



DÉPARTEMENT DE MÉDECINE DENTAIRE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLÔME DE DOCTEUR EN MÉDECINE DENTAIRE

Thème :

**CAPACITÉ PHAGOCYTAIRE DES MONOCYTES HUMAINS TRAITÉS
À L'ASTAXANTHINE AU COURS DE LA MALADIE CARIEUSE
CHEZ L'ENFANT**

Présenté par :

Abdessalem BEDRANE Meriem HADJ KACEM Yasmine Meriem HADJ SLIMANE

Soutenu en distanciel le 24 octobre 2021

Le Jury :

Dr Amel ZOUAOU	Maître-assistante en Parodontologie	Présidente
Dr Djamel GUENDOZ	Maître-assistant en OCE	Assesseur
Dr Warda MEZIANE	Maître de conférences B en Immunologie	Assesseur
Pr.Ag Ilham BEN-YELLES	Maître de conférences classe A en OCE	Encadrante
Pr Mourad ARIBI	Professeur en Immunologie	Encadrant



DÉPARTEMENT DE MÉDECINE DENTAIRE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLÔME DE DOCTEUR EN MÉDECINE DENTAIRE

Thème :

**CAPACITÉ PHAGOCYTAIRE DES MONOCYTES HUMAINS TRAITÉS
À L'ASTAXANTHINE AU COURS DE LA MALADIE CARIEUSE
CHEZ L'ENFANT**

Présenté par :

Abdessalem BEDRANE Meriem HADJ KACEM Yasmine Meriem HADJ SLIMANE

Soutenu en distanciel le 24 octobre 2021

Le Jury :

Dr Amel ZOUAOUI	Maître-assistante en Parodontologie	Présidente
Dr Djamel GUENDOUIZ	Maître-assistant en OCE	Assesseur
Dr Warda MEZIANE	Maître de conférences B en Immunologie	Assesseur
Pr.Ag Ilham BEN-YELLES	Maître de conférences classe A en OCE	Encadrante
Pr Mourad ARIBI	Professeur en Immunologie	Encadrant

Résumé

Introduction : La maladie carieuse constitue l'un des problèmes de santé bucco-dentaire les plus répandus. Outre les antibiotiques et les thérapies conventionnelles, diverses molécules ayant un effet sur le système immunitaire ont été proposées pour tenter d'éradiquer les bactéries cariogènes, parmi lesquelles l'astaxanthine (ASX). Ainsi, nous avons essayé d'évaluer son effet sur l'immunomodulation de l'activité phagocytaire et du burst respiratoire du monocyte durant la maladie carieuse chez l'enfant.

Matériel et méthodes : L'étude a été effectuée à l'aide d'un essai *ex vivo* sur des monocytes issus d'enfants atteints de la maladie, recrutés au sein de la Clinique Dentaire du Centre Hospitalier et Universitaire de Tlemcen.

Résultats : L'ASX a induit une augmentation très significative du niveau du burst respiratoire, aussi bien chez les patients que chez les contrôles (respectivement $p < 0,01$ et $p < 0,05$). De même, l'ASX a induit une augmentation significative de la capacité phagocytaire chez les patients et chez les contrôles (pour les deux comparaisons, $p < 0,05$). Les niveaux de significativité ont été respectivement inférieure à 0,05 et inférieure à 0,001 par le test d'ANOVA.

Conclusions : Nous avons montré pour la première fois que l'ASX a un effet immunomodulateur et ceci en induisant une amélioration notable aussi bien de la phagocytose que du burst respiratoire du monocyte chez l'enfant atteint de la maladie carieuse. Il serait judicieux de poursuivre cette étude en abordant, entre autres : (i) effet dose, (ii) effet âge, (iii) effet génétique et terrain familial, et (iv) sources et types cellulaires.

Mots clés : astaxanthine, burst respiratoire, enfants atteints de la maladie carieuse, immunomodulation, monocytes, phagocytose

Abstract

Introduction: Dental caries is considered as one of the most common oral health problems. In addition to antibiotics and conventional therapies, various molecules acting on immunity have been proposed in order to eradicate cariogenic bacteria, including astaxanthin (ASX). Therefore, we tried to evaluate its effect on the immunomodulation of monocyte respiratory burst and phagocytosis in children with dental caries.

Material and methods: An *ex vivo* essay was performed on monocytes from children with the disease, recruited at the Dental Clinic Department of Tlemcen Medical Center University.

Results: ASX induced a marked upregulation of respiratory burst in both patients and controls (respectively $p < 0.01$ and $p < 0.05$). Similarly, ASX induced a significant upregulation of phagocytosis in patients with dental caries and healthy controls (for both comparisons, $p < 0.05$). The significance levels were respectively less than 0.05 and less than 0.001 using ANOVA test.

Conclusions: We have shown for the first time that ASX markedly induced improvement in both phagocytosis and respiratory burst of monocyte in children with dental caries. It would be wise to expand the current study exploring mainly: (i) dose effect, (ii) age effect, (iii) genetic effect and family background, and (iv) cell sources and types.

Keywords: astaxanthin, children with dental caries, immunomodulation, monocytes, phagocytosis, respiratory burst

ملخص

مقدمة: يعتبر تسوس الأسنان من أكثر مشاكل صحة الفم إنتشارا. بالإضافة إلى المضادات الحيوية والعلاجات التقليدية، تم اقتراح جزيئات مختلفة تعمل على المناعة من أجل القضاء على البكتيريا المسببة للتسوس، من بينها الأستازانتين. لذلك، حاولنا تقييم تأثيره على التعديل المناعي للأكسدة الخلوية والبلعمة للبلاعم الوحيدة عند الأطفال المصابين.

المستلزمات والطرق: تم إجراء تجربة خارج الجسم الحي على البلاعم الوحيدة المستخرجة من أطفال مصابين بالتسوس حيث تم إنتقاؤهم في مركز طب الأسنان بجامعة تلمسان.

النتائج: تسبب الأستازانتين ارتفاع ملحوظ في الأكسدة الخلوية في كل من المرضى والغير المصابين (على التوالي $0.01 < E < 0.05$). وتسبب أيضا في زيادة البلعمة بشكل كبير عند المصابين والغير المصابين (لكلا المقارنتين، $0.05 < E < 0.001$). كانت مستويات الدلالة على التوالي أقل من 0.05 وأقل من 0.001 باستخدام اختبار أنوفا.

الاستنتاجات: لقد أظهرنا لأول مرة أن الأستازانتين تسبب بشكل ملحوظ تحسن في كل من البلعمة والأكسدة الخلوية للبلاعم الوحيدة عند الأطفال الذين يعانون من تسوس الأسنان. سيكون من الحكمة توسيع الدراسة الحالية لاستكشاف: (1) تأثير الجرعة، (2) تأثير العمر، (3) التأثير الجيني وخلفية الأسرة، و (4) مصادر الخلايا وأنواعها.

الكلمات المفتاحية: أستازانتين، الأطفال الذين يعانون من تسوس الأسنان، الأكسدة الخلوية، البلعمة، البلاعم الوحيدة، تعديل المناعة

Avant-propos

Nous tenons à remercier les membres du Jury de notre mémoire pour avoir accepté d'examiner notre travail à la lumière de leur expertise.

Tout d'abord, nous remercions Madame Amel ZOUAOUI, maître-assistante en Parodontologie au CHU de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle nous fait d'être la présidente du Jury, ainsi que pour ses qualités humaines et professionnelles.

Nous remercions Monsieur Djamel GUENDOUIZ, maître-assistant en Odontologie conservatrice et endodontie au CHU de Tlemcen, pour les enseignements qu'il nous a témoigné durant nos études et pour avoir accepté de faire partie de notre Jury.

Nous tenons également à témoigner notre reconnaissance à Madame Warda MEZIANE, maître de conférences B en Immunologie, pour sa contribution inestimable et pour nous avoir fourni la clé de nos travaux : le nitrobleu de tétrazolium. Nous sommes honorés par sa présence au sein du Jury.

Ce travail n'aurait pas vu le jour sans l'implication de nos encadrants.

Merci à Madame Ilham BEN-YELLES, maître de conférences classe A en Odontologie conservatrice et Endodontie, de nous avoir permis de réaliser ce travail qui est le fruit de son engagement pour la science, de son dévouement envers nous, et de son aide précieuse, nous souhaitons qu'il soit à la hauteur de ses espérances. Nous tenons également à la remercier profondément pour la pédagogie dont elle a fait preuve au cours de notre cursus et particulièrement durant notre stage interné au sein du service d'Odontologie conservatrice et d'Endodontie.

Merci à Monsieur Mourad ARIBI, Professeur en Immunologie, pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail et les facilités qu'il nous a accordées pour l'accomplir. Il nous a accueilli à bras ouverts dans son équipe et nous a guidé dans nos premiers pas dans le monde de la recherche en laboratoire. Il nous a non seulement fait confiance, mais nous a aussi appris à croire en nos capacités et à repousser nos limites. Son savoir-faire et son savoir-être ont définitivement marqué notre mémoire tout comme le plaisir que nous avons eu à travailler à ses côtés.

Nous remercions également,

Madame Rabia MESSALI, Ingénieure de Laboratoire, pour sa gentillesse, son amitié, ainsi que pour sa contribution dans ce travail.

Madame Imène BELHASSNA, Immunologiste, de nous avoir assisté dans la technologie de l'imagerie cellulaire.

Cette étude réalisée au sein de la Clinique Dentaire du Centre Hospitalier et Universitaire de Tlemcen et du Laboratoire d'Immunologie et de Biologie Moléculaire Appliquée (W0414100), s'inscrit dans la continuité des travaux de thèse de Doctorat en Sciences Médicales du Professeure Ilham BEN-YELLES, et représente l'un des principaux axes de recherches menés au Laboratoire W0414100, dirigé par le Professeur Mourad ARIBI. Elle a pour objectif d'évaluer l'effet de l'ASX sur l'activité phagocytaire du monocyte durant la maladie carieuse.

Ce travail est divisé en plusieurs chapitres :

Le premier chapitre sera dédié à la revue de la littérature en abordant les volets suivants :

- Un rappel fondamental sur la maladie carieuse.
- Un rappel fondamental sur le monocyte.
- Un rappel fondamental sur la phagocytose.
- Une vue globale sur l'ASX, une molécule aux propriétés immunomodulatrices, qui sera utilisée lors de notre étude.

Le deuxième chapitre sera consacré à la partie expérimentale.

Le troisième chapitre sera dédié aux résultats obtenus et leur analyse.

Le quatrième chapitre abordera la discussion.

Le cinquième chapitre, sera consacré aux conclusions.

À mes chers parents, à mes frères, mes mots ne sauraient suffire à exprimer ma profonde gratitude pour tout votre soutien durant mes années d'études.

Abdessalem BEDRANE

Je dédie cet humble travail,

À la mémoire de mes chers parents, je ne saurais exprimer mon grand chagrin en votre absence, j'imagine quelle serait votre joie aujourd'hui. Que ce travail soit le fruit de vos encouragements et de vos innombrables sacrifices. En ce jour j'espère que j'ai réalisé l'un de vos rêves. Maman, Papa, je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté. Que Dieu vous accorde la paix éternelle et vous accueille dans son vaste paradis.

À ma sœur, mon neveu Racim et mes deux frères, qui m'ont toujours encouragé et soutenu, durant ce parcours.

Meriem HADJ KACEM

À mes chers parents, à mes tendres grands-parents, à mon cher frère, à mon adorable neveu et à toutes les personnes qui m'ont soutenu, encouragé et inspiré le long de mon parcours universitaire, je vous exprime toute ma gratitude et mon amour.

Yasmine Meriem HADJ SLIMANE

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	iv
ملخص.....	v
Avant-propos.....	vi
Tables des matières.....	ix
Liste des abréviations.....	xii
Liste des tableaux.....	xvi
Liste des figures.....	xvii
Liste des annexes.....	xviii
Introduction.....	1
Chapitre 1 : Revue de la littérature.....	2
1.1. Maladie carieuse.....	3
1.1.1. Définition.....	3
1.1.2. Étiopathogénie de la maladie carieuse.....	3
1.1.2.1. Théorie étiologiques.....	3
1.1.2.2. Principaux facteurs de risques.....	5
1.1.2.2.1. Susceptibilité de l'hôte.....	5
1.1.2.2.1.1. Organe dentaire.....	5
1.1.2.2.1.1.1. Anatomie et histologie dentaire.....	5
1.1.2.2.1.1.2. Maladies bucco-dentaires déjà présentes.....	6
1.1.2.2.1.1.3. Présence de restaurations et de prothèses.....	6
1.1.2.2.1.1.4. Traitement orthodontique fixe.....	6
1.1.2.2.1.1.5. Antécédents de traitement orthodontique fixe.....	6
1.1.2.2.1.2. Paramètres salivaires.....	7
1.1.2.2.1.2.1. Débit salivaire.....	7
1.1.2.2.1.2.2. pH salivaire.....	7
1.1.2.2.1.2.3. Pouvoir tampon.....	7
1.1.2.2.1.2.4. Matrices Métallo Protéinases (MMP).....	7
1.1.2.2.1.3. État de santé général.....	8
1.1.2.2.1.4. Respiration buccale.....	8
1.1.2.2.1.5. Tabac.....	8
1.1.2.2.1.6. Autres facteurs.....	8
1.1.2.2.2. Bactéries cariogènes.....	9
1.1.2.2.2.1. Streptocoques.....	9
1.1.2.2.2.2. Lactobacilles.....	9
1.1.2.2.2.3. Actinomyces.....	9
1.1.2.2.3. Alimentation.....	11
1.1.3. Indices de mesure de la maladie carieuse.....	11
1.1.3.1. Indice CAOD.....	11
1.1.3.2. Indice CAO.....	11
1.1.3.3. Indice CAO.....	11
1.1.3.4. Indice SCI (Significant Caries Index).....	11
1.1.4. Histopathologie.....	12

1.1.5. Physiopathologie et mécanisme des lésions carieuses	12
1.1.5.1. Physiopathologie des lésions carieuses	13
1.1.5.2. Mécanisme des lésions carieuses	13
1.1.5.2.1. Déminéralisation.....	13
1.1.5.2.2. Reminéralisation.....	14
1.2. Monocyte	15
1.2.1. Définition	15
1.2.2. Origine	15
1.2.3. Structure	16
1.2.4. Marqueurs membranaires de surface et expressions moléculaires	17
1.2.5. Sous-classes des monocytes	17
1.2.6. Rôles des monocytes	18
1.3. Phagocytose	19
1.3.1. Définitions	19
1.3.1.1. Phagocytose.....	19
1.3.1.2. Phagosome.....	19
1.3.1.3. Lysosome.....	19
1.3.1.4. Phagolysosome.....	20
1.3.1.5. Opsonisation.....	20
1.3.2. Intérêts de la phagocytose	20
1.3.2.1. Réponse immunitaire anti-infectieuse	20
1.3.2.2. Maintien de l'homéostasie tissulaire	21
1.3.3. Autres cellules phagocytaires	21
1.3.4. Voies d'activations et étapes clés de la phagocytose	22
1.3.4.1. Recrutement des leucocytes	22
1.3.4.2. Détection de la particule à ingérer et adhésion.....	22
1.3.4.3. Activation du processus d'internalisation	22
1.3.4.4. Formation du phagosome	23
1.3.4.5. Maturation du phagosome	23
1.3.4.6. Destruction des micro-organismes (<i>bacterial killing</i>).....	24
1.3.4.7. Expulsion de la particule ingérée	24
1.3.5. Conséquences de la phagocytose	25
1.4. Astaxanthine	26
1.4.1. Définition	26
1.4.2. Sources	26
1.4.3. Structure chimique	26
1.4.4. Mode d'action	27
1.4.4.1. Effet antioxydant	27
1.4.4.2. Effet anti-inflammatoire	27
1.4.4.3. Effet immunomodulateur	29
1.4.4.4. Effet sur la phagocytose	29
1.4.4.5. Effet anticancéreux.....	29
1.4.5. Astaxanthine et ses potentielles applications en médecine	30
1.4.5.1. Astaxanthine et maladies parodontales	30
1.4.5.2. Activité cardioprotectrice	30
1.4.5.3. Activité neuroprotectrice.....	31

1.4.5.4. Activité antidiabétique	31
1.4.5.5. Astaxanthine et affections ostéo-articulaires.....	32
1.5. Problématique	33
Chapitre 2 : Matériel et méthodes.....	34
2.1. Aspect éthique	35
2.2. Type de l'étude.....	35
2.3. Objectif de l'étude.....	35
2.4. But de l'étude.....	35
2.5. Conception de l'étude	35
2.6. Définition de la maladie carieuse.....	36
2.7. Population de l'étude	36
2.7.1. Recrutement des malades	36
2.7.2. Critères d'inclusion.....	37
2.7.3. Critères d'exclusion	37
2.8. Modalités de l'étude.....	38
2.8.1. Étude clinique	38
2.8.1.1. Aspect clinique.....	38
2.8.1.1.1. Patients.....	38
2.8.1.1.2. Témoins	38
2.8.2. Étude immunologique.....	38
2.8.2.1. Prélèvements	38
2.8.2.2. Mesure de l'activité phagocytaire du monocyte.....	39
2.9. Analyses statistiques	45
Chapitre 3 : Résultats et Analyses.....	46
Chapitre 4 : Discussion.....	49
Chapitre 5 : Conclusions	52
Bibliographie.....	54
Références bibliographiques.....	55
Annexes	65
Annexe A. Consentement éclairé.....	66
Annexe B. Fiche d'observation clinique	67

Liste des abréviations

- A -

- ADN : Acide désoxyribonucléique
ANOVA : Analysis of variance
ASX : Astaxanthine

- C -

- Ca : Calcium
CAO : Indice des dents cariées (C), absentes (A), obturés (O)
CAOD : Indice des dents permanentes cariées (C), absentes (A), obturés (O)
CAOF : Indices de nombre de face de dents permanentes cariées (C), absentes (A), obturées (O)
CCL : Chemokine (C-C motif) ligand
CCR : C-C chemokine receptor
CD : Cluster de différenciation
CFU-GM : Colony forming unit – granulocyte macrophage
CFU-M : Colony forming unit - macrophage
CMH-II : Complexe majeur d'histocompatibilité de classe II
CMP : Common myeloid progenitor
COX-2 : Cyclooxygénase 2
CR : Complement receptor
CSH : Cellules souches hématopoïétiques
CTCF : Corrected total cell fluorescence
CX3CR1 : C-X3-C Motif Chemokine Receptor 1

- D -

- DC : Dendritic cell

- E -

- ERN : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

- F -

Fc : Fragment critilizable

FOXO3 : Forkhead box O3

- G -

G-CSF : Granulocyte-colony stimulating factor

- H -

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HAP : Hydroxyapatite

HClO : Acide hypochloreux

HDL : High-density lipoprotein

HLA-DR : Human Leukocyte Antigen – DR isotype

hPDLC : Human periodontal ligament cells

- I -

IFN- γ : Interféron gamma

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

iNOS : Inducible nitric oxide synthase

- J -

JAK-2 : Janus kinase 2

JNK : c-jun n-terminal kinases

- L -

LPS : Lipopolysaccharide

- M -

MAPK	: Mitogen-activated protein kinases
MMP	: Métalloprotéinase matricielles
MMP-9	: Métalloprotéinase matricielle 9
MMP-13	: Métalloprotéinase matricielle 13
moM1	: Monocyte classique
moM2	: Monocyte intermédiaire
moM3	: Monocyte non classique

- N -

NADPH	: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NBT	: Nitroblue tetrazolium
NF- κ B	: Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NIH	: National institutes of health
NK	: Natural killer
NO	: Nitric oxide
NOS	: Nitric oxide synthase
Nrf2	: Nuclear factor erythroid 2–related factor 2

- O -

O ₂	: Oxygène
OH	: Hydroxyle
OMS	: Organisation mondiale de la santé

- P -

PAMPs	: Pathogen-associated molecular patterns
PGE2	: Prostaglandine E2
pH	: Potentiel hydrogène
PI3K	: Phosphoinositide 3-kinase
PPA	: Protéines de phase aiguë
PRR	: Pathogen-recognition receptor

- S -

- SCI : Significant caries index
SPM : Système phagocytaire mononucléaire
SR : Scavenger receptor
STAT-3 : Signal transducer and activator of transcription 3

- T -

- Th : Lymphocyte T helper
TLR : Toll-like receptor
TNF- α : Tumor necrosis factor alpha

- U -

- USA : United states of America

- V -

- v-ATPase : Vacuolar-adenosine triphosphate

Liste des tableaux

Tableau 1.1.	Classification des micro-organismes de la plaque dentaire et des caries coronaires et radiculaires	10
---------------------	--	----

Liste des figures

Figure 1.1.	Triade étiologique de la maladie carieuse selon KEYES 1962	4
Figure 1.2.	Diagramme de KEYES modifié par NEWBRUN en 1978	4
Figure 1.3.	Schéma de SELWITZ et coll., 2007	5
Figure 1.4.	Les sous-couches de la lésion carieuse	12
Figure 1.5.	Mécanisme de déminéralisation/reminéralisation des lésions carieuses	14
Figure 1.6.	Différents stades du développement des monocytes et leur différenciation en macrophages	16
Figure 1.7.	Morphologie du monocyte	17
Figure 1.8.	Sous-classes des monocytes	18
Figure 1.9.	Maturation du phagosome	23
Figure 1.10.	Mécanisme de la phagocytose d'une bactérie	25
Figure 1.11.	Structure chimique de l'ASX	26
Figure 1.12.	Les mécanismes anti-inflammatoires de l'ASX	28
Figure 2.1.	Réalisation d'un examen clinique sur un enfant	37
Figure 2.2.	Acheminement des prélèvements sanguins dans une glacière	39
Figure 2.3.	Tube contenant le NBT	40
Figure 2.4.	Flacon d'ASX	40
Figure 2.5.	Tube Eppendorf TM contenant du latex	41
Figure 2.6.	Agitateur de laboratoire vortex	41
Figure 2.7.	Tubes à essais contenant du sang et du NBT traités ou non avec ASX/latex	42
Figure 2.8.	Matériel nécessaire à la réalisation de frottis sanguins	42
Figure 2.9.	Réalisation d'un frottis sanguin	43
Figure 2.10.	Frottis sanguins après une double coloration de May-Grünwald Giemsa	43
Figure 2.11.	Image montrant un formazan prise à l'aide de la Technologie ImageJ	44
Figure 2.12.	Phagocytose des particules de latex par un monocyte prise à l'aide de la Technologie ImageJ	44
Figure 3.1.	Niveau du burst respiratoire monocyttaire chez les patients et contrôles après traitement à l'ASX	47
Figure 3.2.	Niveau de la capacité phagocytaire du monocyte chez les patients et contrôles après traitement à l'ASX	48

Liste des annexes

Annexe A.	Consentement éclairé	66
Annexe B.	Fiche d'observation clinique	67

Introduction

La cavité buccale est le siège d'un écosystème biologique singulier et très complexe, qui présente des propriétés de variabilité et d'adaptabilité selon les sujets. Effectivement, elle constitue un habitat propice pour les espèces bactériennes actives qui, avec d'autres composants de la sphère buccale, constituent l'environnement direct des dents et de la muqueuse buccale. Dans cet écosystème, les interactions physiques et chimiques avec les bactéries se perpétuent, contribuant à l'équilibre biologique. Cet état d'équilibre peut se rompre et provoquer diverses pathologies, dont la maladie carieuse^[1].

La maladie carieuse constitue l'un des problèmes de santé bucco-dentaire les plus répandus. Actuellement, conceptualisée comme un processus infectieux chronique et multifactoriel affectant les tissus durs de la dent^[2,3]. Elle résulte d'une interaction complexe au fil du temps entre les glucides fermentescibles, les facteurs de l'hôte, à savoir les dents et la salive et un large groupe de bactéries pathogènes à effet cariogène^[4].

Outre les antibiotiques et les thérapies conventionnelles, diverses molécules ayant un effet sur le système immunitaire ont été proposées pour tenter d'éradiquer ces bactéries de la cavité buccale^[5], parmi lesquelles l'astaxanthine (ASX), un dérivé oxygéné des caroténoïdes présent naturellement dans les microalgues, de par ses effets immunomodulateurs aussi bien sur les cellules de l'immunité innée qu'adaptative^[6,7].

Ces dernières années, les monocytes circulants ont fait l'objet d'études par vagues successives comme cible d'immunomodulation, en tant que cellules « plastiques »^[8], pouvant être polarisées en différents phénotypes, ou maturées en macrophages ou en cellules dendritiques dans les tissus, en fonction du microenvironnement cellulaire^[9].

Pour notre part, nous avons essayé d'évaluer l'effet de l'ASX sur l'immunomodulation de l'activité phagocytaire du monocyte durant la maladie carieuse. À cette fin, un essai *ex vivo* sur des monocytes issus d'enfants atteints de la maladie a été réalisé au sein de la clinique dentaire et du Laboratoire d'Immunologie et de Biologie Moléculaire Appliquée (W0414100).

Chapitre 1

Revue de la littérature

Chapitre 1 : Revue de la littérature

1.1. Maladie carieuse

1.1.1. Définition

La lésion carieuse est une maladie multifactorielle, médiée par le biofilm bactérien et modulée par le régime alimentaire. Elle entraîne une perte minérale des tissus durs dentaires. Elle est déterminée par des facteurs biologiques, comportementaux, psychosociaux et environnementaux^[10].

La lésion carieuse est une maladie infectieuse qui touche les tissus durs de la dent, pouvant affecter toute personne indépendamment de son âge. Cette pathologie chronique est souvent classée comme troisième fléau mondial^[1,11].

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) décrit la lésion carieuse comme un processus pathologique localisé, d'origine externe, apparaissant après l'éruption de la dent ; il s'accompagne d'un ramollissement des tissus durs et évolue vers la formation d'une cavité^[12].

1.1.2. Étiopathogénie de la maladie carieuse

1.1.2.1. Théories étiologiques

En 1960, Keyes a schématisé une triade étiologique de la maladie carieuse qui englobe trois facteurs interreliés : l'hôte (la surface des dents et les facteurs salivaires), le substrat (régime alimentaire et alimentation) et les bactéries spécifiques à la lésion carieuse^[13,14].

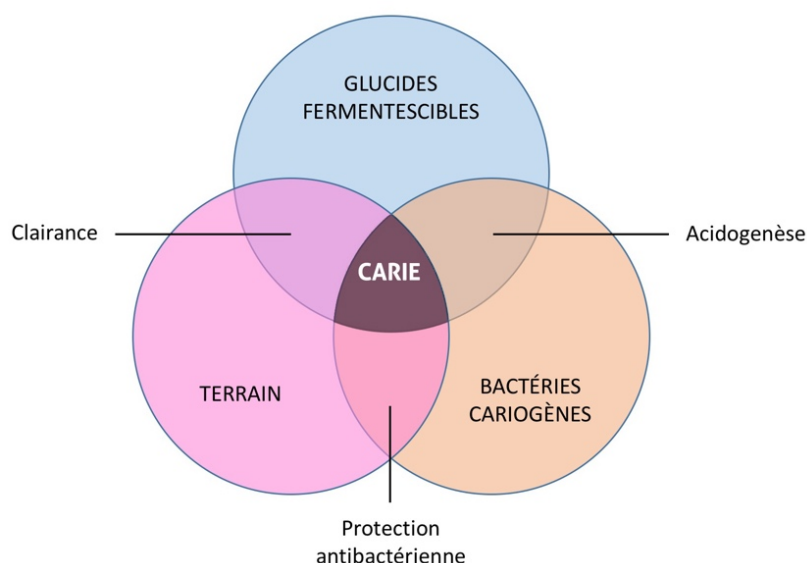


Figure 1.1. Triade étiologique de la maladie carieuse selon KEYES 1962 (Amélioration de l'hygiène buccodentaire par le conseil en officine. Le 11 décembre 2015 p 65, Eve TREBOSC ROUCH, 2015).

Une modification du schéma de Keyes a été proposée en 1978 par Newbrun, qui a ajouté le facteur « temps » à la triade, car la lésion carieuse est une maladie chronique et ses signes ou symptômes sur la surface dentaire mettent du temps à être détectés cliniquement^[13].

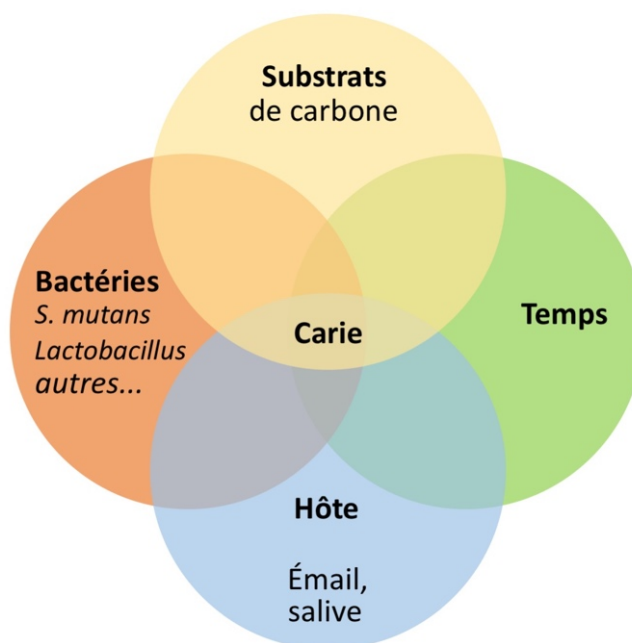


Figure 1.2. Diagramme de KEYES modifié par NEWBRUN en 1978 (La prévention buccodentaire en France : entre recommandations et pratique quotidienne. Le 7 juillet 2016 p 3, Océane ABATTU).

Par la suite, en 2007, Selwitz a ajouté d'autres facteurs.

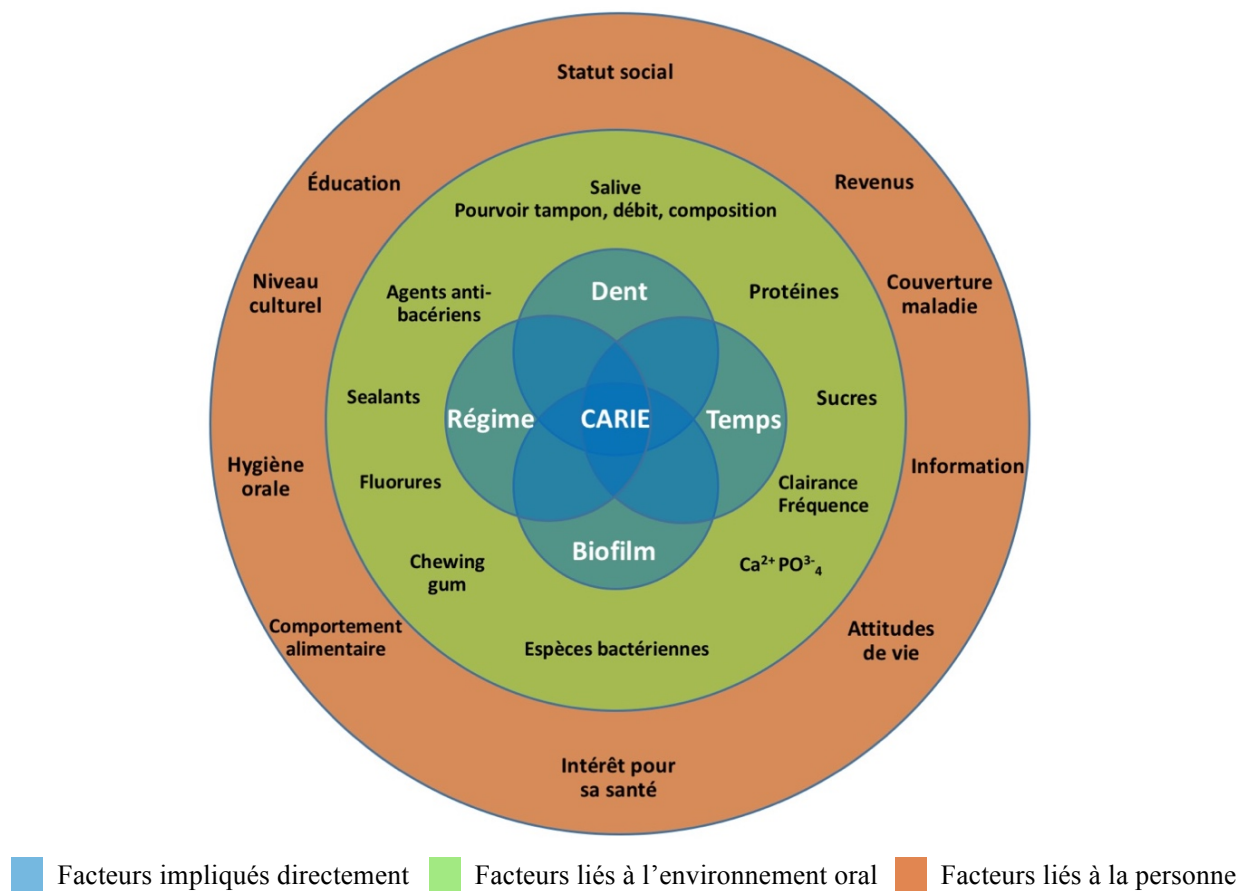


Figure 1.3. Schéma de SELWITZ et coll., 2007 (J. Lasfargues, Odontologie conservatrice et restauratrice. Tome 1 : une approche médicale globale, 2009 p 145)

1.1.2.2. Principaux facteurs de risque

1.1.2.2.1. Susceptibilité de l'hôte

1.1.2.2.1.1. Organe dentaire

Étant le siège de la lésion carieuse, l'organe dentaire peut être susceptible à cette dernière selon plusieurs raisons.

1.1.2.2.1.1.1. Anatomie et histologie dentaire

Des sillons profonds sont des sillons difficiles à nettoyer et par conséquent sont source d'accumulation de biofilm bactérien^[15,16].

Les malpositions dentaires créent des zones difficiles d'accès au brossage et l'accumulation de biofilm bactérien est ainsi favorisée^[17].

Un degré et une qualité de minéralisation moindres de la dent jouent un rôle très important dans l'apparition des lésions caries^[18].

1.1.2.2.1.1.2. Maladies bucco-dentaires déjà présentes

Les affections bucco-dentaires déjà présentes représentent des facteurs de risque pour le développement des lésions carieuses. Par exemple, l'origine des lésions carieuses radiculaires est la maladie parodontale^[19].

1.1.2.2.1.1.3. Présence de restaurations et de prothèses

De nombreuses recherches ont démontré que les surfaces de matériaux non polis pouvaient accumuler plus de biofilm bactérien que les surfaces polies, notamment les composites à base de résine, les céramiques, les piliers d'implants et les bases de prothèses dentaires^[20].

1.1.2.2.1.1.4. Traitement orthodontique fixe

Les appareils orthodontiques augmentent le risque de lésions carieuses en favorisant l'accumulation du biofilm bactérien et en rendant l'hygiène buccale difficile. Les lésions *white spots* sont l'un des effets indésirables les plus courants de la thérapie orthodontique. Elles résultent de la déminéralisation de l'émail et peuvent évoluer vers la formation d'une cavité carieuse^[21].

1.1.2.2.1.1.5. Antécédents de traitement orthodontique fixe

Actuellement, il n'existe pas de méthodes pour éliminer les résidus de résine orthodontique qui soient complètement atraumatiques pour la surface de la dent. Selon la technique employée, environ 20 à 50 % de l'émail est perdu lors de l'élimination de la résine.

Les inévitables pertes de substances de l'émail après l'élimination de la résine à l'aide d'instruments rotatifs ont été considérées comme augmentant la susceptibilité aux lésions carieuses^[22].

1.1.2.2.1.2. Paramètres salivaires

La salive agit comme le système de défense primaire de la cavité buccale ; elle est aussi importante pour protéger les surfaces dentaires exposées.

La salive a la capacité d'inverser la déminéralisation de la surface exposée des dents par un simple rinçage mécanique, elle assure une activité antimicrobienne par une sécrétion de peptides antimicrobiens, elle possède un pouvoir tampon, et elle contient des protéines de liaison du phosphate de calcium^[23].

1.1.2.2.1.2.1. Débit salivaire

Un débit salivaire augmenté entraînera une diminution à l'exposition des acides et des sucres. Cependant, si le débit est réduit, il accroîtra le potentiel cariogène des aliments^[24].

Certains médicaments, comme les antihypertenseurs, les anticholinergiques, les anxiolytiques, les médicaments des chimiothérapies, causent une xérostomie et par conséquent de graves lésions carieuses apparaissent^[25].

1.1.2.2.1.2.2. pH salivaire

Le pH salivaire physiologique varie entre 6,7 et 7,3 et durant l'ingestion d'aliments riches en sucres fermentescibles, il peut diminuer et atteindre 5,3 ce qui engendre une grande susceptibilité à la maladie carieuse^[26].

1.1.2.2.1.2.3. Pouvoir tampon

Le pouvoir tampon de la salive assure la neutralisation des acides produits par les bactéries du biofilm bactérien^[23].

1.1.2.2.1.2.4. Matrices Métallo Protéinases (MMP)

Retrouvées dans la salive, ces enzymes sont capables de dégrader des substrats extracellulaires comme le collagène, participant ainsi à la cariogenèse^[16,27].

1.1.2.2.1.3. État de santé général

L'état de santé général peut avoir un effet indirect sur le risque carieux et certains facteurs médicaux peuvent être aggravants. Par exemple, les patients ayant subi une radiothérapie courent un risque accru de développer des lésions carieuses, principalement en raison de l'hyposalivation^[28].

1.1.2.2.1.4. Respiration buccale

Plusieurs études mettent en évidence une association entre la respiration buccale et la prévalence carieuse. En effet, le flux constant d'air assécherait les surfaces dentaires et la muqueuse, particulièrement dans la portion antérieure de la cavité buccale, ce qui va restreindre l'action autonettoyante de la salive et pourrait ainsi promouvoir la colonisation d'agents pathogènes^[29].

1.1.2.2.1.5. Tabac

Certaines études ont montré que le risque de lésions carieuses est plus élevé chez les fumeurs que chez les non-fumeurs. Une explication à cet égard est que le tabac réduit le débit salivaire, ce qui augmente l'accumulation du biofilm bactérien sur la surface des dents, augmentant ainsi le risque de maladies carieuses^[30].

Par ailleurs, de récentes études ont aussi montré que les enfants dont les mères ont fumé pendant la grossesse courent un risque plus élevé d'avoir des lésions carieuses sur les dents temporaires par rapport aux enfants de mères non-fumeuses^[31].

1.1.2.2.1.6. Autres facteurs

Les piercings buccaux sont un facteur susceptible d'augmenter le risque de maladie carieuse. La friction contre les surfaces dentaires peut causer une perte de substance, des fractures suite à des chocs répétitifs et de la sensibilité^[19].

1.1.2.2.2. Bactéries cariogènes

Les lésions carieuses sont liées à la présence d'une dysbiose microbienne avec une prédominance des espèces bactériennes cariogènes issues du biofilm bactérien ou de la salive [32]. Les Streptocoques, les Lactobacilles et les Actinomyces sont considérés comme les principales espèces pathogènes impliquées dans l'initiation et la progression de ces lésions [33].

1.1.2.2.2.1. Streptocoques

C'est en 1924 que Clarke a démontré l'implication des *Streptocoques Mutans* dans l'étiologie des lésions carieuses [34].

Les *S. Mutans* et *Sobrinus* possèdent certaines propriétés qui leur permettent de jouer un rôle central dans l'étiologie des lésions carieuses [35]. Il s'agit de leur capacité à adhérer à la pellicule salivaire de l'émail et à d'autres bactéries du biofilm, à synthétiser en intracellulaire et en extracellulaire des polysaccharides en présence de saccharose, de fructose et de glucose, à produire des acides et à survivre dans un environnement acide [34,36-38].

1.1.2.2.2.2. Lactobacilles

Ils présentent aussi les caractéristiques de production d'acide et de tolérance en milieu acide. Parmi les espèces de Lactobacilles les plus fréquemment isolées sont *L. Acidophilus*, *L. casei*, *L. oris*, *L. salivarius* [1,32].

1.1.2.2.2.3. Actinomyces

Ils représentent environ 2 % des bactéries du biofilm et sont souvent retrouvés dans les lésions carieuses profondes, récurrentes et radiculaires [1].

Il est toutefois démontré actuellement que le microbiote des maladies carieuses est très diversifié et que d'autres espèces bactériennes sont également associées à la lésion carieuse comme *Streptocoques Mitis*, *Streptocoques Sanguis*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* et *Scardovia* [32,39,40].

Tableau 1.1. Classification des micro-organismes de la plaque dentaire et des caries coronaires et radiculaires (d'après Chardin et coll., 2006) (J. Lasfargues, Odontologie conservatrice et restauratrice Tome 1 : une approche médicale globale, 2009, p 150)

	Plaque dentaire	Lésions carieuses coronaires et radiculaires	
		Bactéries aérobies et anaérobies facultatives	Bactéries aérobies strictes
Cocci à Gram positif	<i>Peptococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus</i> (<i>S. mutans</i> , <i>S. sobrinus</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. sanguinis</i> *) <i>Gemella morbillorum</i> *	<i>Fingoldia magna</i> <i>Peptoniphilus</i> <i>Asacharolyticus</i> <i>Peptostreptococcus anderobius</i> <i>Micromonas micros</i> *
Cocci à Gram négatif	<i>Neisseria</i> <i>Veillonella</i>		<i>Veillonella</i>
Bacilles à Gram positif	<i>Actinomyces</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Eubacterium</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Rothia</i>	<i>Actinomyces naeslundii</i> <i>Lactobacillus</i> (<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i>) <i>Rothia dentocariosa</i>	<i>Actinomyces</i> (<i>A. israelii</i> , <i>odontolyticus</i> , <i>A. gerenscseriae</i> *) <i>Bifidobacterium</i> (<i>B. bifidum</i> , <i>B. dentium</i>) <i>Clostridium</i> <i>Eubacterium saburreum</i> <i>Pseudoramibacter alactolyticus</i> <i>Propionibacterium</i> (<i>P. acnes</i> , <i>P. avidum</i> , <i>P. granulosum</i> , <i>P. propionicus</i>)
Bacilles à Gram négatif	<i>Actinobacillus</i> <i>Bacteroides</i> <i>Campylobacter</i> <i>Capnocytophaga</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Haemophilus</i> <i>Klebsiella</i> <i>Leptotrichia</i> <i>Prevotella</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Selenomonas</i> <i>Treponema</i>	<i>Eikenella corrodens</i> <i>Actinobacillus</i> <i>actinomycetemcomitans</i> <i>Campylobacter</i> (<i>C. rectus</i> , <i>C. gracilis</i>) <i>Capnocytophaga</i>	<i>Bacteroides</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Prevotella intermedia</i> <i>Selenomonas</i> *

*Ces bactéries sont plus spécifiques des lésions radiculaires.

1.1.2.2.3. Alimentation

L'alimentation, et plus précisément l'ingestion continue des glucides fermentescibles métabolisés par les bactéries cariogènes, constitue un des facteurs indispensables à l'apparition de la maladie carieuse^[1]. Une consommation excessive et répétée de sucres sur une période prolongée augmente la production d'acide par les bactéries, perturbant le fonctionnement du pouvoir tampon de la salive, ce qui favorisera l'installation de la maladie carieuse^[41].

1.1.3. Indices de mesure de la maladie carieuse

1.1.3.1. Indice CAOD

Il a été mis au point par Klein et Palmer en 1930, et utilisé depuis par l'OMS. Il représente la somme des dents permanentes cariées (C), obturées (O), absentes (A). Cet indice permet d'évaluer les antécédents carieux de la denture permanente et l'incidence des lésions carieuses^[1,42-45].

Sa valeur est de : $0 \leq \text{CAOD} \leq 28$, car il ne prend pas en compte les dents de sagesse^[46,47].

1.1.3.2. Indice CAOF

Correspond au nombre de faces cariées (C), obturées (O), absentes (A) des dents permanentes, on distingue cinq faces pour les dents postérieures et quatre pour les dents antérieures ce qui fait que sa valeur varie de $0 \leq \text{CAOF} \leq 128$ faces^[1,47,48].

1.1.3.3. Indice CAO

C'est la somme des dents cariées, extraites, obturées sur le nombre total des sujets examinés. Le C indique le besoin de traitement et le A et O correspondent au passé de la maladie carieuse^[1,49].

1.1.3.4. Indice SCI (Significant Caries Index)

Cet indice est élaboré par l'OMS et représente le CAOD moyen du tiers de la population ayant un indice CAOD le plus élevé^[1,50,51].

1.1.4. Histopathologie

Le tissu carieux est constitué de quatre zones différentes sur le plan histologique. La couche externe est constituée de la zone nécrotique et de la zone infectée. La zone nécrotique a une charge microbienne très élevée. En dessous, se trouve la couche de déminéralisation, appelée aussi zone affectée, elle est caractérisée par un nombre très faible de micro-organismes, un minimum de nutriments et une atmosphère anaérobie. Enfin, la zone la plus interne située près de la pulpe est la zone translucide, elle contient une dentine sclérotique. La déminéralisation et l'absence de microorganismes caractérisent cette zone, car la flore microbienne ne peut pas pénétrer jusqu'à cette profondeur^[52].

Légendes :

- P : biofilm bactérien
- CN : couche nécrotique
- CI : couche infectée
- CA : couche affectée
- CS : couche sclérotique
- DS : dentine saine

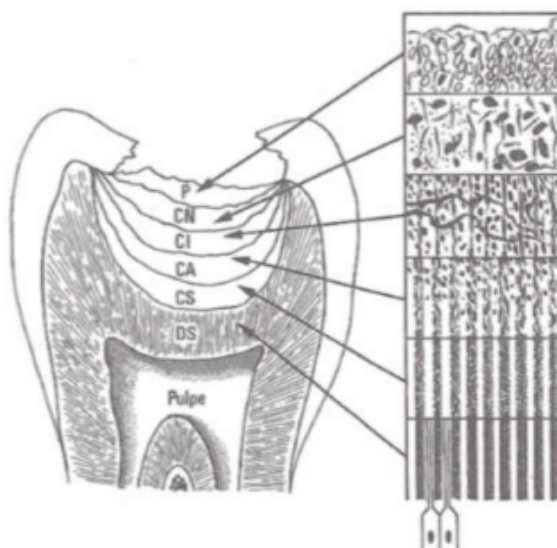


Figure 1.4. Les sous-couches de la lésion carieuse (Kaquelier et Le May, Anatomie pathologique bucco-dentaire, 1998).

1.1.5. Physiopathologie et mécanisme des lésions carieuses

Le mécanisme et la physiopathologie du développement des lésions carieuses sont aujourd'hui de mieux en mieux compris et sont mieux élucidés, d'une part, par rapport aux tissus durs (la maladie carieuse affecte les tissus dentaires calcifiés), et, d'autre part, par rapport à la microbiologie (le biofilm bactérien est le moteur du processus carieux une fois que l'équilibre homéostatique est rompu)^[53].

1.1.5.1. Physiopathologie des lésions carieuses

Les tissus dentaires durs qui sont exposés à l'environnement buccal (couronnes et racines dénudées) sont les cibles du processus carieux, et ceci tout au long de la vie d'un individu. Tant pour les dents temporaires que pour les dents permanentes. Cependant, la maladie carieuse ne se produira pas en l'absence de biofilm bactérien cariogène et d'exposition fréquente aux glucides alimentaires, principalement les sucres libres. Cette pathologie est donc considérée comme une maladie alimentaire-microbienne^[1].

Un concept moderne de la lésion carieuse inclut également la prise en compte de la manière dont les facteurs comportementaux, sociaux et psychologiques ainsi que les facteurs biologiques sont impliqués. Et donc la pathologie carieuse serait mieux décrite comme étant une maladie complexe médiée par le biofilm bactérien et qui peut être principalement reliée à des comportements impliquant l'ingestion de glucides fermentescibles (tels que le glucose, le fructose, le saccharose et le maltose) et une mauvaise hygiène bucco-dentaire en combinaison avec une exposition inadéquate au fluorure^[53].

1.1.5.2. Mécanisme des lésions carieuses

1.1.5.2.1. Déminéralisation

La maladie carieuse résulte d'un déséquilibre prolongé dans la cavité buccale entre les facteurs favorisant la déminéralisation de la structure minérale cristalline de la dent et les facteurs qui facilitent la reminéralisation et la réparation de cette structure^[54].

La déminéralisation est la conséquence de l'activité des acides organiques produits par les bactéries du biofilm. À mesure que ces acides s'accumulent dans la phase liquide du biofilm, le pH baisse jusqu'à ce que les conditions à l'interface biofilm-émail deviennent sous-saturées, provoquant la déminéralisation partielle de la couche superficielle de la dent. L'accumulation de produits de réaction, principalement le calcium (Ca) et le phosphate, provenant de la dissolution de l'émail augmente le degré de saturation et peut protéger partiellement la couche superficielle d'une déminéralisation supplémentaire^[53].

1.1.5.2.2. Reminéralisation

Le processus de reminéralisation est un mécanisme de réparation naturel qui permet de restituer les minéraux, sous forme ionique, au réseau cristallin d'hydroxyapatite (HAP). Il se produit dans des conditions de pH physiologique presque neutre, où les ions calcium et phosphate provenant de la salive et du biofilm bactérien sont redéposés dans l'émail, ce qui entraîne la formation de nouveaux cristaux d'HAP, plus grands et plus résistants à la dissolution acide^[55].

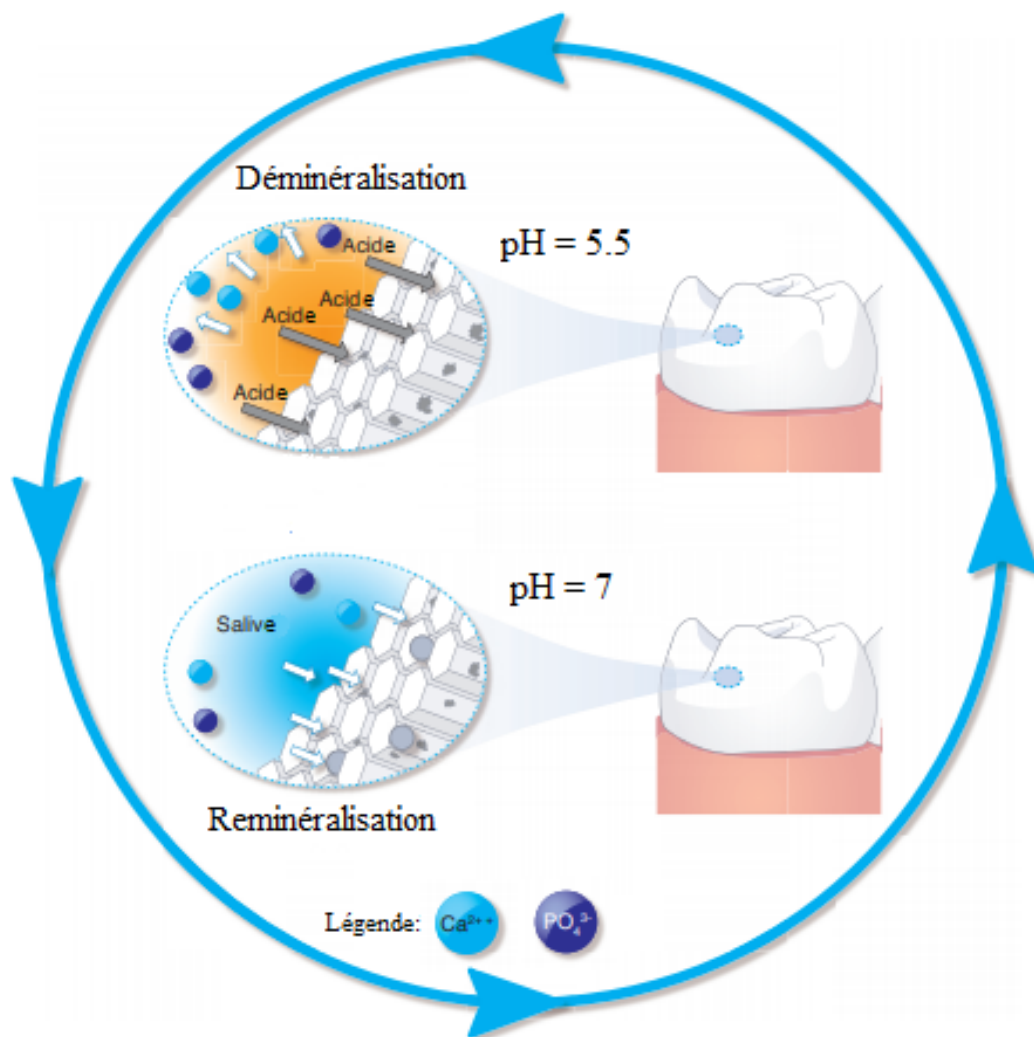


Figure 1.5. Mécanisme déminéralisation/reminéralisation des lésions carieuses
(Dodds et coll., 2015, modifié).

1.2. Monocyte

1.2.1. Définition

Les monocytes sont des leucocytes qui constituent une population majeure de cellules immunitaires innées circulant dans le sang et dans les tissus à l'état stable et à des taux accrus pendant l'inflammation^[56,57]. Ils représentent 10 % des leucocytes périphériques chez l'homme^[58].

Les monocytes recrutés lors d'une inflammation peuvent se transformer ou bien en macrophages ou bien en cellules dendritiques conventionnelles (DC, *dendritic cell*)^[59]. Aussi, les monocytes circulants sont constitués de sous-ensembles distincts qui possèdent déjà des propriétés fonctionnelles avant d'atteindre les tissus enflammés^[58].

Les monocytes constituent l'une des composantes du " système phagocytaire mononucléaire " (SPM) qu'ils partagent avec les macrophages et les cellules dendritiques^[58,60].

Une caractéristique majeure qui les distinguent des autres membres du SPM est qu'ils sont prêts à être rapidement mobilisés en grand nombre vers les sites enflammés de tout l'organisme^[58].

1.2.2. Origine

Les monocytes sont produits principalement dans la moelle osseuse à partir des cellules souches hématopoïétiques (CSH) par un processus appelé la monocytopoïèse. Ces cellules souches vont donner naissance aux cellules progénitrices myéloïdes communes (CMP, *common myeloid progenitor*), qui vont se différencier en progéniteurs granulocytes-monocyte (CFU-GM, *colony forming unit-granulocyte macrophage*)^[61-63].

Ensuite, à partir du CFU-GM, viennent les cellules des unités formant des colonies de macrophage (CFU-M, *colony forming unit-macrophage*) qui se différencient en monoblastes, promonocytes et monocytes matures^[61].

Ces monocytes vont passer de la moelle osseuse au sang où ils circulent pendant une courte période de 1 à 3 jours puis ils migrent du compartiment sanguin pour se localiser dans les différents tissus de l'organisme^[64-67].

En plus de la moelle osseuse, il a été démontré que la rate contient un énorme réservoir de monocytes dans des conditions homéostatiques normales et qui peuvent être rapidement recrutés en réponse à une lésion ou une inflammation^[68,69].

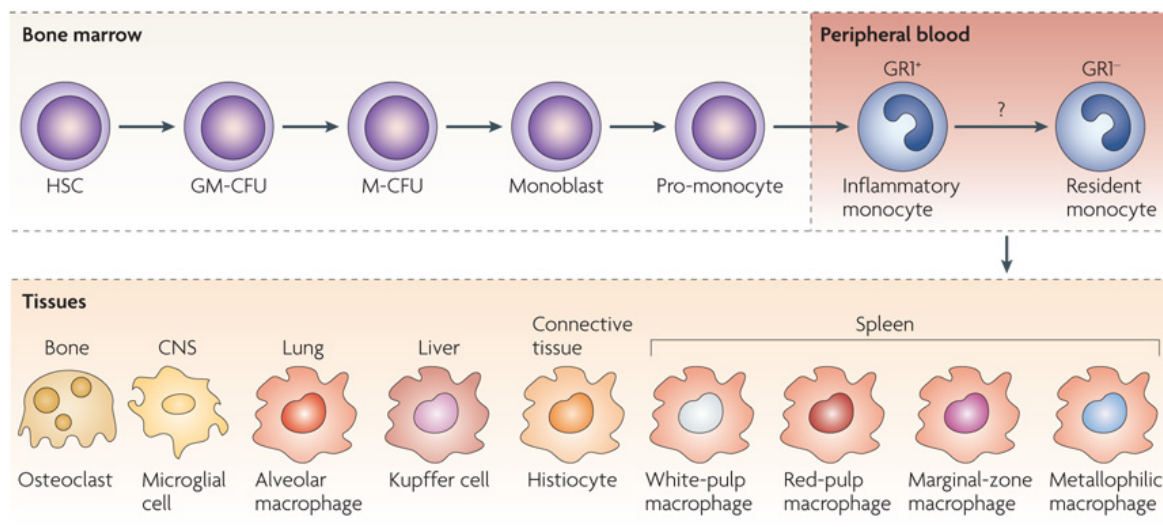


Figure 1.6. Différents stades du développement des monocytes et leur différenciation en macrophages (Mosser et Edwards, 2008).

1.2.3. Structure

Les monocytes sont les plus grandes cellules leucocytaires avec un diamètre de 12 μm à 20 μm ^[70]. Ils sont de formes variables, souvent rondes ou ovalaires, avec un cytoplasme abondant. Des vacuoles cytoplasmiques sont fréquemment présentes. Les noyaux des monocytes sont généralement bilobés et réniformes^[71].

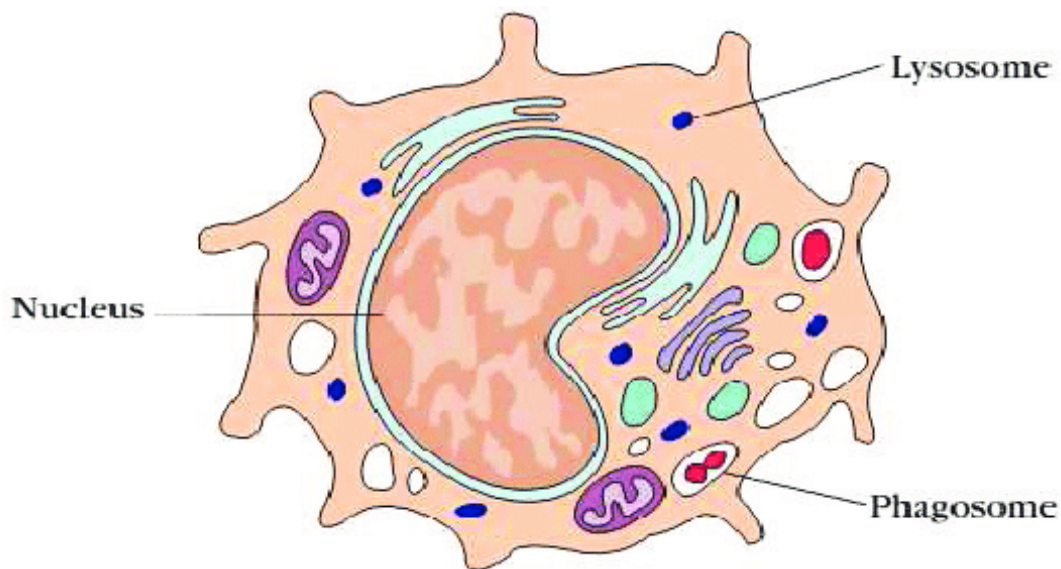


Figure 1.7. Morphologie du monocyte (Sadiq Mareai, The scope of immunology, 2018 p 14).

1.2.4. Marqueurs membranaires de surface et expressions moléculaires

Les monocytes se caractérisent par l'expression de divers marqueurs de surface cellulaire tels que les récepteurs de types toll-like (TLR, *toll-like receptor*) dont le TLR 2 et le TLR 4, les récepteurs scavenger (SR/CD36), les récepteurs de chimiokines (CCR2, CCR4, CCR5 et CX3CR1) et des récepteurs pour les fragments (Fc) des immunoglobulines (Ig) dont le CD16 et le CD64^[72-75].

Ils expriment aussi la molécule CD14^[73], les molécules d'adhésion comme les intégrines (CD11a, CD11b, CD18)^[76] et la molécule de présentation d'antigènes HLA-DR (CMH-II)^[56].

En outre, en réponse aux différents stimuli, ces cellules produisent une variété de substances, notamment des cytokines proinflammatoires telles que les interleukines IL-6, IL-8, des chimiokines dont les CCL2, CCL3, et CCL5, et aussi d'autres cytokines comme IL-1 β , IL-10 et le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α). Ils peuvent également sécréter des facteurs de croissance hématopoïétiques, dont le G-CSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor)^[72,77,78].

1.2.5. Sous-classes des monocytes

Les monocytes sont de nature hétérogène et présentent une grande plasticité^[8]. L'identification des sous-ensembles de monocytes repose sur l'expression relative de CD14 qui est corécepteur

du récepteur TLR4 et médiateur de la signalisation du lipopolysaccharide (LPS), ainsi que de l'expression de CD16 (récepteur Fc gamma IIIa) [77].

Le phénotypage par cytométrie en flux a permis d'identifier trois populations différentes de monocytes, à savoir les monocytes classiques (moM1, CD14⁺⁺CD16⁻), intermédiaires (moM2, CD14⁺CD16⁺) et non classiques (moM3, CD14⁺CD16⁺⁺) [78,79]. Chacun de ces types présente des différences significatives en ce qui concerne l'expression des marqueurs, la sécrétion des molécules et les fonctions [78,80].

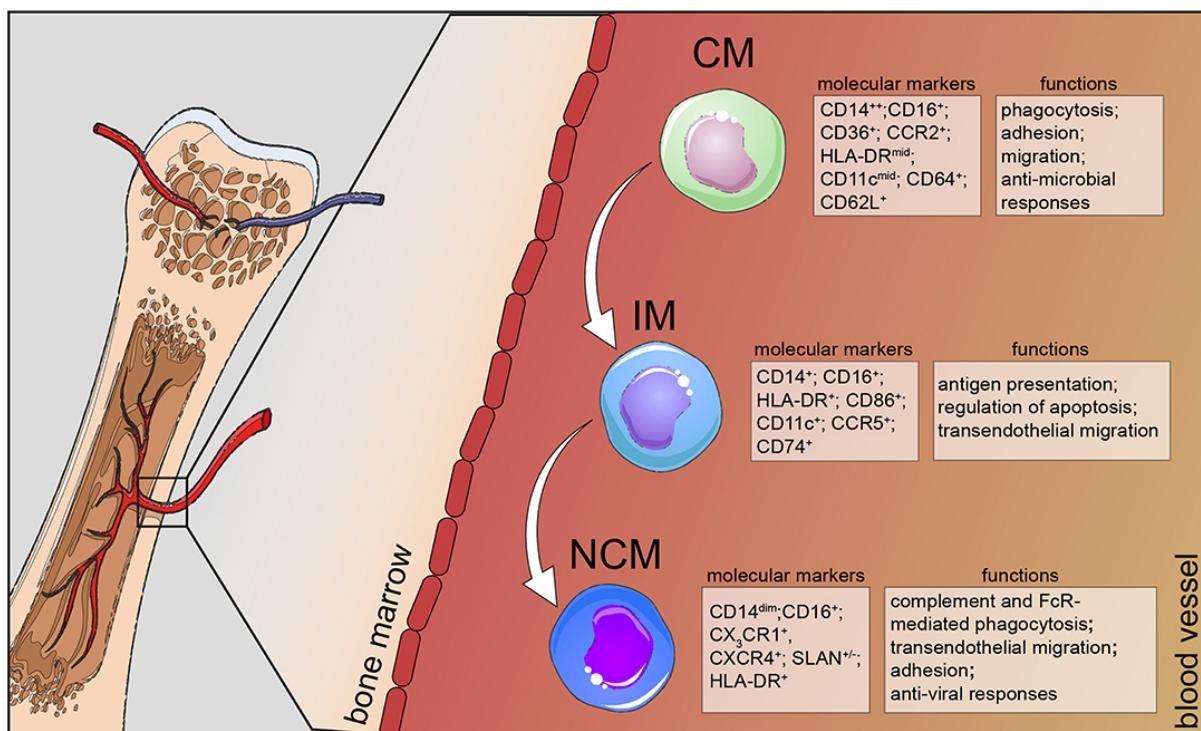


Figure 1.8. Sous-classes des monocytes (Kapellos et coll., 2019).

1.2.6. Rôles des monocytes

Les monocytes jouent un rôle clé dans le maintien de l'homéostasie tissulaire, le déclenchement des réponses de l'hôte aux agents pathogènes et la résolution des réponses immunitaires [56] ; ceci grâce à leur capacité à phagocyter, à sécréter diverses substances telles que les cytokines et les chimiokines et à présenter les antigènes [9,57].

1.3. Phagocytose

1.3.1. Définitions

1.3.1.1. Phagocytose

La phagocytose est un processus actif d'internalisation et de dégradation subséquente^[81] de particules de plus de 0,5 µm de diamètre, tels les micro-organismes, les substances étrangères et les cellules apoptotiques^[82], qui est médiée par le mouvement de l'actine membranaire^[83].

La fonction de phagocytose est essentiellement réservée aux cellules immunitaires spécialisées, telles les cellules dendritiques, les neutrophiles et plus distinctement les monocytes^[84]. Elle permet la clairance des agents pathogènes infectieux, des cellules infectées, des cellules tumorales, des cellules sénescents, des cellules apoptotiques et des débris de cellules mortes^[85]. Elle permet aussi le déclenchement des réponses immunitaires innées et de l'inflammation^[82,86].

Pour que la phagocytose se produise, une série d'étapes est nécessaire, allant de la reconnaissance de la particule cible, de son ingestion dans un phagosome (vacuole phagocytaire), de la maturation de ce phagosome en phagolysosome, à la destruction finale de la particule ingérée dans l'environnement antimicrobien du phagolysosome.

1.3.1.2. Phagosome

Le phagosome est une vacuole se formant dans une cellule phagocytaire après que celle-ci ait pratiqué la phagocytose, et renfermant la particule ingérée selon ce processus^[82]. Cette vacuole subit une série d'événements de fusion et de fission avec les endosomes et les lysosomes par un mécanisme de " *kiss-and-run* ", afin de connaître une maturation^[86].

1.3.1.3. Lysosome

Le lysosome est l'organite de dégradation de la cellule. Il représente le point final de la dégradation de la voie endosomale. Son environnement acide maintenu par la v-ATPase lysosomale 5, combinée à des hydrolases, donne un organite parfaitement adapté à la dégradation des principales macromolécules, notamment les lipides, les polysaccharides et les

protéines. Le lysosome fonctionne également comme une plateforme de signalisation métabolique^[87].

1.3.1.4. Phagolysosome

Le phagolysosome est le résultat de la maturation d'un phagosome^[82]. Il assure une excellente activité antimicrobienne grâce à l'arsenal dont il dispose. Ses principales stratégies destructrices sont multiples, à savoir (i) un pH acide, (ii) la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO, comme le peroxyde d'hydrogène) et de l'azote (ERN, comme le monoxyde d'azote), et, (iii) une série d'enzymes et de peptides^[88].

1.3.1.5. Opsonisation

L'opsonisation est le processus de reconnaissance favorisant la préparation de cibles à la phagocytose. Les molécules qualifiées d'opsonines recouvrent la membrane d'une cellule cible, notamment d'une bactérie pour favoriser sa phagocytose par une cellule dotée de récepteurs pour les opsonines^[89]. Les opsonines comprennent les anticorps, le complément, la fibronectine, la lectine se liant au mannose et la globuline grasse du lait (lactadhérine)^[88].

1.3.2. Intérêts de la phagocytose

1.3.2.1. Réponse immune anti-infectieuse

La phagocytose est un mécanisme clé de l'immunité innée ; les phagocytes professionnels, tels les monocytes^[88], reconnaissent, englobent, détruisent^[90] et présentent les agents pathogènes aux cellules du système immunitaire adaptatif^[91].

Ce processus de phagocytose est initié par la reconnaissance du ligand d'une particule par les récepteurs de la surface cellulaire des phagocytes professionnels. Pour parvenir à une absorption sélective, ces derniers expriment des réseaux de récepteurs spécifiques. La reconnaissance des récepteurs lance des voies de signalisation qui induisent un remodelage du cytosquelette d'actine et une extension des protubérances membranaires qui entourent la particule pour former une coupe phagocytaire. Une fois la coupe phagocytaire scellée, un phagosome se forme et mûrit progressivement par des événements de fusion et de fission avec les vésicules endocytaires et lysosomales pour devenir un phagolysosome. La particule ingérée

serait détruite dans le phagolysosome et éventuellement présentée par le CMH-II en surface des phagocytes professionnels^[90].

1.3.2.2. Maintien de l'homéostasie tissulaire

L'élimination des cellules apoptotiques par la phagocytose est un processus essentiel pour l'homéostasie des tissus au cours du renouvellement, dans les situations physiologiques et pathologiques^[60]. Une élimination inadéquate ou insuffisante des cellules apoptotiques peut entraîner une inflammation excessive et une maladie auto-immune^[92].

L'élimination des cellules apoptotiques requiert une phagocytose spécialisée, désignée, en anglais, sous le terme de l'*engulfment*. Pour que l'engloutissement se produise, les cellules apoptotiques attirent les phagocytes grâce à la libération régulée de signaux "find-me" and "eat-me". Une fois que la migration du phagocyte vers la proximité des cellules mortes a lieu, la reconnaissance, l'internalisation et la dégradation de la cellule morte s'enchaîneront^[92].

1.3.3. Autres cellules phagocytaires

Toutes les cellules peuvent, dans une certaine mesure, effectuer une phagocytose ; cependant, chez les mammifères, la phagocytose est la marque de cellules spécialisées, notamment les monocytes, les macrophages, les cellules dendritiques, les ostéoclastes, les éosinophiles et les polymorphonucléaires neutrophiles. Ces cellules sont communément appelées phagocytes professionnels^[88], vu qu'elles sont capables d'accomplir la phagocytose avec une grande efficacité^[82].

Les fibroblastes, les cellules épithéliales et les cellules endothéliales peuvent également accomplir la phagocytose avec une faible efficacité et sont donc décrits comme des phagocytes non professionnels ou amateurs. Ces dernières ne peuvent pas ingérer de microorganismes, mais sont importantes pour éliminer les cellules desquamées et maintenir l'homéostasie^[82].

1.3.4. Voies d'activations et étapes clés de la phagocytose

1.3.4.1. Recrutement des leucocytes

Le recrutement des leucocytes vers les sites d'infection est l'une des étapes de la réponse inflammatoire^[93].

Ce recrutement est un processus multi-étapes étroitement régulé, contrôlé par les interactions des leucocytes avec la couche endothéliale des capillaires sanguins et la capacité du leucocyte à franchir la paroi vasculaire. Le processus complet de pénétration des leucocytes dans la paroi vasculaire est appelé diapédèse^[93].

Une fois que le leucocyte se retrouve en extravasculaire, il migre ensuite dans l'espace interstitiel le long d'un gradient de médiateurs chimiques.

1.3.4.2. Détection de la particule à ingérer et adhésion

La détection est effectuée par des récepteurs spécifiques qui se trouvent sur les cellules phagocytaires. Les récepteurs qui reconnaissent directement les molécules associées aux agents pathogènes (PAMPs, *pathogen-associated molecular patterns*) sont les récepteurs de reconnaissance de formes (PRR, *pathogen-recognition receptor*)^[82]. Parmi ces derniers on trouve les molécules de reconnaissance de type lectine^[91].

Certains de ces PRR peuvent initier la phagocytose et constituent donc les récepteurs non-opsonines de la phagocytose. D'autres PRR, comme les TLR, peuvent se lier aux PAMPs mais n'induisent pas la phagocytose, ils vont seulement préparer (amorcer) la cellule à la phagocytose. Les particules étrangères peuvent également être détectées indirectement par des récepteurs à caractère opsonine. Les récepteurs pour l'anticorps IgG et le complément sont les opsonines les plus connues^[82].

1.3.4.3. Activation du processus d'internalisation

Lorsque la particule est reconnue par les récepteurs phagocytaires, diverses voies de signalisation sont activées pour déclencher la phagocytose. La réorganisation du cytosquelette d'actine et les modifications de la membrane cellulaire ont lieu, ce qui entraîne un enfoncement de la zone de la membrane en contact avec la particule, appelé la coupe phagocytaire. Ensuite, des protubérances membranaires, appelées pseudopodes sont formées autour de la particule^[82].

1.3.4.4. Formation du phagosome

Les pseudopodes entourent la particule jusqu'à ce que la membrane la recouvre complètement et fusionnent au niveau distal, pour former une vésicule à l'intérieur de la cellule. Cette nouvelle vésicule contenant la particule ingérée est dite phagosome^[82].

1.3.4.5. Maturation du phagosome

Une fois internalisé, le nouveau phagosome transforme sa composition membranaire et son contenu, pour devenir une nouvelle vésicule, le phagolysosome, qui peut dégrader la particule ingérée. Cette transformation est connue sous le nom de maturation du phagosome, et consiste en des interactions successives de fusion et de fission entre le nouveau phagosome et les endosomes précoces, les endosomes tardifs et enfin les lysosomes^[82].

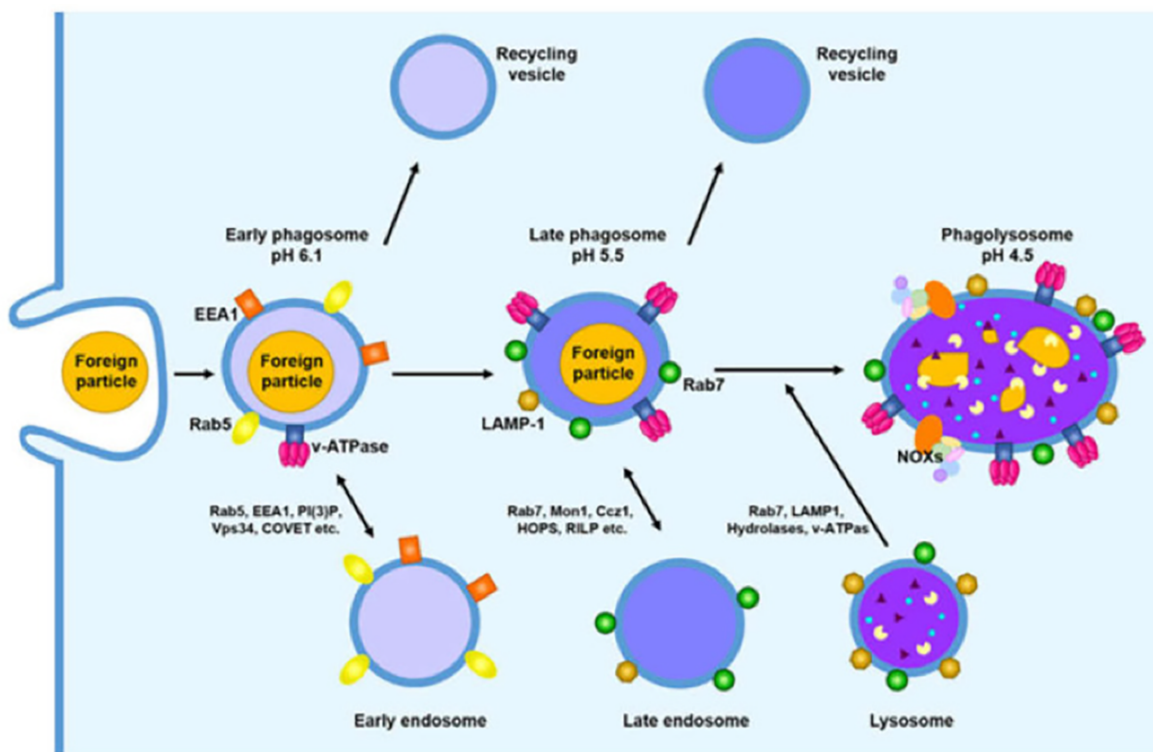


Figure 1.9. Maturation du phagosome. Après l'internalisation des particules étrangères, le phagosome nouvellement formé acquiert les protéines nécessaires à sa maturation via une série de fusions et de fissions avec les organelles endocytiques (endosome précoce, endosome tardif, lysosome et vésicules de recyclage), ensuite le phagosome tardif fusionne avec le lysosome pour l'élimination des particules étrangères, en utilisant diverses enzymes hydrolytiques, des peptides antimicrobiens et des ERO (Uribe-Querol et Rosales, 2017).

1.3.4.6. Destruction des microorganismes (*bacterial killing*)

L'intérieur du phagolysosome est un environnement inhospitalier pour la plupart des microorganismes. Cet environnement au pH acide, doté d'enzymes et de peptides et concentré en ERO ainsi qu'en ERN, réunit les conditions nécessaires afin de détruire les différents composants de la cellule microbienne^[91].

Le pH acide perturbe le métabolisme habituel de nombreuses bactéries et les empêche d'utiliser les nutriments essentiels. De plus, il est nécessaire à l'activation des enzymes hydrolytiques, qui vont dégrader le microorganisme ingéré^[94].

Les diverses formes des ERO et des ERN sont des agents antimicrobiens qui résultent de l'activation de la NADPH oxydase (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)^[95]. La NADPH oxydase est un complexe enzymatique constituée d'un composant lié à la membrane et de quatre composants stockés dans des granules cytosoliques. Lors de l'activation des monocytes, les protéines cytosoliques se déplacent vers le composant membranaire et un système fonctionnel de transfert d'électrons se forme, entraînant la production de O₂. L'O₂ est ensuite rapidement transformé en d'autres ERO, dont le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le radical hydroxyle (OH) et l'acide hypochloreux (HClO). Ces ERO peuvent endommager les protéines, les lipides et l'ADN des microorganismes dans le phagosome. La production des ERO et des ERN est un processus crucial pour la clairance des pathogènes, et est connu sous le nom de combustion respiratoire ou burst respiratoire ou encore burst oxydatif (*respiratory burst*)^[96,97].

Les enzymes et les peptides comme la lactoferrine sont également délivrés dans le phagosome pour limiter la croissance microbienne^[91].

1.3.4.7. Expulsion de la particule ingérée

Les produits issus de la dégradation ou peptides sont digérés intégralement ou peuvent être chargés sur les molécules du CMH-II. Dans cette deuxième configuration, le peptide chargé est présenté aux lymphocytes T afin de déclencher la réponse immunitaire spécifique^[60].

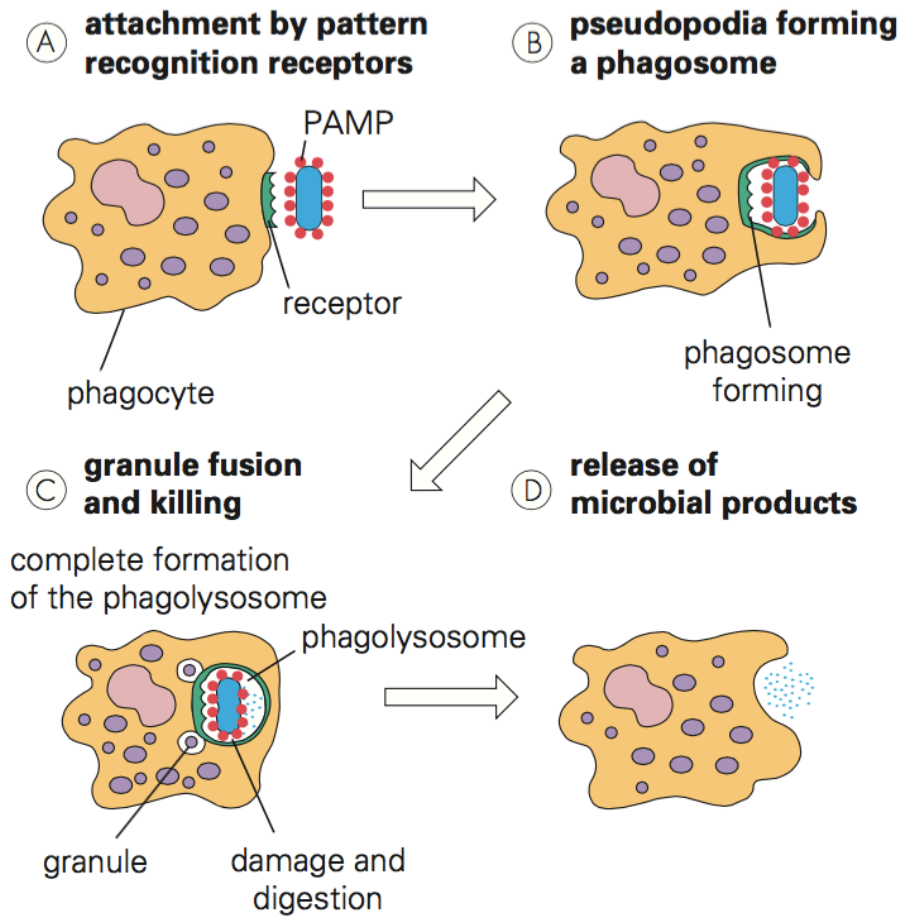


Figure 1.10. Mécanisme de la phagocytose d'une bactérie. (A) Les phagocytes adhèrent aux bactéries par l'intermédiaire de leurs récepteurs de surface cellulaire, qui reconnaissent les PAMPs tels que le lipopolysaccharide. (B) Une fois la membrane activée, la bactérie se retrouve dans un phagosome entouré par les pseudopodes. (C) À l'intérieur de la cellule, les différentes vésicules fusionnent avec le phagosome pour former un phagolysosome. (D) La bactérie est éliminée par une série de mécanismes de dégradation microbicide, et les produits bactériens sont alors libérés. (R. Goering, H. Dockrell, M. Zuckerman, P. Chiodini, *Mims' Medical Microbiology and Immunology*, 6th Edition, 2019, p 69).

1.3.5. Conséquences de la phagocytose

Bien que les réponses inflammatoires aiguës soient protectrices pour l'hôte et généralement autolimitées, la résolution défectueuse ou retardée d'une inflammation aiguë, conduisant à une inflammation chronique ^[98], peut entraîner des lésions tissulaires supplémentaires caractéristiques de certaines maladies comme les maladies auto-immunes ^[99] et les cancers ^[100]. Ainsi, la plupart des stratégies immunothérapeutiques actuelles reposent sur l'immunomodulation et le renversement de la réponse inflammatoire chronique. Pour notre part, nous nous sommes intéressés à évaluer l'effet de l'ASX, en tant qu'immunomodulateur, sur le monocyte chez les enfants présentant une maladie carieuse.

1.4. Astaxanthine

1.4.1. Définition

L'ASX est un pigment naturel de couleur rouge-orangé, appartenant à la famille des xanthophylles. Il s'agit d'un dérivé oxygéné des caroténoïdes, découvert en 1938 et utilisé initialement comme pigment en aquaculture pour sa bonne coloration ^[101].

L'ASX a suscité un vif intérêt en médecine grâce à ses différents effets thérapeutiques prouvés dans de nombreuses maladies. Les effets bénéfiques de cette molécule sont associés à son activité immunomodulatrice, anti-inflammatoire et antioxydante ^[102-104].

1.4.2. Sources

L'ASX peut être produite de deux manières différentes : par extraction biologique à partir d'une source naturelle ou par synthèse chimique ^[103].

Elle est présente naturellement dans certains organismes comme : les microalgues (*Haematococcus pluvialis*, *Chlorella zofingiensis*, *Neochloris wimmeri*), les bactéries (*Agrohacterium aurantiacum*, *Brevundimonas scallop*, *Paracoccus carotinifaciens*) et certaines levures comme *Xanthophyllomyces dendrorhous* ^[105]. Elle est aussi présente dans les crevettes, crabes, saumons, écrevisses, homards et certains champignons ^[102].

1.4.3. Structure chimique

L'ASX présente la formule chimique suivante $C_{40}H_{56}O_4$ avec une masse moléculaire de 596,84 g/mol. La structure chimique de cette xanthophylle est composée de deux extrémités cycliques de type β -ionone, reliées par une chaîne polyène. Chaque cycle présente un groupe hydroxyle (-OH) et un groupe carbonyle (C=O) ^[106].

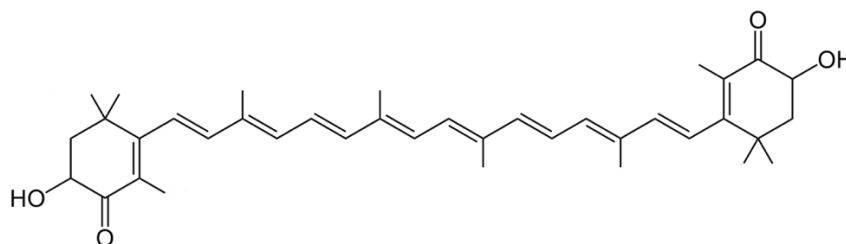


Figure 1.11. Structure chimique de l'ASX (Ambati et coll., 2014).

1.4.4. Mode d'action

1.4.4.1. Effet antioxydant

Le stress oxydatif est initié par la production de radicaux libres et d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Il résulte d'un déséquilibre entre l'activité cellulaire pro et antioxydante en faveur des radicaux libres. L'excès d'agent oxydant peut réagir avec des protéines, des lipides et des acides nucléiques par une série de réactions entraînant des dommages structurels et fonctionnels^[107].

L'ASX est un puissant antioxydant qui piège efficacement les radicaux libres, neutralise l'oxygène singulet, renforce les activités antioxydantes et par conséquent réduit le stress oxydatif^[108].

Les données de différentes études ont démontré qu'il existe une corrélation entre l'effet antioxydant de l'ASX et la dose utilisée dans le traitement de certaines pathologies^[109,110].

Commentaire : La libération d'ERO et d'ERN par les phagocytes professionnels est un mécanisme essentiel de défense visant à éliminer les agents pathogènes. Par conséquent, cette réaction bénéfique ne doit pas être annulée par des niveaux élevés d'antioxydants.

1.4.4.2. Effet anti-inflammatoire

L'inflammation est un mécanisme de défense vital de l'organisme, provoquée par un agent pathogène ou par une rupture de l'homéostasie d'origine endogène. Son but est d'offrir des conditions favorables à l'élimination de l'infection et/ou d'initier le processus de réparation des tissus lésés. Cependant, une inflammation persistante est un facteur important dans le développement de plusieurs maladies chroniques telles que l'athérosclérose, les maladies neurodégénératives, le diabète, le rhumatisme articulaire, ainsi que d'autres pathologies^[111].

L'ASX est capable de réguler la réponse immunitaire et de réduire l'inflammation secondaire à une maladie sous-jacente à travers une série de mécanismes anti-inflammatoires (Figure 1.12).

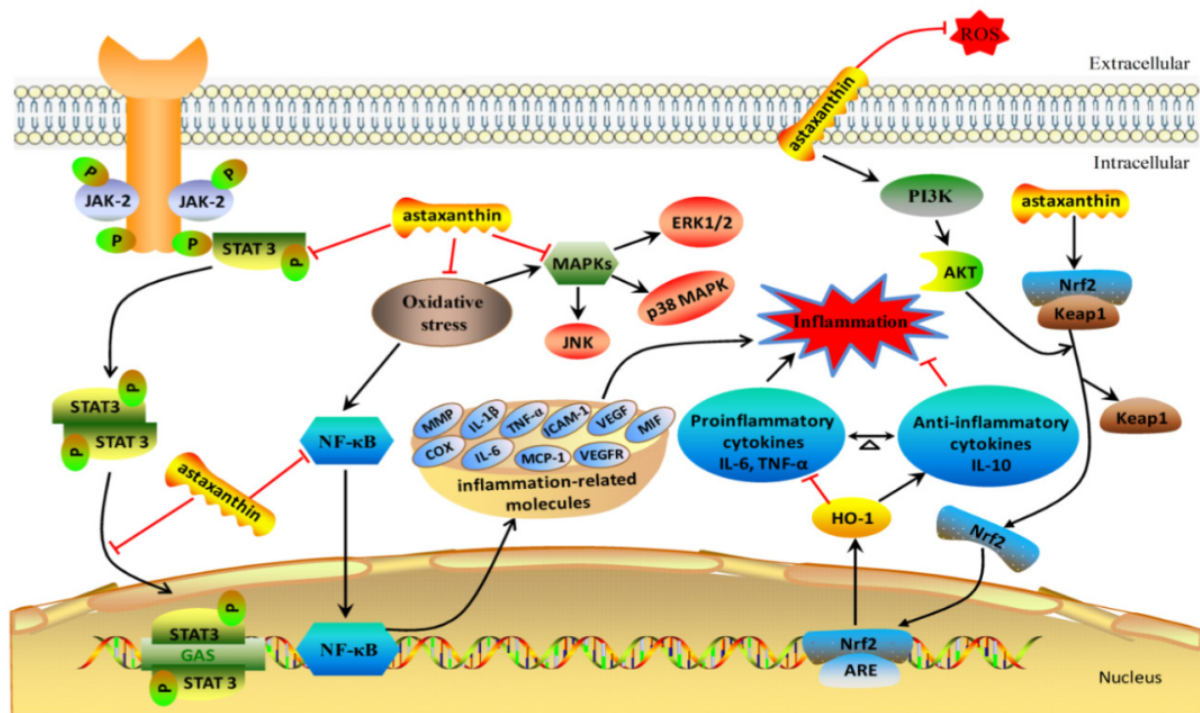


Figure 1.12. Les mécanismes anti-inflammatoires de l'ASX. L'ASX peut cibler et réguler les biomarqueurs de l'inflammation (PPA, cytokines, chimiokines, etc.), tout en favorisant certaines voies de signalisations (PI3K/AKT, Nrf2), mais aussi bloquer d'autres voies (NF-κB, c-Jun N-terminal kinases (JNK), JAK-2/STAT-3) dans le but d'atténuer l'inflammation. Les flèches rouges indiquent une action inhibitrice, et les flèches noires une action favorisante (Chang et Xiong, 2020).

Le traitement à l'ASX présente des actions anti-inflammatoires en supprimant l'activité des médiateurs inflammatoires, tels que l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS, *inducible nitric oxide synthase*), la cyclooxygénase 2 (COX-2) et l'expression des MMP, inhibant de ce fait la production de la prostaglandine E2 (PGE2). L'ASX exerce également ses actions anti-inflammatoires en inhibant l'expression de cytokines proinflammatoires, dont le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6^[112].

Une étude a aussi montré que l'administration d'ASX inhibe de manière significative la voie de signalisation MAPK/NF- κ B (mitogen-activated protein kinases/nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) responsable de la sécrétion des cytokines proinflammatoires IL-6 et TNF- α dans les macrophages primaires de souris stimulés par le LPS^[113].

Plusieurs études ont aussi prouvé l'existence d'une relation entre l'effet anti-inflammatoire de l'ASX et la dose utilisée^[109,114].

1.4.4.3. Effet immunomodulateur

L'ASX est capable de réguler la réponse immunitaire et ses différentes actions immunomodulatrices ont été bien documentées. Plusieurs études ont mis en évidence la capacité de l'ASX à moduler le gène FOXO3 (Forkhead box O3) connu pour favoriser l'apoptose des cellules T et limiter l'expansion clonale des cellules T CD8⁺ au cours d'une infection virale aiguë^[115].

D'autres études ont montré que le traitement à l'ASX améliore l'activité immunomodulatrice de l'organisme en augmentant la production d'IFN- γ et d'IL-2^[116-118].

Il a aussi été montré que l'ASX pouvait augmenter le taux d'immunoglobulines IgM et IgG, et aussi le taux de production des anticorps et des lymphocytes T auxiliaires^[7,117].

Une autre étude a montré l'effet de l'ASX pendant l'infection gastrique à *Helicobacter pylori*, caractérisée par le recrutement des lymphocytes T auxiliaires (T-helper) sur le site de l'infection et des schémas distincts de production de cytokines. Les résultats de l'étude ont montré que l'ASX peut influencer le profil des cytokines en induisant des niveaux élevés d'IL-2 et un passage à une réponse Th1/Th2 équilibrée en augmentant l'IFN- γ et l'IL-10, entraînant une réponse immunitaire protectrice et non destructrice^[119].

1.4.4.4. Effet sur la phagocytose

Une étude réalisée *in vitro* a démontré que l'ASX pouvait améliorer efficacement la capacité phagocytaire des neutrophiles, réduire les effets du stress oxydatif et augmenter la concentration du calcium intracellulaire^[120]. Néanmoins, aucun travail n'a été focalisé sur le rôle de l'ASX sur la capacité phagocytaire du monocyte.

1.4.4.5. Effet anticancéreux

Les antioxydants diminuent le risque de carcinogenèse et la mutagenèse par inhibition des lésions oxydatives. L'activité des caroténoïdes contre le cancer a attiré beaucoup d'attention en

raison de la corrélation entre les faibles niveaux de ces composés dans l'organisme et la prévalence du cancer. L'ASX présente une activité préventive contre le développement des cancers plus importante et plus efficace que les autres caroténoïdes antioxydants^[101].

L'effet de l'ASX sur l'inflammation a également été étudié dans le cas du cancer. Yasui et coll. ont proposé que la suppression des cytokines proinflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-1 β , l'IL-6 et la COX-2 contribuait à l'effet anticancéreux de l'ASX^[121].

1.4.5. Astaxanthine et ses potentielles applications en médecine

1.4.5.1. Astaxanthine et maladies parodontales

Les cellules du ligament parodontal humain (hPDL, *human periodontal ligament cells*) jouent un rôle capital dans la reconstruction du tissu parodontal. En présence d'une inflammation chronique, le potentiel de différenciation et la chimiotaxie sont réduits. Les résultats d'une étude récente ont montré que l'ASX favorise la prolifération des hPDL en inhibant la sécrétion des facteurs inflammatoires, *via* le blocage de la voie de signalisation NF- κ B. Par conséquent, l'inhibition du microenvironnement inflammatoire aide à promouvoir la reconstruction du tissu parodontal^[122].

Une autre étude réalisée sur un modèle murin de parodontite a montré que l'administration de l'ASX pouvait réduire la perte osseuse alvéolaire en augmentant l'activité ostéoblastique et en diminuant l'activité ostéoclastique^[123].

1.4.5.2. Activité cardioprotectrice

Sur la base d'études précliniques et cliniques, les effets antioxydants et anti-inflammatoires de l'ASX ralentissaient la progression des maladies cardiovasculaires. En tant qu'antioxydant, l'ASX réduit le stress oxydatif, augmente l'activité des enzymes antioxydantes et maintient les propriétés rhéologiques du sang. Ses propriétés anti-inflammatoires consistent à moduler les voies de signalisation NF- κ B et MAPK, à réduire la libération de cytokines proinflammatoires et à augmenter le transport inverse du cholestérol par les lipoprotéines de haute densité (HDL, *high-density lipoprotein*), ce qui atténue l'accumulation de cholestérol dans les cellules spumeuses et donc la formation de plaques d'athéromes. Toutes ces propriétés font de l'ASX

un agent important dans la prévention et/ou le traitement adjuvant des maladies cardiovasculaires^[124].

1.4.5.3. Activité neuroprotectrice

L'inflammation, le stress oxydatif et l'apoptose sont largement impliqués dans la pathogenèse d'un grand nombre de maladies neurologiques. Des études ont montré que l'ASX peut bloquer ces trois phénomènes, et peut aussi traverser la barrière hémato-encéphalique^[101].

Une supplémentation orale en ASX chez les rats a réduit l'expression de NF- κ B et de TNF- α , ce qui a entraîné une réduction de l'œdème cérébral et du dysfonctionnement neurologique^[125].

L'ASX est considérée comme un agent pharmacologique à action multiple contre les troubles neurologiques, notamment la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, les lésions du cerveau et de la moelle épinière, la douleur neuropathique, le vieillissement, la dépression et l'autisme^[126].

1.4.5.4. Activité antidiabétique

Des études ont montré que la génération du stress oxydatif est impliquée dans le développement de diabète de type 1, en provoquant des lésions au niveau des cellules bêta pancréatiques. Aussi, le stress oxydatif augmente la résistance à l'insuline, tout en réduisant sa sécrétion, et induirait le développement du diabète de type 2^[101].

Fait intéressant, il a été rapporté que l'ASX prévient le stress oxydatif et les complications qui découlent du diabète en modulant l'activité du système immunitaire et la diminution de l'expression des cytokines et chimiokines proinflammatoires^[127].

Une étude récente a montré que l'ASX pouvait améliorer l'intolérance au glucose et le déficit en cellules bêta, diminuant ainsi les symptômes du diabète gestationnel sur un modèle de souris^[128].

1.4.5.5. Astaxanthine et affections ostéo-articulaires

L'ASX peut être utilisée dans le traitement de l'arthrose, mais également de la polyarthrite rhumatoïde et l'ostéoporose. En effet, elle diminue l'expression des MMP-1, MMP-3 et MMP-13 présents dans ces conditions pathologiques. L'ASX atténue aussi les biomarqueurs d'inflammation caractéristiques de l'arthrite dans les cellules de chondrosarcomes humains induits par l'IL-1 β . Elle améliore aussi la prolifération et la capacité de différenciation des cellules ostéogéniques dans les cellules souches neurales^[101].

1.5. Problématique

La maladie carieuse peut se définir comme un processus pathologique localisé, d'étiologie multifactorielle, pouvant affecter toute personne indépendamment de son âge. C'est une maladie infectieuse qui provoque la destruction irréversible de l'émail dentaire, suivi d'un ramollissement de la dentine.

Cependant, lors d'une infection carieuse, les bactéries cariogènes déclenchent une réponse immunitaire innée dans le tissu conjonctif pulpaire par la diffusion de toxines bactériennes dans les tubuli dentinaires^[129]. L'immunité innée permet de protéger le complexe pulpo-dentinaire, d'une part, grâce aux barrières de défense, telles la surface de l'émail, de la dentine, du ciment et certaines molécules antimicrobiennes contenues dans la salive^[130], et, d'autre part, par l'activation des cellules de l'immunité innée dont les monocytes^[56].

Dans ce sens, et dans l'intérêt de mettre en évidence la possibilité thérapeutique qu'exercerait l'ASX *via* la modulation de la réponse immunitaire innée, médiée par les monocytes, nous avons essayé d'étudier dans ce travail de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Docteur en Médecine Dentaire, si l'ASX stimule les monocytes humains à initier l'une de ses activités fonctionnelles qu'est « la phagocytose », lors d'une infection dentaire carieuse.

Chapitre 2

Matériel et méthodes

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

2.1. Aspect éthique

En plus du consentement éclairé signé par tous les parents des enfants participants (Annexe A), cette étude a été approuvée par le conseil scientifique du département de médecine dentaire de la faculté de médecine de l'université de Tlemcen.

2.2. Type de l'étude

Il s'agit d'un essai thérapeutique *ex vivo* de l'ASX sur l'activité phagocytaire des monocytes humains issus de patients atteints de maladies carieuses comparés aux témoins (Essai clinique phase II).

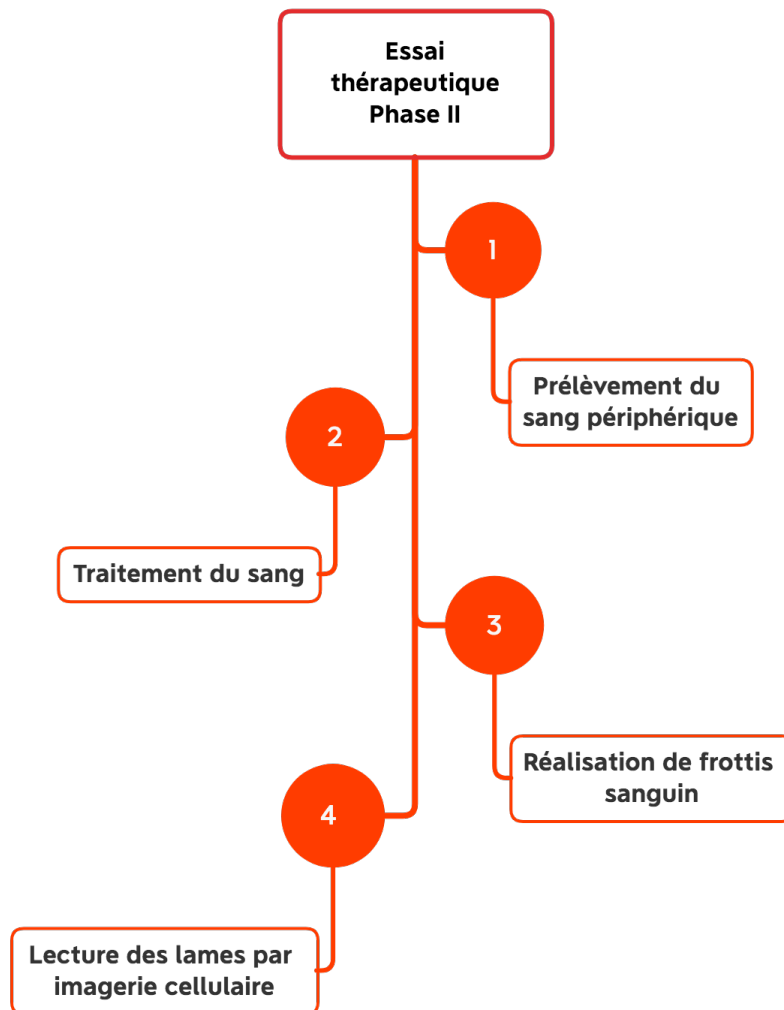
2.3. Objectif de l'étude

Nous avons évalué l'effet de l'ASX sur l'activité phagocytaire du monocyte durant la maladie carieuse.

2.4. But de l'étude

Nous avons essayé de montrer que l'ASX aurait un effet immunomodulateur sur l'activité phagocytaire du monocyte chez des enfants atteints de la maladie carieuse.

2.5. Conception de l'étude



2.6. Définition de la maladie carieuse

La maladie carieuse se définit cliniquement par une cavitation visible à l'œil nu intéressant les structures amélo dentinaires. Elle peut être diagnostiquée au moyen d'un miroir et une sonde sous un éclairage suffisant.

2.7. Population de l'étude

2.7.1. Recrutement des malades

Cette étude a été menée au Service d'Odontologie conservatrice et d'endodontie de la Clinique Dentaire du Centre Hospitalier et Universitaire de Tlemcen. Le recrutement des patients et sujets a été effectué sur la base d'un examen clinique (Figure 2.1), associé à un questionnaire (Annexe B) et des critères d'éligibilité (cf. ci-dessous).

L'étude immunologique a été réalisée au sein du Laboratoire W0414100 (Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie).



Figure 2.1. Réalisation d'un examen clinique sur un enfant (Iconographie personnelle, service d'OCE, Tlemcen, février 2021)

2.7.2. Critères d'inclusion

- Enfants âgés de 12 ans à 15 ans (denture permanente).
- Absence d'antécédents personnels médicaux.
- Présence d'une lésion carieuse ou plus.
- Consentement éclairé des parents.

2.7.3. Critères d'exclusion

- Enfants âgés de moins de 12 ans et de plus de 15 ans.
- Présence de troubles de métabolismes et de désordres physiologiques (diabète, cancer, cardiopathies, insuffisance rénale, rhumatisme articulaire aigu, syndrome sec, épilepsie).

- Présence de maladies parodontales.
- Prise de traitement anti-inflammatoire et/ou antihistaminique durant les trois derniers mois.
- Enfants irradiés et/ou sous chimiothérapie.

2.8. Modalités de l'étude

2.8.1. Étude clinique

2.8.1.1. Aspect clinique

2.8.1.1.1. Patients

Nous avons sélectionné les patients venant au service d'Odontologie conservatrice et d'endodontie, après un examen clinique minutieux. Les patients présentaient une ou deux lésions carieuses siégeant au niveau des molaires permanentes sur la face occlusale (classe I de Black). Les lésions carieuses ont été diagnostiquées par un sondage avec la sonde numéro 11 sous un éclairage suffisant. Le degré d'atteinte de la lésion a été confirmé avec une prise de radiographie rétro-alvéolaire. Il s'agissait de cavités profondes, présentant une dentine ramollie abondante, siégeant majoritairement au niveau du tiers moyen et interne de la dentine.

2.8.1.1.2. Témoins

Concernant les témoins, nous avons recruté des témoins matchés, qui s'étaient présentés pour un motif esthétique au niveau du service d'Orthopédie dento-faciale, et ne présentaient aucune lésion carieuse.

2.8.2. Étude immunologique

2.8.2.1. Prélèvements

Les prélèvements du sang ont été effectués à jeun, à 8h du matin, sur tubes *Vacutainers* citratés, par la veine cubitale médiane. Les tubes ont été acheminés dans les 20 minutes, dans une glacière (Figure 2.2), vers le Laboratoire W0414100.



Figure 2.2. Acheminement des prélèvements sanguins dans une glacière (Iconographie personnelle, Laboratoire W0414100, Tlemcen, septembre 2021)

2.8.2.2. Mesure de l'activité phagocytaire du monocyte

La mesure de l'activité phagocytaire du monocyte a été réalisée à l'aide de la méthode au NBT (nitrobleu tetrazolium, Sigma-Aldrich, Allemagne). Cette méthode consiste en la préparation de deux tubes Eppendorf contenant chacun 100 μL de NBT (Figure 2.3) et 0,5 mL de sang, additionné ou non d'une dose de 10 μM d'ASX (Figure 2.4) dans le volume final. Dans le premier tube, on a ajouté 100 μL de particules de latex (Figure 2.5) ; dans le second, 100 μL d'eau physiologique. Ensuite, les deux tubes ont été vortexés à 20 révolutions par minute (Figure 2.6), puis incubés à 37 °C pendant 20 minutes, suivies d'une incubation pendant 15 minutes à température ambiante (Figure 2.7). Le nombre de monocytes a été calculé sur frottis (Figure 2.8) (Figure 2.9) après une double coloration de May-Grünwald Giemsa (Figure 2.10).

La mise en évidence de la phagocytose a été basée sur la mesure du niveau de réduction de NBT en formazan en couleur noire-bleue dans chaque cellule leucocytaire (Figure 2.11), en présence ou en l'absence des particules de latex internalisées (Figure 2.12), à l'aide des Technologies ImageJ (NIH, USA)^[131] et *Single Cell Analysis*.



Figure 2.3. Tube contenant le NBT (Iconographie personnelle, Laboratoire W0414100, Tlemcen, septembre 2021)



Figure 2.4. Flacon d'ASX (Iconographie personnelle, Laboratoire W0414100, Tlemcen, septembre 2021)



Figure 2.5. Tube Eppendorf™ contenant du latex (Iconographie personnelle, Laboratoire W0414100, Tlemcen, septembre 2021)



Figure 2.6. Agitateur de laboratoire vortex (Iconographie personnelle, Laboratoire W0414100, Tlemcen, septembre 2021)

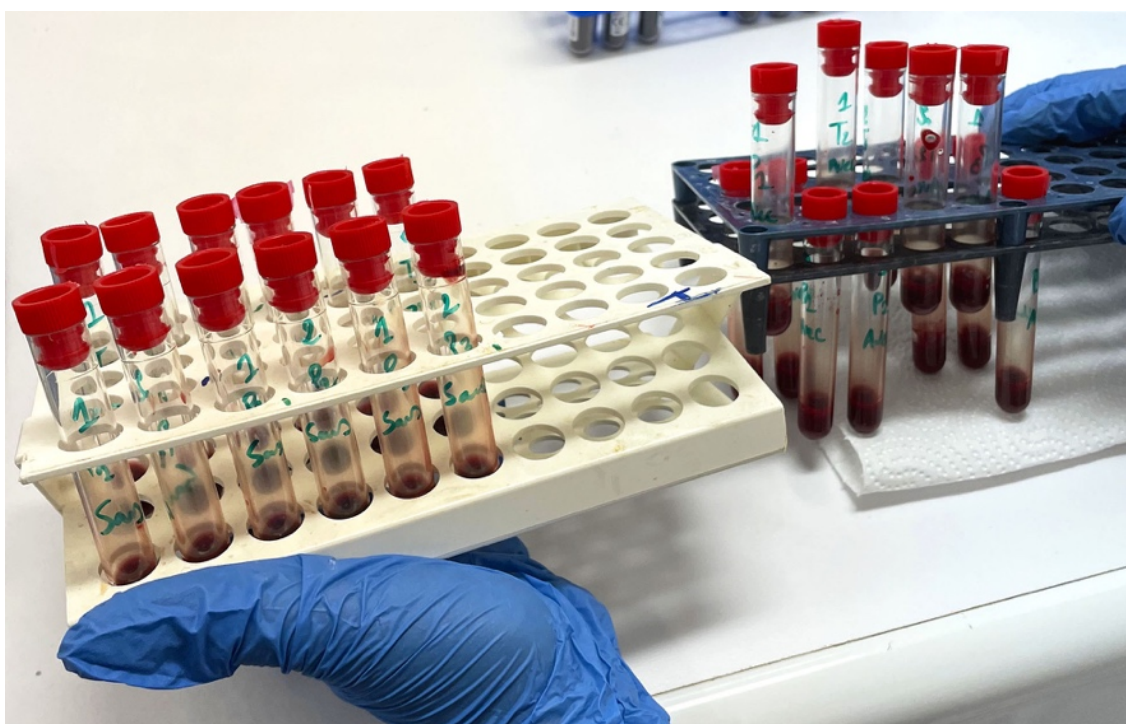


Figure 2.7. Tubes à essais contenant du sang et du NBT traités ou non avec ASX/latex (Iconographie personnelle, Laboratoire W0414100, Tlemcen, septembre 2021)

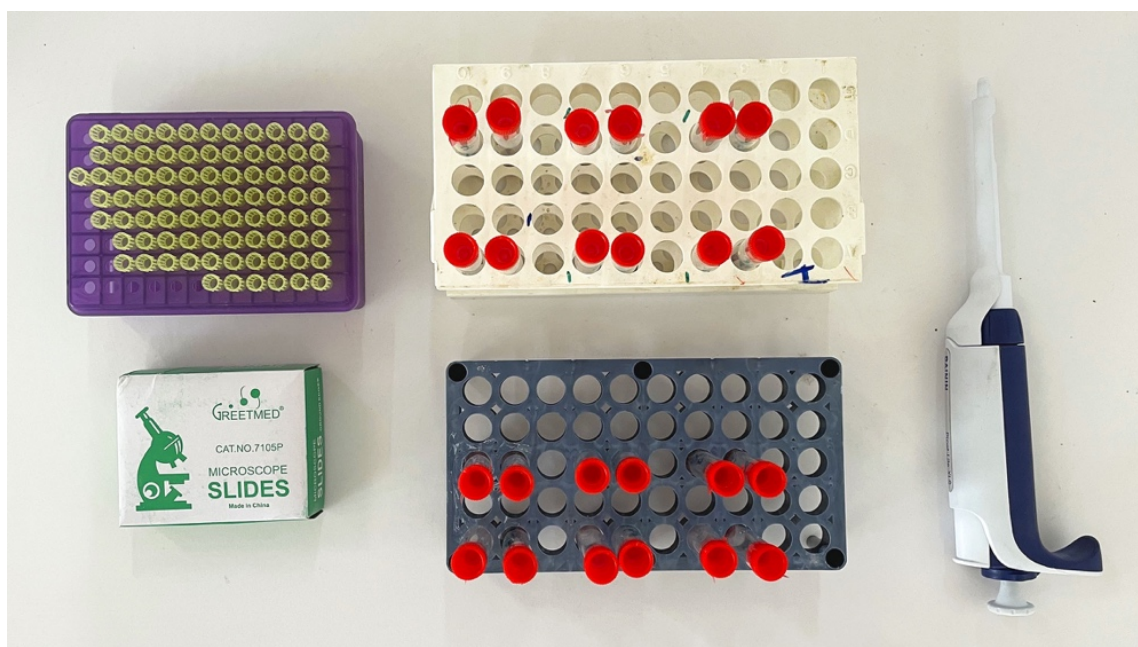


Figure 2.8. Matériel nécessaire à la réalisation de frottis sanguins (Iconographie personnelle, Laboratoire W0414100, Tlemcen, septembre 2021)

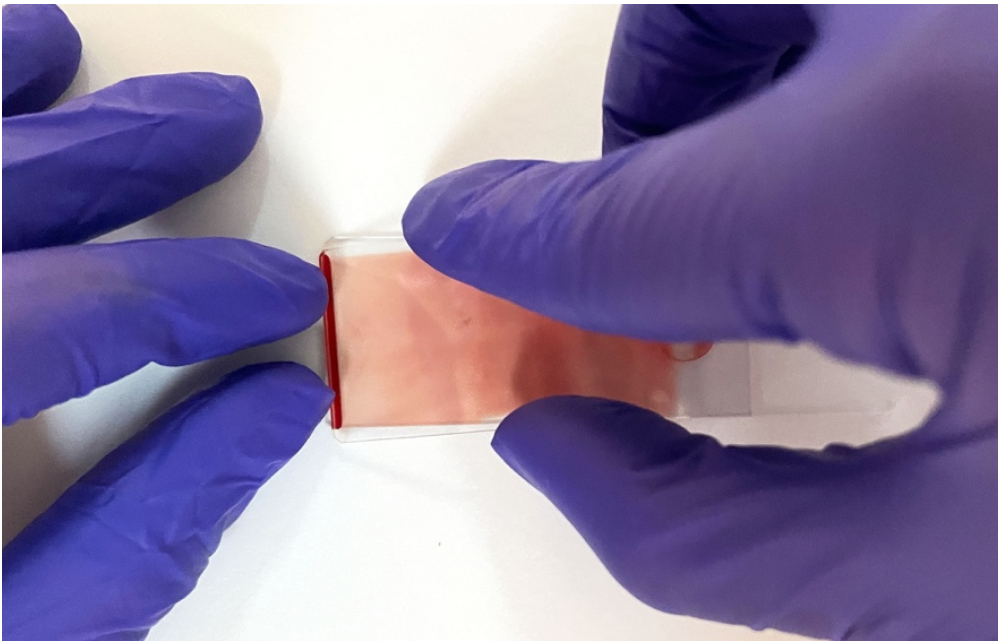


Figure 2.9. Réalisation d'un frottis sanguin (Iconographie personnelle, Laboratoire W0414100, Tlemcen, septembre 2021)

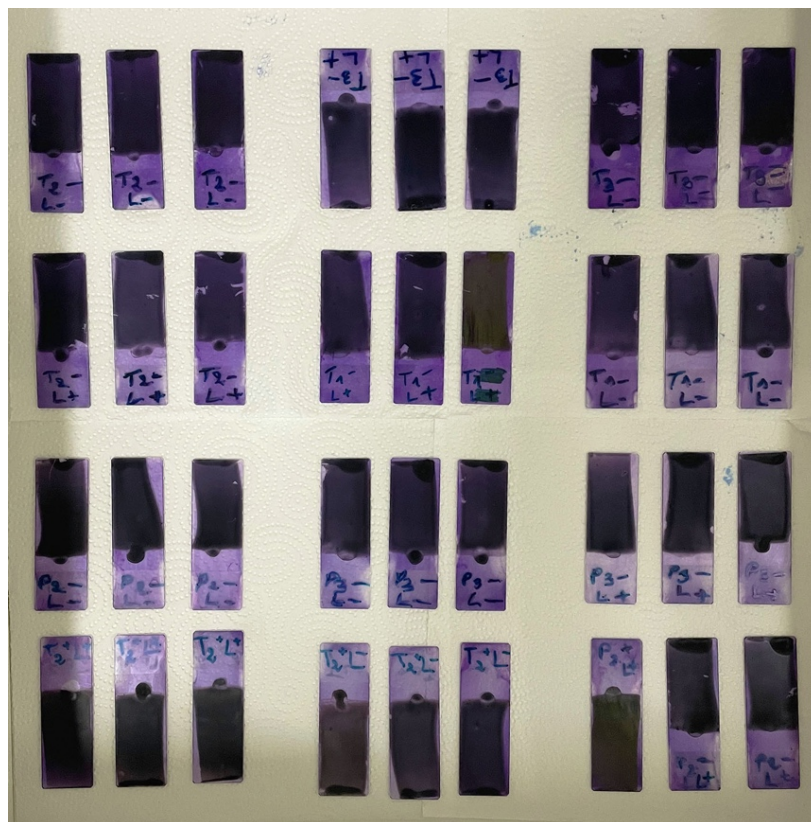


Figure 2.10. Frottis sanguins après une double coloration de May-Grünwald Giemsa (Iconographie personnelle, Laboratoire W0414100, Tlemcen, septembre 2021)

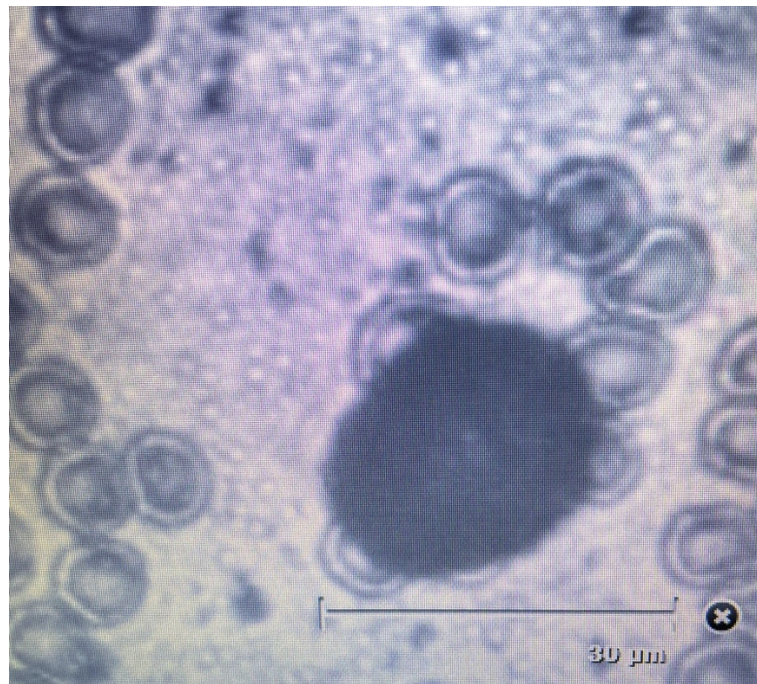


Figure 2.11. Image montrant un formazan prise à l'aide de la Technologie ImageJ (Iconographie personnelle, Laboratoire W0414100, Tlemcen, septembre 2021)

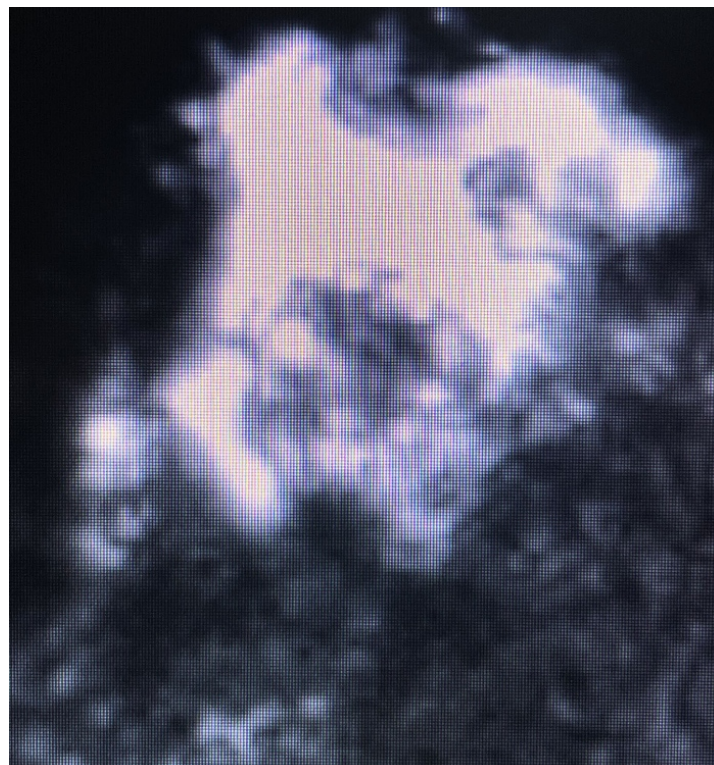


Figure 2.12. Phagocytose des particules de latex par un monocyte prise à l'aide de la Technologie ImageJ (Iconographie personnelle, Laboratoire W0414100, Tlemcen, septembre 2021)

2.9. Analyses statistiques

La comparaison des niveaux de phagocytose et du burst respiratoire entre deux groupes a été effectuée à l'aide du test t de Student, après avoir évalué la normalité par le test de Kolmogorov-Smirnov. La comparaison entre plusieurs groupes a été effectuée par le test d'ANOVA (analysis of variance). Les analyses statistiques et la conception des figures ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism 8.01 (USA) après avoir supprimé les points aberrants. La valeur de p inférieure à 0,05 a été considérée statistiquement significative.

Chapitre 3

Résultats et Analyses

Chapitre 3 : Résultats et Analyses

D'après les résultats de la figure 3.1, nous observons que l'ASX a induit une augmentation très significative du niveau du burst respiratoire, aussi bien chez les patients que chez les contrôles (respectivement $p < 0,01$ et $p < 0,05$).

La comparaison des moyennes entre tous les groupes en utilisant le test d'ANOVA, a montré une différence significative inférieure à 0,05.

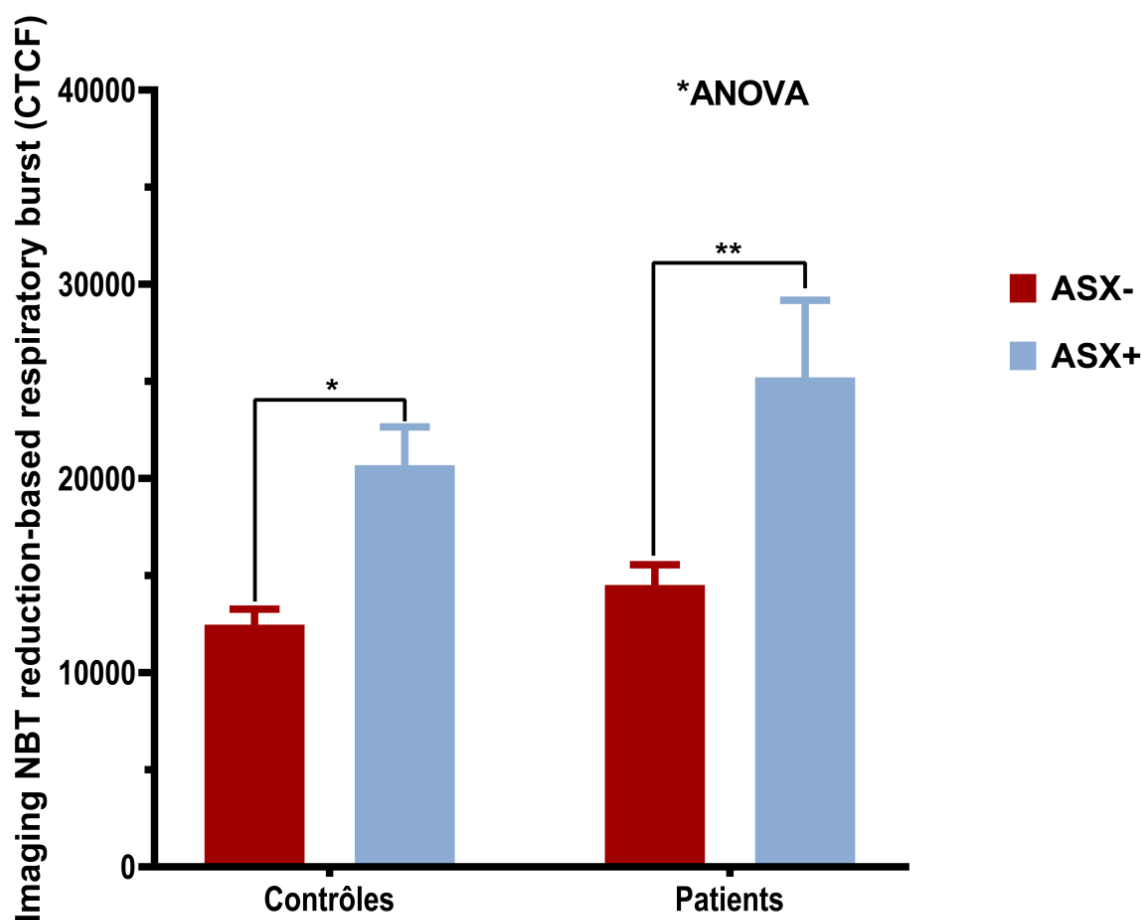


Figure 3.1. Niveau du burst respiratoire monocyttaire chez les patients et contrôles après traitement à l'ASX. Les expériences ont été réalisées indépendamment sur un échantillon de 9 dans chaque groupe. ANOVA : analysis of variance, ASX : astaxanthine, CTCF : corrected total cell fluorescence, NBT : nitrobleu de tétrazolium. * $p < 0,05$. ** $p < 0,01$.

De même, l'ASX a induit une augmentation significative de la capacité phagocytaire chez les patients et chez les contrôles (pour les deux comparaisons, $p < 0,05$). La valeur de p concernant la comparaison de tous les groupes est inférieure à 0,001.

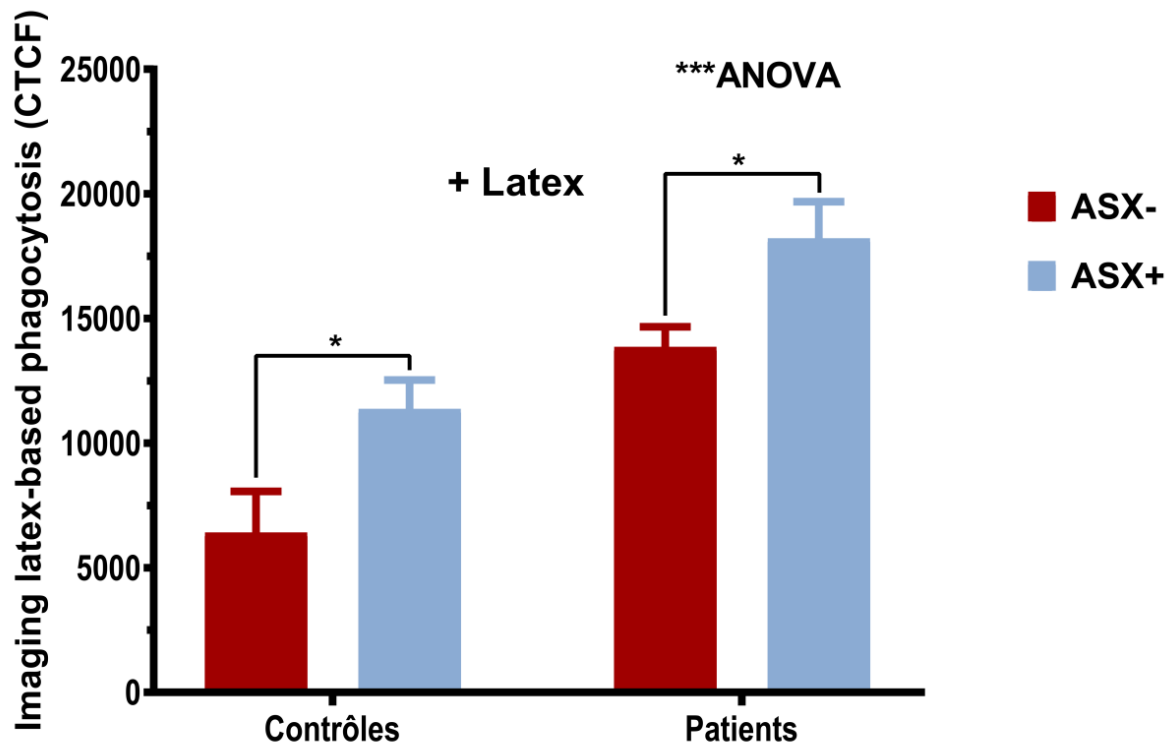


Figure 3.2. Niveau de la capacité phagocytaire du monocyte chez les patients et contrôles après traitement à l'ASX. Les expériences ont été réalisées indépendamment sur un échantillon de 9 dans chaque groupe. ANOVA : analysis of variance, ASX : astaxanthine, CTCF : corrected total cell fluorescence. $*p < 0,05$. $***p < 0,001$.

Chapitre 4

Discussion

Chapitre 4 : Discussion

La maladie carieuse est un problème de santé publique majeure, classée comme étant le troisième fléau mondial après les maladies cardiovasculaires et les cancers ^[132]. Elle est répandue dans la région de Tlemcen avec une prévalence de 73,9 % chez les enfants âgés entre 12 ans et 15 ans ^[16]. La prévalence mondiale de la maladie carieuse varie entre 49 % et 83 %, et les sujets âgés de 12 ans à 19 ans représentent la population la plus touchée. C'est une maladie infectieuse et chronique, qui entraîne une perte minérale des tissus dentaires durs ; son étiologie dépend de divers facteurs, principalement de la présence de sucres fermentescibles, de facteurs liés à l'hôte, de la présence d'espèces bactériennes cariogènes et de certains facteurs environnementaux ^[52,133].

L'approche classique du traitement de la lésion carieuse n'a pas toujours donné les résultats escomptés ; de nouvelles lésions et des récives carieuses apparaissent souvent. Ceci est en grande partie liée à la négligence des bactéries cariogènes en tant que facteur étiologique majeur. À cet effet, nous avons suggéré l'ASX, une xanthophylle dérivée des caroténoïdes ^[101], comme l'une des principales molécules contribuant à l'éradication de telles bactéries de par ses propriétés immunomodulatrices en utilisant des techniques de biologie moléculaire au niveau du Laboratoire W0414100.

Par ailleurs, en réponse à l'invasion des bactéries cariogènes, les monocytes jouent un rôle crucial de défenses immunes antibactériennes grâce à la phagocytose et au burst oxydatif ; ce processus est le résultat de l'activation de la NADPH oxydase sous l'effet de la phagocytose ou de l'interaction entre différents stimuli et la surface membranaire du monocyte. Il se traduit par une augmentation de la consommation de l'oxygène et la formation d'ERO telles que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), les radicaux hydroxyles (OH) et l'acide hypochloreux (HClO). En effet, tout comme l'oxyde nitrique (NO), produit sous l'action enzymatique de la NO synthase inductible (iNOS ou NOS de type II), sous l'influence de cytokines proinflammatoires, les ERO sont des médiateurs essentiels de l'activité bactéricide des monocytes ^[95].

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité phagocytaire et le burst oxydatif du monocyte, telles que le test de réduction du NBT par les ERO et la capacité d'ingestion de

particules/billes de latex ou de dextran. Le NBT est un colorant de couleur jaune qui, une fois réduit, forme un composé bleu-noir, le formazan ^[134].

À notre connaissance, cette étude est une première, ce qui rendrait difficile la comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature, nous avons tout de même trouvé des études abordant la capacité phagocytaire de phagocytes autres que le monocyte, traités avec l'ASX.

Nos résultats sont en accordance avec ceux de plusieurs études. Macedo et coll. (2010) ont rapporté que l'ASX possédait un effet remarquablement important sur la fonction des neutrophiles humains, où l'on a constaté qu'il pourrait augmenter considérablement les capacités phagocytaires et bactéricides, lors de l'infection à *Candida albicans* ^[120]. L'expérience réalisée par Guerra et Otton, en 2011, a également montré que le traitement par l'ASX favorise la phagocytose des neutrophiles en évaluant la capacité phagocytaire avec des particules de zymosan ^[135]. Amar et coll. (2001) ont constaté que l'ASX induisait une amélioration de l'activité phagocytaire des leucocytes des reins de la truite arc-en-ciel, en utilisant le test de réduction du NBT et la capacité d'ingestion des billes de latex ^[136].

A contrario, les résultats concernant le burst respiratoire ne concordent pas avec ceux de Amar et coll. (2001), Macedo et coll. (2010) et Guerra et Otton (2011) ^[120,135,136]. Ceci expliquerait l'effet bactéricide supposé. La différence entre les résultats résiderait notamment dans la différence de la dose du traitement, son principe actif et sa nature, le type et la source cellulaires, ainsi que la méthode d'évaluation du burst oxydatif.

Chapitre 5

Conclusions

Chapitre 5 : Conclusions

La maladie carieuse est le résultat d'un processus infectieux chronique, et demeure jusqu'à présent un problème de santé bucco-dentaire majeur chez l'enfant, étant donné les complications qui peuvent en résulter.

Il est bien connu que l'altération des fonctions des cellules immunitaires innées circulantes, en particulier les monocytes, a été grandement impliquée dans l'étiopathogénie de la maladie carieuse. C'est ainsi que nous avons essayé d'évaluer les effets éventuels de l'ASX sur l'immunomodulation des fonctions primaires du monocyte, en l'occurrence la phagocytose et le burst respiratoire, au cours de cette maladie. Il est concevable que l'ASX pourrait être utilisée à des fins thérapeutiques et/ou préventives.

En termes de perspectives, cette première étude mérite d'être étendue vu les effets importants de l'ASX en ce qui concerne l'amélioration de la phagocytose et du burst respiratoire qui sont tous deux nécessaires à l'activité bactéricide chez l'enfant atteint de maladie carieuse. Dans ce contexte, il serait judicieux de poursuivre cette étude en abordant, entre autres : (i) effet dose, (ii) effet âge, (iii) effet génétique et terrain familial, et (iv) sources et types cellulaires.

Bibliographie

Références bibliographiques

1. Lasfargues J-J, Colon P, Vanherle G, Lambrechts P. Odontologie conservatrice et restauratrice. Tome 1, Tome 1,. Paris: Éditions CdP; 2009.
2. Rathee M, Sapra A. Dental Caries. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cité 12 mars 2021]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551699/>
3. Velo MMAC, Scotti CK, da Silveira ITT, Mondelli RFL, Atta MT, Bombonatti JF. Management of dental caries guided by the ICDAS-LAA: a 28-month follow-up. *Gen Dent.* oct 2019;67(5):24-8.
4. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet.* 6 janv 2007;369(9555):51-9.
5. Qiu W, Zhou Y, Li Z, Huang T, Xiao Y, Cheng L, et al. Application of Antibiotics/Antimicrobial Agents on Dental Caries. *Biomed Res Int.* 2020;2020:5658212.
6. Farruggia C, Kim M-B, Bae M, Lee Y, Pham TX, Yang Y, et al. Astaxanthin exerts anti-inflammatory and antioxidant effects in macrophages in NRF2-dependent and independent manners. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* déc 2018;62:202-9.
7. Diao W, Chen W, Cao W, Yuan H, Ji H, Wang T, et al. Astaxanthin protects against renal fibrosis through inhibiting myofibroblast activation and promoting CD8+ T cell recruitment. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects.* sept 2019;1863(9):1360-70.
8. Cormican S, Griffin MD. Human Monocyte Subset Distinctions and Function: Insights From Gene Expression Analysis. *Front Immunol.* 2020;11:1070.
9. Chiu S, Bharat A. Role of monocytes and macrophages in regulating immune response following lung transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* juin 2016;21(3):239-45.
10. Machiulskiene V, Campus G, Carvalho JC, Dige I, Ekstrand KR, Jablonski-Momeni A, et al. Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res.* 2020;54(1):7-14.
11. Mathur VP, Dhillon JK. Dental Caries: A Disease Which Needs Attention. *Indian J Pediatr.* mars 2018;85(3):202-6.
12. WHO Scientific Group on the Etiology and Prevention of Dental Caries, World Health Organization. Etiologie et prévention de la carie dentaire : rapport d' un groupe scientifique de l' OMS [réuni à Genève du 30 novembre au 6 décembre 1971]. 1972; Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/38778>
13. Ferreira-Nóbilo N de P, Sousa M da LR de, Cury JA. Conceptualization of Dental Caries by Undergraduate Dental Students from the First to the Last Year. *Braz Dent J.* janv 2014;25(1):59-52.

14. Lundström T, Birkhed D. Equine peripheral cemental defects and dental caries: Four case reports. *Equine Vet Educ.* 16 mars 2020;eve.13252.
15. Paiva MAA de, Leite DFBM, Farias IAP, Costa A de PC, Sampaio FC. Dental Anatomical Features and Caries: A Relationship to be Investigated. In: Kivanç BH, éditeur. *Dental Anatomy* [Internet]. InTech; 2018 [cité 6 oct 2021]. Disponible sur: <http://www.intechopen.com/books/dental-anatomy/dental-anatomical-features-and-caries-a-relationship-to-be-investigated>
16. BEN-YELLES Ilham. Essai thérapeutique en ex vivo de l'astaxanthine sur les métalloprotéinases 9 et 13 impliquées dans la maladie carieuse et maladie parodontale chez les enfants âgés entre 12 et 15 ans scolarisés à Tlemcen. UNIVERSITÉ DE TLEMCEN-ABOU-BEKR BELKAID; 2019.
17. Cadenas de Llano-Pérula M, Ricse E, Fieuws S, Willems G, Orellana-Valvekens MF. Malocclusion, Dental Caries and Oral Health-Related Quality of Life: A Comparison between Adolescent School Children in Urban and Rural Regions in Peru. *Int J Environ Res Public Health.* 19 mars 2020;17(6):E2038.
18. Das Gupta S, Killenberger M, Tanner T, Rieppo L, Saarakkala S, Heikkilä J, et al. Mineralization of dental tissues and caries lesions detailed with Raman microspectroscopic imaging. *Analyst.* 2021;146(5):1705-13.
19. Schmalz G, Ziebolz D. Changing the Focus to the Whole Patient instead of One Oral Disease: The Concept of Individualized Prevention. *Adv Prev Med.* 2020;2020:6752342.
20. Hao Y, Huang X, Zhou X, Li M, Ren B, Peng X, et al. Influence of Dental Prosthesis and Restorative Materials Interface on Oral Biofilms. *Int J Mol Sci.* 14 oct 2018;19(10).
21. Wishney M. Potential risks of orthodontic therapy: a critical review and conceptual framework. *Aust Dent J.* mars 2017;62 Suppl 1:86-96.
22. Chen W, Zhou Y. Caries outcomes after orthodontic treatment with fixed appliances: a longitudinal prospective study. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(2):2815-22.
23. Hegde MN, Attavar SH, Shetty N, Hegde ND, Hegde NN. Saliva as a biomarker for dental caries: A systematic review. *J Conserv Dent.* févr 2019;22(1):2-6.
24. Colak H, Dülgergil CT, Dalli M, Hamidi MM. Early childhood caries update: A review of causes, diagnoses, and treatments. *J Nat Sci Biol Med.* janv 2013;4(1):29-38.
25. Schmalz G, Ziebolz D. Changing the Focus to the Whole Patient instead of One Oral Disease: The Concept of Individualized Prevention. *Adv Prev Med.* 2020;2020:6752342.
26. Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc.* juill 2000;131(7):887-99.
27. Dubey S, Saha S, Tripathi AM, Bhattacharya P, Dhinsa K, Arora D. A comparative evaluation of dental caries status and salivary properties of children aged 5-14 years undergoing treatment for acute lymphoblastic leukemia, type I diabetes mellitus, and asthma - In vivo. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* sept 2018;36(3):283-9.

28. Sroussi HY, Epstein JB, Bensadoun R-J, Saunders DP, Lalla RV, Migliorati CA, et al. Common oral complications of head and neck cancer radiation therapy: mucositis, infections, saliva change, fibrosis, sensory dysfunctions, dental caries, periodontal disease, and osteoradionecrosis. *Cancer Med.* déc 2017;6(12):2918-31.
29. Bakor SF, Pereira JCM, Frascino S, Ladalardo TCCGP, Pignatari SSN, Weckx LLM. Demineralization of teeth in mouth-breathing patients undergoing maxillary expansion. *Braz J Otorhinolaryngol.* déc 2010;76(6):709-12.
30. Jiang X, Jiang X, Wang Y, Huang R. Correlation between tobacco smoking and dental caries: A systematic review and meta-analysis. *Tob Induc Dis.* 2019;17:34.
31. Kellesarian S-V, Malignaggi V-R, de Freitas P, Ahmed H-B, Javed F. Association between prenatal maternal cigarette smoking and early childhood caries. A systematic review. *J Clin Exp Dent.* sept 2017;9(9):e1141-6.
32. Zhan L. Rebalancing the Caries Microbiome Dysbiosis: Targeted Treatment and Sugar Alcohols. *Adv Dent Res.* févr 2018;29(1):110-6.
33. Shivakumar KM, Vidya SK, Chandu GN. Dental caries vaccine. *Indian J Dent Res.* mars 2009;20(1):99-106.
34. Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR. Dental caries is a preventable infectious disease. *Aust Dent J.* déc 2000;45(4):235-45.
35. Kalesinskas P, Kačergius T, Ambrozaitis A, Pečiulienė V, Ericson D. Reducing dental plaque formation and caries development. A review of current methods and implications for novel pharmaceuticals. *Stomatologija.* 2014;16(2):44-52.
36. Leung V, Dufour D, Lévesque CM. Death and survival in *Streptococcus mutans*: differing outcomes of a quorum-sensing signaling peptide. *Front Microbiol* [Internet]. 23 oct 2015 [cité 13 févr 2021];6. Disponible sur: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2015.01176/abstract>
37. Forssten SD, Björklund M, Ouwehand AC. *Streptococcus mutans*, Caries and Simulation Models. *Nutrients.* 2 mars 2010;2(3):290-8.
38. Matsui R, Cvitkovitch D. Acid tolerance mechanisms utilized by *Streptococcus mutans*. *Future Microbiology.* mars 2010;5(3):403-17.
39. Kressirer CA, Smith DJ, King WF, Dobeck JM, Starr JR, Tanner ACR. *Scardovia wiggsiae* and its potential role as a caries pathogen. *J Oral Biosci.* août 2017;59(3):135-41.
40. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res.* mars 2013;69(1):137-43.
41. Delfosse C, Trentesaux T. La carie précoce du jeune enfant: du diagnostic à la prise en charge globale. Rueil-Malmaison: Éditions CdP; 2015.
42. Paganelli APD, Constante HM, Sala FS, Bainha CC, Borges Jr ALS, Bastos JL, et al. Trends in dental caries rates over 45 years (1971–2016) among schoolchildren in

Florianópolis, southern Brazil. *International Dental Journal*. févr 2018;68(1):47-53.

43. Miura H, Araki Y, Haraguchi K, Arai Y, Umenai T. Socioeconomic factors and dental caries in developing countries: a cross-national study. *Soc Sci Med*. janv 1997;44(2):269-72.

44. Sánchez-Pérez L, Irigoyen ME, Zepeda M. Dental caries, tooth eruption timing and obesity: a longitudinal study in a group of Mexican schoolchildren. *Acta Odontol Scand*. janv 2010;68(1):57-64.

45. Pontigo-Loyola AP, Márquez-Corona M de L, Minaya-Sánchez M, Lucas-Rincón SE, Casanova-Rosado JF, Robles-Minaya JL, et al. Correlation between the caries status of the first permanent molars and the overall DMFT Index: A cross-sectional study. *Medicine (Baltimore)*. janv 2020;99(5):e19061.

46. Schmeling A, Reisinger W, Geserick G, Olze A. Age estimation of unaccompanied minors. Part I. General considerations. *Forensic Sci Int*. 15 mai 2006;159 Suppl 1:S61-64.

47. Wagle M, D'Antonio F, Reierth E, Basnet P, Trovik TA, Orsini G, et al. Dental caries and preterm birth: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2 mars 2018;8(3):e018556.

48. Haworth S, Esberg A, Lif Holgerson P, Kuja-Halkola R, Timpson NJ, Magnusson PKE, et al. Heritability of Caries Scores, Trajectories, and Disease Subtypes. *J Dent Res*. mars 2020;99(3):264-70.

49. Larmas M. Has dental caries prevalence some connection with caries index values in adults? *Caries Res*. 2010;44(1):81-4.

50. Campus G, Solinas G, Maida C, Castiglia P. The « Significant Caries Index » (SiC): a critical approach. *Oral Health Prev Dent*. 2003;1(3):171-8.

51. Souza ML, Bastos JLD, Peres MA. Trends in dental caries rates in 12- and 13-year-old schoolchildren from Florianópolis (Brazil) between 1971 and 2005. *Oral Health Prev Dent*. 2006;4(3):187-92.

52. Rathee M, Sapra A. Dental Caries. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [cité 13 févr 2021]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551699/>

53. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Primers*. 21 déc 2017;3(1):17030.

54. Mount GJ, Hume WR, Tenenbaum H, Haikel Y. *Préservation et restauration de la structure dentaire*. Paris; Bruxelles: De Boeck université; 2002.

55. Arifa MK, Ephraim R, Rajamani T. Recent Advances in Dental Hard Tissue Remineralization: A Review of Literature. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. avr 2019;12(2):139-44.

56. Olingy CE, Dinh HQ, Hedrick CC. Monocyte heterogeneity and functions in cancer. *J Leukoc Biol*. août 2019;106(2):309-22.

57. Ziegler-Heitbrock L. Blood Monocytes and Their Subsets: Established Features and Open Questions. *Front Immunol.* 2015;6:423.
58. Williams M, Mildner A, Yona S. Developmental and Functional Heterogeneity of Monocytes. *Immunity.* 16 oct 2018;49(4):595-613.
59. Geissmann F, Manz MG, Jung S, Sieweke MH, Merad M, Ley K. Development of Monocytes, Macrophages, and Dendritic Cells. *Science.* 5 févr 2010;327(5966):656-61.
60. Gordon S. Phagocytosis: An Immunobiologic Process. *Immunity.* 15 mars 2016;44(3):463-75.
61. Das A, Sinha M, Datta S, Abas M, Chaffee S, Sen CK, et al. Monocyte and Macrophage Plasticity in Tissue Repair and Regeneration. *Am J Pathol.* oct 2015;185(10):2596-606.
62. Robinson A, Han CZ, Glass CK, Pollard JW. Monocyte Regulation in Homeostasis and Malignancy. *Trends in Immunology.* févr 2021;42(2):104-19.
63. Santangelo S, Gamelli RL, Shankar R. Myeloid commitment shifts toward monocytopoiesis after thermal injury and sepsis. *Ann Surg.* janv 2001;233(1):97-106.
64. Mareai S. The Scope of Immunology [Internet]. 2018 [cité 24 sept 2021]. Disponible sur: <https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:101:1-2018061012133888096153>
65. Ghebrehiwet B, Hosszu KK, Valentino A, Ji Y, Peerschke EIB. Monocyte Expressed Macromolecular C1 and C1q Receptors as Molecular Sensors of Danger: Implications in SLE. *Front Immunol.* 2014;5:278.
66. Sanberg PR, Park D-H, Kuzmin-Nichols N, Cruz E, Hossne NA, Buffolo E, et al. Monocyte transplantation for neural and cardiovascular ischemia repair. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* [Internet]. sept 2009 [cité 24 sept 2021]; Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1582-4934.2009.00903.x>
67. Pavelka M, Roth J. Monocyte. In: *Functional Ultrastructure* [Internet]. Vienna: Springer Vienna; 2010 [cité 24 sept 2021]. p. 348-9. Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-3-211-99390-3_178
68. Wolf AA, Yáñez A, Barman PK, Goodridge HS. The Ontogeny of Monocyte Subsets. *Front Immunol.* 2019;10:1642.
69. Karlmark KR, Tacke F, Dunay IR. Monocytes in health and disease - Minireview. *Eur J Microbiol Immunol (Bp).* juin 2012;2(2):97-102.
70. Espinoza VE, Emmady PD. Histology, Monocytes. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cité 24 sept 2021]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557618/>
71. Ward JM, Cherian S, Linden MA. Hematopoietic and Lymphoid Tissues. In: *Comparative Anatomy and Histology* [Internet]. Elsevier; 2018 [cité 24 sept 2021]. p. 365-401. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128029008000191>

72. Ożańska A, Szymczak D, Rybka J. Pattern of human monocyte subpopulations in health and disease. *Scand J Immunol* [Internet]. juill 2020 [cité 24 sept 2021];92(1). Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/sji.12883>
73. Coillard A, Segura E. In vivo Differentiation of Human Monocytes. *Front Immunol*. 2019;10:1907.
74. Sabir F, Farooq RK, Asim Ur Rehman null, Ahmed N. Monocyte as an Emerging Tool for Targeted Drug Delivery: A Review. *Curr Pharm Des*. 2018;24(44):5296-312.
75. Lambert C, Preijers FWMB, Yanikkaya Demirel G, Sack U. Monocytes and macrophages in flow: an ESCCA initiative on advanced analyses of monocyte lineage using flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom*. mai 2017;92(3):180-8.
76. Benjamin JT, Torres BA, Maheshwari A. Neonatal Leukocyte Physiology and Disorders. In: Avery's Diseases of the Newborn [Internet]. Elsevier; 2018 [cité 24 sept 2021]. p. 1187-1197.e4. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323401395000838>
77. Sampath P, Moideen K, Ranganathan UD, Bethunaickan R. Monocyte Subsets: Phenotypes and Function in Tuberculosis Infection. *Front Immunol*. 30 juill 2018;9:1726.
78. Kapellos TS, Bonaguro L, Gemünd I, Reusch N, Saglam A, Hinkley ER, et al. Human Monocyte Subsets and Phenotypes in Major Chronic Inflammatory Diseases. *Front Immunol*. 30 août 2019;10:2035.
79. Dahmani Z, Addou-Klouche L, Gizard F, Dahou S, Messaoud A, Chahinez Djebri N, et al. Metformin partially reverses the inhibitory effect of co-culture with ER-/PR-/HER2+ breast cancer cells on biomarkers of monocyte antitumor activity. *PLoS One*. 2020;15(10):e0240982.
80. Rojas J, Salazar J, Martínez MS, Palmar J, Bautista J, Chávez-Castillo M, et al. Macrophage Heterogeneity and Plasticity: Impact of Macrophage Biomarkers on Atherosclerosis. *Scientifica (Cairo)*. 2015;2015:851252.
81. Rosales C, Uribe-Querol E. Phagocytosis: A Fundamental Process in Immunity. *Biomed Res Int*. 2017;2017:9042851.
82. Uribe-Querol E, Rosales C. Phagocytosis: Our Current Understanding of a Universal Biological Process. *Front Immunol*. 2020;11:1066.
83. Biswas SK, Mantovani A, éditeurs. *Macrophages: Biology and Role in the Pathology of Diseases* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2014 [cité 1 mai 2021]. Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-1311-4>
84. Aderem A. Phagocytosis and the Inflammatory Response. *The Journal of Infectious Diseases*. 15 juin 2003;187(s2):S340-5.
85. Moffett JR, Puthillathu N, Vengilote R, Jaworski DM, Namboodiri AM. Acetate Revisited: A Key Biomolecule at the Nexus of Metabolism, Epigenetics and Oncogenesis—Part 1: Acetyl-CoA, Acetogenesis and Acyl-CoA Short-Chain Synthetases. *Front Physiol*. 12

nov 2020;11:580167.

86. Lee H-J, Woo Y, Hahn T-W, Jung YM, Jung Y-J. Formation and Maturation of the Phagosome: A Key Mechanism in Innate Immunity against Intracellular Bacterial Infection. *Microorganisms*. 25 août 2020;8(9).

87. Lamming DW, Bar-Peled L. Lysosome: The metabolic signaling hub. *Traffic*. janv 2019;20(1):27-38.

88. Uribe-Querol E, Rosales C. Control of Phagocytosis by Microbial Pathogens. *Front Immunol*. 2017;8:1368.

89. Thau L, Asuka E, Mahajan K. Physiology, Opsonization. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [cité 29 janv 2021]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534215/>

90. Pauwels A-M, Trost M, Beyaert R, Hoffmann E. Patterns, Receptors, and Signals: Regulation of Phagosome Maturation. *Trends Immunol*. juin 2017;38(6):407-22.

91. Uribe-Querol E, Rosales C. Control of Phagocytosis by Microbial Pathogens. *Front Immunol*. 2017;8:1368.

92. Park S-Y, Kim I-S. Engulfment signals and the phagocytic machinery for apoptotic cell clearance. *Exp Mol Med*. 12 mai 2017;49(5):e331.

93. Rudziak P, Ellis CG, Kowalewska PM. Role and Molecular Mechanisms of Pericytes in Regulation of Leukocyte Diapedesis in Inflamed Tissues. *Mediators Inflamm*. 2019;2019:4123605.

94. Povroznik JM, Robinson CM. IL-27 regulation of innate immunity and control of microbial growth. *Future Sci OA*. 17 juin 2020;6(7):FSO588.

95. Rossi F, Della Bianca V, de Togni P. Mechanisms and functions of the oxygen radicals producing respiration of phagocytes. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 1985;8(2):187-204.

96. Deramautd TB, Dill C, Bonay M. Regulation of oxidative stress by Nrf2 in the pathophysiology of infectious diseases. *Médecine et Maladies Infectieuses*. mars 2013;43(3):100-7.

97. Walrand S, Farges M-C, Dehaese O, Cardinault N, Minet-Quinard R, Grolier P, et al. In vivo and in vitro evidences that carotenoids could modulate the neutrophil respiratory burst during dietary manipulation. *Eur J Nutr*. mars 2005;44(2):114-20.

98. Saqib U, Sarkar S, Suk K, Owais M, Baig M, Savai R. Phytochemicals as modulators of M1-M2 macrophages in inflammation. *Oncotarget*. 2 avr 2018;9.

99. Abdolmaleki F, Kovanen PT, Mardani R, Gheibi-Hayat SM, Bo S, Sahebkar A. Resolvins: Emerging Players in Autoimmune and Inflammatory Diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*. févr 2020;58(1):82-91.

100. Tan S, Khumalo N, Bayat A. Understanding Keloid Pathobiology From a

Quasi-Neoplastic Perspective: Less of a Scar and More of a Chronic Inflammatory Disease With Cancer-Like Tendencies. *Front Immunol.* 2019;10:1810.

101. Fakhri S, Abbaszadeh F, Dargahi L, Jorjani M. Astaxanthin: A mechanistic review on its biological activities and health benefits. *Pharmacological Research.* oct 2018;136:1-20.
102. Brotosudarmo THP, Limantara L, Setiyono E, Heriyanto. Structures of Astaxanthin and Their Consequences for Therapeutic Application. *International Journal of Food Science.* 21 juill 2020;2020:1-16.
103. Li J, Guo C, Wu J. Astaxanthin in Liver Health and Disease: A Potential Therapeutic Agent. *Drug Des Devel Ther.* 2020;14:2275-85.
104. Galasso C, Orefice I, Pellone P, Cirino P, Miele R, Ianora A, et al. On the Neuroprotective Role of Astaxanthin: New Perspectives? *Marine Drugs.* 24 juill 2018;16(8):247.
105. Martínez-Álvarez Ó, Calvo MM, Gómez-Estaca J. Recent Advances in Astaxanthin Micro/Nanoencapsulation to Improve Its Stability and Functionality as a Food Ingredient. *Marine Drugs.* 1 août 2020;18(8):406.
106. Ambati R, Phang S-M, Ravi S, Aswathanarayana R. Astaxanthin: Sources, Extraction, Stability, Biological Activities and Its Commercial Applications—A Review. *Marine Drugs.* 7 janv 2014;12(1):128-52.
107. Giannaccare G, Pellegrini M, Senni C, Bernabei F, Scordia V, Cicero AFG. Clinical Applications of Astaxanthin in the Treatment of Ocular Diseases: Emerging Insights. *Marine Drugs.* 1 mai 2020;18(5):239.
108. Wong SK, Ima-Nirwana S, Chin K. Effects of astaxanthin on the protection of muscle health (Review). *Exp Ther Med [Internet].* 29 juill 2020 [cité 29 janv 2021]; Disponible sur: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2020.9075>
109. Fang Q, Guo S, Zhou H, Han R, Wu P, Han C. Astaxanthin protects against early burn-wound progression in rats by attenuating oxidative stress-induced inflammation and mitochondria-related apoptosis. *Sci Rep.* févr 2017;7(1):41440.
110. Wu D, Xu H, Chen J, Zhang L. Effects of Astaxanthin Supplementation on Oxidative Stress: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research.* janv 2020;90(1-2):179-94.
111. Chang MX, Xiong F. Astaxanthin and its Effects in Inflammatory Responses and Inflammation-Associated Diseases: Recent Advances and Future Directions. *Molecules.* 16 nov 2020;25(22):5342.
112. Kishimoto Y, Tani M, Uto-Kondo H, Iizuka M, Saita E, Sone H, et al. Astaxanthin suppresses scavenger receptor expression and matrix metalloproteinase activity in macrophages. *European Journal of Nutrition.* mars 2010;49(2):119-26.
113. Cai X, Chen Y, Xie X, Yao D, Ding C, Chen M. Astaxanthin prevents against

lipopolysaccharide-induced acute lung injury and sepsis via inhibiting activation of MAPK/NF- κ B. *Am J Transl Res.* 2019;11(3):1884-94.

114. Guo S, Guo L, Fang Q, Yu M, Zhang L, You C, et al. Astaxanthin protects against early acute kidney injury in severely burned rats by inactivating the TLR4/MyD88/NF- κ B axis and upregulating heme oxygenase-1. *Sci Rep.* déc 2021;11(1):6679.

115. Sorrenti V, Davinelli S, Scapagnini G, Willcox BJ, Allsopp RC, Willcox DC. Astaxanthin as a Putative Geroprotector: Molecular Basis and Focus on Brain Aging. *Marine Drugs.* 5 juill 2020;18(7):351.

116. Lin K-H, Lin K-C, Lu W-J, Thomas P-A, Jayakumar T, Sheu J-R. Astaxanthin, a Carotenoid, Stimulates Immune Responses by Enhancing IFN- γ and IL-2 Secretion in Primary Cultured Lymphocytes in Vitro and ex Vivo. *IJMS.* 29 déc 2015;17(1):44.

117. Talukdar J, Bhadra B, Dattaroy T, Nagle V, Dasgupta S. Potential of natural astaxanthin in alleviating the risk of cytokine storm in COVID-19. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* déc 2020;132:110886.

118. Davinelli S, Nielsen M, Scapagnini G. Astaxanthin in Skin Health, Repair, and Disease: A Comprehensive Review. *Nutrients.* 22 avr 2018;10(4):522.

119. Davinelli, Melvang, Andersen, Scapagnini, Nielsen. Astaxanthin from Shrimp Cephalothorax Stimulates the Immune Response by Enhancing IFN- γ , IL-10, and IL-2 Secretion in Splenocytes of Helicobacter Pylori-Infected Mice. *Marine Drugs.* 26 juin 2019;17(7):382.

120. Macedo RC, Bolin AP, Marin DP, Otton R. Astaxanthin addition improves human neutrophils function: in vitro study. *Eur J Nutr.* déc 2010;49(8):447-57.

121. Zhang L, Wang H. Multiple Mechanisms of Anti-Cancer Effects Exerted by Astaxanthin. *Marine Drugs.* 14 juill 2015;13(7):4310-30.

122. Xie C, Lin M, Tian H, Zhang L, Ren A. Astaxanthin inhibits inflammation of human periodontal ligament cells induced by lipopolysaccharide. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 28 mars 2021;46(3):227-33.

123. Balci Yuce H, Lektemur Alpan A, Gevrek F, Toker H. Investigation of the effect of astaxanthin on alveolar bone loss in experimental periodontitis. *J Periodont Res.* févr 2018;53(1):131-8.

124. Parga Martins Pereira C, Remondi Souza AC, Rodrigues Vasconcelos A, Sacramento Prado P, Name JJ. Antioxidant and Anti-inflammatory Mechanisms of Astaxanthin in Cardiovascular Diseases [Internet]. *MEDICINE & PHARMACOLOGY*; 2020 août [cité 23 janv 2021]. Disponible sur: <https://www.preprints.org/manuscript/202008.0119/v1>

125. Masoudi A, Dargahi L, Abbaszadeh F, Pourgholami MH, Asgari A, Manoochehri M, et al. Neuroprotective effects of astaxanthin in a rat model of spinal cord injury. *Behavioural Brain Research.* juin 2017;329:104-10.

126. Mularczyk M, Michalak I, Marycz K. Astaxanthin and other Nutrients from *Haematococcus pluvialis*—Multifunctional Applications. *Marine Drugs*. 7 sept 2020;18(9):459.
127. Roohbakhsh A, Karimi G, Iranshahi M. Carotenoids in the treatment of diabetes mellitus and its complications: A mechanistic review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. juill 2017;91:31-42.
128. Chen Y, Tang J, Zhang Y, Du J, Wang Y, Yu H, et al. Astaxanthin alleviates gestational diabetes mellitus in mice through suppression of oxidative stress. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. déc 2020;393(12):2517-27.
129. Farges J-C. Guest editorial: understanding dental pulp innate immunity - a basis for identifying new targets for therapeutic agents that dampen inflammation. *Journal of Applied Oral Science*. juin 2009;17(3):0-0.
130. Meyle J, Dommisch H, Groeger S, Giacaman RA, Costalonga M, Herzberg M. The innate host response in caries and periodontitis. *J Clin Periodontol*. déc 2017;44(12):1215-25.
131. Aribi M. Macrophage Bactericidal Assays. *Methods Mol Biol*. 2018;1784:135-49.
132. Rapp L, Maret D, Diemer F, Lacoste Ferré M. Dental Caries in Geriatric Dentistry: An Update for Clinicians. *Int J Oral Dent Health* [Internet]. 30 juin 2019 [cité 5 oct 2021];5(1). Disponible sur: <https://www.clinmedjournals.org/articles/ijodh/international-journal-of-oral-and-dental-health-ijodh-5-080.php?jid=ijodh>
133. Prados-Privado M, García Villalón J, Martínez-Martínez CH, Ivorra C, Prados-Frutos JC. Dental Caries Diagnosis and Detection Using Neural Networks: A Systematic Review. *J Clin Med*. 6 nov 2020;9(11):E3579.
134. Gooty J, Shashirekha A, Guntakala V, Palaparthi R. Estimation of phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes in chronic and aggressive periodontitis patients with nitroblue tetrazolium test. *J Indian Soc Periodontol*. 2019;23(4):316.
135. Guerra BA, Otton R. Impact of the carotenoid astaxanthin on phagocytic capacity and ROS/RNS production of human neutrophils treated with free fatty acids and high glucose. *International Immunopharmacology*. déc 2011;11(12):2220-6.
136. Amar EC, Kiron V, Satoh S, Watanabe T. Influence of various dietary synthetic carotenoids on bio-defence mechanisms in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): Dietary carotenoids and defense mechanisms in rainbow trout. *Aquaculture Research*. déc 2001;32:162-73.

Annexes

Annexes

Annexe A. Consentement éclairé



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID DE TLEMCEN

CENTRE HOSPITALIER ET UNIVERSITAIRE DE TLEMCEN

SERVICE D'ODONTOLOGIE CONSERVATRICE /ENDODONTIE

LABORATOIRE DE RECHERCHE N° 51 : Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie



CONSENTEMENT ECLAIRE

موافقة

أنا السيد(ة):

مولود بتاريخ: ب.....

السكان ب:

أسمح للدكتور بن يلس الهام أستاذة مساعدة متخصصة في محافظة الأسنان بالمستشفى الجامعي بتلمسان.

1. أن اشترك كمريض مؤهل لهذه الدراسة.

2. لجمع كل المعلومات المتعلقة بحالة فمي.

3. التقاط الصور الفوتغرافية المتعلقة بي الإزمة لهذه الدراسة.

4. سحب كمية من اللعاب أو الدم لإتمام هذه الدراسة.

5. نشر النتائج المتحصّل عليها و أخيرا الصور التي تم إلتقاطها مع إخفاء العيون.

M :

Né (e) le : à.....

Demeurant à :

J'autorise le Docteur Ilham BEN YELLES, Maître- assistante en Odontologie Conservatrice au CHU Tlemcen.

1. À me recruter en tant que patient (e) éligible dans cette étude.

2. À prendre tous les renseignements concernant mon statut buccal.

3. À prendre toutes les photographies sur ma personne nécessaires à leurs études.

4. A me prendre un prélèvement salivaire et si nécessaire le sang pour effectuer son étude.

5. À publier les résultats obtenus et, éventuellement à diffuser les photographies avec yeux masquées sur ma personne.

Signature du Tuteur/Tutrice
Lu et approuvé

أنا الممضي أسفله

Tlemcen, le : / /
تلمسان في:

Annexe B. Fiche d'observation clinique

Fiche d'observation clinique des enfants âgés entre 12 et 15 ans de la Région de Tlemcen

Date : / /

Code

Nom :	Prénom :	Sexe : F <input type="checkbox"/>	M <input type="checkbox"/>
Age : ans			
Commune :	Zone : Urbaine <input type="checkbox"/>	Rurale <input type="checkbox"/>	
Niveau d'instruction : Moyen <input type="checkbox"/>	Secondaire <input type="checkbox"/>	Analphabète <input type="checkbox"/>	
Profession du père :	Profession de la mère		
Niveau de formation du père	Niveau de formation de la mère		
Catégorie professionnelle du père :			
Numéro de Tél :			

Antécédents dentaires : Extraction <input type="checkbox"/>	Soins <input type="checkbox"/>	ODF <input type="checkbox"/>
Pathologies : Asthme <input type="checkbox"/>	Diabète <input type="checkbox"/>	
Conséquences de chimiothérapie <input type="checkbox"/>	Radiothérapie <input type="checkbox"/>	
Sous thérapeutique Psychotropes <input type="checkbox"/>	Antihistaminiques <input type="checkbox"/>	
Syndromes : (Préciser)		
Régime riche en : Sucre <input type="checkbox"/>	Lipide <input type="checkbox"/>	Protéine <input type="checkbox"/>
Grignotages : Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	

Examen bucco-dentaire			
Hygiène buccale : Bonne <input type="checkbox"/>	Moyenne <input type="checkbox"/>	Mauvaise <input type="checkbox"/>	Médiocre <input type="checkbox"/>
Fréquence brossage : 0 Fois <input type="checkbox"/>	1 Fois <input type="checkbox"/>	2 Fois <input type="checkbox"/>	3 Fois et plus <input type="checkbox"/>
Fréquence consultation dentaire : <input type="checkbox"/> Jamais <input type="checkbox"/> Urgence <input type="checkbox"/> 1 Fois/an <input type="checkbox"/> 2 Fois/an et plus			

Examen dentaire

Indice CAOD / CAOF

Cariée

Absente

Obturée



Cariée

Absente

Obturée

DIAGNOSTIC

Lesions carieuses

Oui

Non