Internet]. [cité 22 juin 2017]. Disponible sur : <https://www.securetec.net/fr/Produits/Test-de-d%C3%A9pistage-de-drogue-universel>
29. Drummond Scientific. Microcaps® [Internet]. c2017 [cité 06juil 2017]. Disponible sur : <https://www.drummondsci.com/product.cfm?cat=capillary-micropipets&prod=microcaps>
30. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J.* 1992; 172(8): 305-312.
31. Eitel I, Desch S, Fuernau G, Hildebrand L, Gutberlet M, Schuler G, et al. Prognostic significance and determinants of myocardial salvage assessed by cardiovascular magnetic resonance in acute reperfused myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(22):2470–9. doi:10.1016/j.jacc.2010.01.049.
32. 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(2):2258-2265.
33. Farrell JJ, Zhang L, Zhou H, Chia D, Elashoff D, Akin D, et al. Variations of oral microbiota are associated with pancreatic diseases including pancreatic cancer. *Gut.* 2012; 61(4): 582–588.
34. FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) [Internet]. Silver Spring: Food and Drug Administration; 2016 [cité 9 mars 2017]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27010052>
35. Fedorova T, Knudsen CS, Mouridsen K, Nexø E, Borghammer P. Salivary Acetylcholinesterase Activity Is Increased in Parkinson's Disease: A Potential Marker of Parasympathetic Dysfunction. *Parkinsons Dis.* 2015;2015. doi:10.1155/2015/156479.

36. Fenoll-Palomares C, Munoz Montagud JV, Sanchiz V, Herreros B, Hernandez V, Minquez M, et al. Unstimulated salivary flow rate, pH and buffer capacity of saliva in healthy volunteers. *Rev Esp Enferm Dig.* 2004; 96(11):773-783.
37. Fletcher LCB, Burke KE, Caine PL, Rinne NL, Braniff CA, Davis HR, et al. Diagnosing Alzheimer's disease: are we any nearer to useful biomarker-based, non-invasive tests ?. *GMS HealthTechnol Assess.* 2013;9: Doc01. doi:10.3205/hta000107.
38. Foo JYY, Wan Y, Kostner K, Arivalagan A, Atherton J, Cooper-White J, et al. NT-ProBNP Levels in Saliva and Its Clinical Relevance to Heart Failure. *PLoS One.* 2012;7(10): e48452. doi:10.1371/journal.pone.0048452.
39. Gatti R, De Palo EF. An update: salivary hormones and physical exercise. *Scand J Med Sci Sports.* 2011;21(2):157–69.
40. Granot M, Nagler R. Association Between Regional Idiopathic Neuropathy and Salivary Involvement as the Possible Mechanism for Oral Sensory Complaints. *J Pain.* 2005;6(9):581–7. doi:10.1016/j.jpain.2005.03.010.
41. Greabu M, Battino M, Mohora M, Totan A, Didilescu A, Spinu T, et al. Current opinions concerning the restoration of endodontically treated teeth: basic principles. *J Med Life.* 2009;2(2):124–32.
42. Guerra ENS, Acevedo AC, Leite AF, Gozal D, Chardin H, De Luca Canto G. Diagnostic capability of salivary biomarkers in the assessment of head and neck cancer: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncology* 2015;51(9):805–18. doi:10.1016/j.oraloncology.2015.06.010.
43. Guerreiro A, da Costa G, Gomes RA, Ribeiro-Silva C, Gilberto S, Mateus E, et al. α -Synuclein aggregation in the saliva of familial transthyretin amyloidosis: a potential biomarker. *Amyloid.* 2012;19(2):74–80. doi:10.3109/13506129.2012.668500.
44. Hofman LF. Human Saliva as a Diagnostic Specimen. *J Nutr.* 2001;131(5):1621S 1625S.
45. Huang H, Mackeen MM, Cook M, Oriero E, Locke E, Thézénas ML, et al. Proteomic identification of host and parasite biomarkers in saliva from patients with uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Malar J.* 2012;11(?): 178. doi:10.1186/1475-2875-11-178.
46. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent.* 2001;85(2):162–169.
47. Inoue H, Ono K, Masuda W, Morimoto Y, Tanaka T, Yokota M, et al. Gender difference in unstimulated whole saliva flow rate and salivary gland sizes. *Arch Oral Biol.* 2006; 51(12): 1055-1060.

48. Jang MU, Park JW, Kho HS, Chung SC, Chung JW. Plasma and saliva levels of nerve growth factor and neuropeptides in chronic migraine patients. *Oral Dis.* 2011;17(2):187–93
49. Kaczor-Urbanowicz KE, Martin Carreras-Presas C, Aro K, Tu M, Garcia-Godoy F, Wong DT. Saliva diagnostics –Current views and directions. *Exp Biol Med (Maywood).* 2017;242(5):459-72.
50. Kageyama G, Saegusa J, Irino Y, Tanaka S, Tsuda K, Takahashi S, et al. Metabolomics analysis of saliva from patients with primary Sjögren's syndrome: Salivary metabolomics among Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol.* 2015;182(2):149–153. doi: 10.1111/cei.12683
51. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva - a review. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002; 13(2):197-212.
52. Kawai T, Fushiki T. Importance of lipolysis in oral cavity for orosensory detection of fat. *Am J Physiol.* 2003; 285(2): 447-454)
53. Khurshid Z, Zohaib S, Najeeb S, Zafar MS, Rehman R, Rehman IU. Advances of Proteomic Sciences in Dentistry. *Int J Mol Sci.* 2016;17(5):728.
54. Kozaki T, Lee S, Nishimura T, Katsuura T, Yasukouchi A. Effects of saliva collection using cotton swabs on melatonin enzyme immunoassay. *J Circadian Rhythms.* 2011; 9(1):1.
55. Kutscher AH, Mandel ID, Zegarelli EV, Denning C, Eriv A, Ruiz L, et al. A technique for collecting the secretion of minor salivary glands: I. Use of capillary tubes. *J Oral Ther Pharmacol.* 1967; 3(5): 391–392.
56. Langie SA, velSzc KS, Declerck K, Traen S, Koppen G, Van Camp G, et al. Whole-Genome Saliva and Blood DNA Methylation Profiling in Individuals with a Respiratory Allergy. *PloS One.* 2016;11(8):e0151109.
57. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. *Adv Dent Res.* 2000; 14:40-47.
58. Liebault L. Xérostomie et implications odonto-stomatologiques [Thèse]. Nancy : Université de Lorraine ; 2011. 205 p.
59. Liu H-J, Guo Y-Y, Li D-J. Predicting novel salivary biomarkers for the detection of pancreatic cancer using biological feature-based classification. *Pathol Res Pract.* 2017;213(4):394–9. doi:10.1016/j.prp.2016.09.017.
60. Maleki SJ, Cheng H, Perelman B, Hefle S, Vadas P. Secretion of Food Allergen Proteins in Saliva. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2006;117(2):S49. doi:10.1016/j.jaci.2005.12.199.

61. Matias I, Gatta-Cherifi B, Tabarin A, Clark S, Leste-Lasserre T, Marsicano G, et al. Endocannabinoids measurement in human saliva as potential biomarker of obesity. PLoS ONE. 2012;7(7):e42399. doi:10.1371/journal.pone.0042399.
62. Miller CS, Foley JD, Floriano PN, Christodoulides N, Ebersole JL, Campbell CL, et al. Utility of Salivary Biomarkers for Demonstrating Acute Myocardial Infarction. J Dent Res. 2014;93(7 Suppl):72S–79S. doi:10.1177/0022034514537522.
63. Hansen JT. Netter's Anatomy Flash Cards. 3^e édition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2014. 674 p121.
64. O'Brien-Simpson NM, Burgess K, Lenzo JC, Brammar GC, Darby IB, Reynolds EC. Rapid Chair-Side Test for Detection of Porphyromonas gingivalis. J Dent Res. 2017;96(6):618–25. doi:10.1177/0022034517691720.
65. Ocmant A, Mascart F. Effective Detection of Celiac Disease Using Salivary Anti-transglutaminase. AmJMed. 2007;120(10):e15. doi:10.1016/j.amjmed.2006.09.029.
66. Meridian Bioscience Europe. OraQuick ADVANCE Rapid HIV -1/2 Antibody Test Kit Controls [Internet]. c2017 [cité 22 juin 2017]. Disponible sur : <http://www.meridianbioscience.eu/oraquick-em-advance-em-reg-rapid-hiv-1-2-antibody-test-kit-controls.html>
67. Ozcan S, An HJ, Vieira AC, Park GW, Kim JH, Mannis MJ, et al. Characterization of Novel O –Glycans Isolated from Tear and Saliva of Ocular Rosacea Patients. J Proteome Res. 2013;12(3):1090–100. doi:10.1021/pr3008013.
68. Pellat B. Salives et milieu buccal. EMC - Médecine buccale. 2010 ; 5(4) : 1-10. [Article 28-080-A-10].
69. Pellestor, F. Module intégré 1, Métabolisme et nutrition : Histologie de l'appareil digestif [cours en ligne]. Université de Montpellier 1, Faculté de Médecine, PCEM2. 2007 [cité 10 oct 2016]. 91p. Disponible sur : http://www.med.univ-montp1.fr/Enseignement/cycle_1/PCEM2/mod-integres/MI1_metabolisme_nutrition/Ressources_locale/Histologie/MI1-Histologie_App_Digestif_bis.pdf
70. PerioPrevention Network. PerioSafe/ImplantSafe : PerioPrevention Network [Internet]. [cité 03 juil 2017]. Disponible sur : <http://en.periopreventionnetwork.com/technologies/periosafeimplantsafe/>

71. Porto-Mascarenhas EC, Assad DX, Chardin H, Gozal D, De Luca Canto G, Acevedo AC, et al. Salivary biomarkers in the diagnosis of breast cancer: A review. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2017;110:62–73. doi:10.1016/j.critrevonc.2016.12.009.
72. Proctor GB, Carpenter GH. Salivary secretion: mechanism and neural regulation. *Monogr Oral Sci.* 2014;24:14-29.
73. Ramos S de P, Ortolan GO, Dos Santos LM, Tobouti PL, Hidalgo MM, Consolaro A, et al. Anti-dentine antibodies with root resorption during orthodontic treatment. *Eur J Orthod.* 2011;33(5):584–91. doi:10.1093/ejo/cjq145.
74. Mavand. Rapid STAT® saliva multi drug test [Internet]. c2011 [cité 22 juin 2017]. Disponible sur : <http://www.mavand.de/en/products/drug-tests/rapid-stat.html>
75. Rathnayake N, Gieselmann D-R, Heikkinen AM, Tervahartiala T, Sorsa T. Salivary Diagnostics - Point-of-Care diagnostics of MMP-8 in dentistry and medicine. *Diagnostics.* 2017;7(1).pii : E7. doi:10.3390/diagnostics7010007
76. Renegar KB, Johnson CD, Dewitt RC, King BK, Li J, Fukatsu K, et al. Impairment of mucosal immunity by total parenteral nutrition: requirement for IgA in murine nasotracheal anti-Influenza immunity. *J Immunol.* 2001;166(2):819-25.
77. Schulz BL, Cooper-White J, Punyadeera CK. Saliva proteome research: Current status and future outlook. *Crit Rev Biotechnol.* 2013;33(3):246–259. doi: 10.3109/07388551.2012.687361
78. Sixou M, Diouf A, Alvares D. Biofilm buccal et pathologies buccodentaires. *Antibiotiques.* 2008; 9(3) : 181-188.
79. Slowey PD. Saliva Collection Devices and Diagnostic Platforms. In: Streckfus CF. *Advances in Salivary Diagnostics.* Berlin: Springer; 2015. p. 33–61.
80. Soares Nunes LA, Mussavira S, Sukumaran Bindhu O. Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. *Biochemia Medica.* 2015;25(2):177-92.
81. Sreebny LM. Saliva in health and disease: an appraisal and update. *Int Dent J.* 2000;50(3):140-61.
82. Stephen KW, Speirs CF. Methods for collecting individual components of mixed saliva: the relevance to clinical pharmacology. *Br J Clin Pharmacol.* 1976;3(2):315–319.

83. Streckfus C, Bigler L. Saliva as a diagnostic fluid. *Oral Diseases*. 2002;8(2):69-76.
84. Sugimoto M, Wong DT, Hirayama A, Soga T, Tomita M. Capillary electrophoresis mass spectrometry-based saliva metabolomics identified oral, breast and pancreatic cancer-specific profiles. *Metabolomics*. 2010;6(1):78–95. doi: 10.1007/s11306-009-0178-y.
85. Szpirglas H, Ben Slama L. Pathologie de la muqueuse buccale. *Encycl Med Chir*. 1999 ; 308: 240-243.
86. Tribout B, Gras-Champel V, Pannier M, Andrejak M. Physiologie et pharmacologie des sécrétions lacrymale et salivaire. *Rev Prat*. 2001 ; 2(51) : 133-139.
87. Truelove EL, Bixler D, Merritt AD. Simplified method for collection of pure submandibular saliva in large volumes. *J Dent Res*. 1967; 46(6): 1400–1403.
88. Van't Hof W, Veerman EC, Nieuw Amerongen AV, Ligtenberg AJ. Antimicrobial defense systems in saliva. *Monogr Oral Sci*. 2014;24:40-51. doi: 10.1159/000358783.
89. Vidailhet B, Robin O, Polo A, Bravetti P, Mahler P. Salivation. *EMC - Médecine buccale*. 2008 ; 3(1) : 1-8. [Article 28-150-M-10].
90. Vieira AC, An HJ, Ozcan S, Kim J-H, Lebrilla CB, Mannis MJ. Glycomic analysis of tear and saliva in ocular rosacea patients: the search for a biomarker. *Ocul Surf*. 2012;10(3):184–92. doi:10.1016/j.jtos.2012.04.003.
91. Wang X, Kaczor-Urbanowicz KE, Wong DTW. Salivary biomarkers in cancer detection. *Med Oncology*. 2017;34(1):7. doi:10.1007/s12032-016-0863-4.
92. Wang A, Wang CP, Tu M, Wong DTW. Oral Biofluid Biomarker Research: Current Status and Emerging Frontiers. *Diagnostics* [Internet]. 2016 [cité 15 mars 2017];6(4): pii : E45. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5192520/>
93. Yilmaz A, Geddes T, Han B, Bahado-Singh RO, Wilson GD, Imam K, et al. Diagnostic Biomarkers of Alzheimer's Disease as Identified in Saliva using 1H NMR-Based Metabolomics. *J Alzheimers Dis*. 2017;58(2):355–9. doi:10.3233/JAD-161226.
94. Yoshizawa JM, Schafer CA, Schafer JJ, Farrell JJ, Paster BJ, Wong DTW. Salivary Biomarkers: Toward Future Clinical and Diagnostic Utilities. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26(4):781–91. doi:10.1128/CMR.00021-13.

95. Zhang C-Z, Cheng X-Q, Li J-Y, Zhang P, Yi P, Xu X, et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int J Oral Sci.* 2016;8(3):133–7. doi:10.1038/ijos.2016.38.
96. Zhang Y, Sun J, Lin C-C, Abemayor E, Wang MB, Wong DTW. The emerging landscape of salivary diagnostics. *Oral Health Dent Manag.* 2014;13(2):200-10.
97. Zhang L, Xiao H, Zhou H, Santiago S, Lee JM, Garon EB, et al. Development of transcriptomic biomarker signature in human saliva to detect lung cancer. *Cell Mol Life Sci.* 2012;69(19):3341–50. doi:10.1007/s00018-012-1027-0.

TRIGUI Yahya – Biomarqueurs de la salive et santé générale

Nancy 2018 : 112 pages ; 18 figures ; 4 tableaux

Th. : Chir.-Dent. : Nancy 2018

Mots clés :

- Salive
- Biomarqueur
- Salivaomics
- Diagnostic

Résumé :

La salive est un formidable fluide biologique dont le prélèvement est non invasif et accessible lors d'une consultation. Elle contient une flore microbienne très variée ainsi qu'un nombre important de composants moléculaires dont plusieurs milliers de protéines différentes. Au cours des dix dernières années, les diagnostics salivaires ont suscités un vif intérêt et ont fait l'objet d'une attention particulière. Les potentialités avérées pour le diagnostic de pathologies systémiques sont très importantes et ce-dernier pourrait supplanter l'analyse sanguine comme outil de diagnostic pour traquer cancers, maladies cardio-vasculaires et autres affections chroniques.

L'objectif de cette thèse est de faire une synthèse des données actuelles de la littérature montrant l'efficacité diagnostic de différentes pathologies à partir de l'analyse de prélèvements salivaires : maladies d'Alzheimer, de Parkinson, les cancers du sein, colorectal et du pancréas, diabète (type 1 et 2), le VIH... Dans le futur, l'analyse du profil de la salive à travers ses différents champs d'études permettra sûrement de devenir un outil diagnostique ou pronostique plus vaste de diverses maladies.

Membres du jury :

| | | |
|----------------------|--|-------------------|
| Pr. C. STRAZIELLE | Professeur des Universités | Présidente |
| <u>Dr. C. BISSON</u> | <u>Maître de Conférences des Universités</u> | <u>Directrice</u> |
| Dr. B. PHULPIN | Maître de Conférences des Universités | Juge |
| Dr. L. ROCCHI | Docteur en Chirurgie Dentaire | Juge |

Adresse de l'auteur :

TRIGUI Yahya
16, rue champs cachet
70200 Magny-Vernois

Jury : Président : C. STRAZIELLE – Professeur des Universités
 Juges : C. BISSON – Maître de Conférences des Universités
 B. PHULPIN – Maître de Conférences des Universités
 L. ROCCHI – Attachée Hospitalo-Universitaire

Thèse pour obtenir le diplôme d'État de Docteur en Chirurgie Dentaire

Présentée par: **Monsieur TRIGUI Yahya**

né(e) à : **DIJON (Côte-d'Or)**

le **2 octobre 1990**

et ayant pour titre : « **Biomarqueurs de la salive et santé générale** ».

Le Président du jury

C. STRAZIELLE

Le Doyen,
de la Faculté d'Odontologie

J.M. MARTRETTE

Autorise à soutenir et imprimer la thèse *10150*

NANCY, le

Le Président de l'Université de Lorraine


P. MUTZENHARDT