



HAL
open science

Cytokines salivaires et santé orale : de la régulation immunitaire aux applications cliniques

Margaux Dubois

► **To cite this version:**

Margaux Dubois. Cytokines salivaires et santé orale : de la régulation immunitaire aux applications cliniques. Médecine humaine et pathologie. Université Côte d'Azur, 2025. Français. NNT : 2025COAZ6041 . tel-05543103

HAL Id: tel-05543103

<https://theses.hal.science/tel-05543103v1>

Submitted on 9 Mar 2026

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

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



HAL Authorization

THÈSE DE DOCTORAT

Cytokines salivaires et santé orale : de la régulation immunitaire aux applications cliniques

Margaux DUBOIS

Micoralis

**Présentée en vue de l'obtention
du grade de docteur en Recherche
Clinique et Thérapeutique
d'Université Côte d'Azur**

Dirigée par : Alain DOGLIO

**Co-dirigée par : Marie-France
BERTRAND**

Soutenu le : 08 Décembre 2025

Devant le jury, composé de :

Laurence Lupi, PU-PH, Université Nice Côte d'Azur

Alain Doglio, MCU-PH, Université Nice Côte d'Azur

Marie-France Bertrand, PU-PH, Université Nice Côte
d'Azur

Olivia Kérourédan, MCU-PH, Université de Bordeaux

Philippe Kemoun, PU-PH, Université de Toulouse

Éric Mortier, PU-PH, Université de Lorraine

Cytokines salivaires et santé orale : de la régulation immunitaire aux applications cliniques

Aperçu de :

1. Mécanismes immunologiques impliqués dans l'écosystème oral
2. Développement d'une méthode multiplexe de quantification des cytokines salivaires dans la cohorte ORASPORT
3. De l'approche méthodologique à l'exploration clinique : application à la maladie carieuse

Jury

Président du Jury

Laurence Lupi, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, Sous-section 56-02 disciplines Prévention, épidémiologie, économie de la santé, odontologie légale. Université Côte d'Azur.

Laboratoire Microbiologie Orale, Immunothérapie et Santé (MICORALIS), UPR7354, Université Côte d'Azur, France.

Directeur de thèse

Alain Doglio, Maître de conférences des Universités - Praticien Hospitalier, Sous-section 45-02, disciplines Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière. Université Côte d'Azur. Directeur du Laboratoire Microbiologie Orale, Immunothérapie et Santé (MICORALIS), UPR7354, Université Côte d'Azur, France.

Co-directeur de thèse

Marie-France Bertrand, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, Sous-section 58-01 disciplines de dentisterie restauratrice et endodontie, Université Côte d'Azur.

Laboratoire Microbiologie Orale, Immunothérapie et Santé (MICORALIS), UPR7354, Université Côte d'Azur, France.

Rapporteurs

Olivia Kérourédan, Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier, Sous-section 58-01 disciplines de dentisterie restauratrice et endodontie, Université de Bordeaux, Nouvelle-Aquitaine.

Biofabrication, Tissue Bioengineering (BioTis), UMR1026 (Inserm), Université de Bordeaux, France.

Philippe Kemoun, Professeur des Universités et Praticien Hospitalier (PU-PH), Sous-section 57-01 discipline de Biologie Orale, Université de Toulouse.

Geroscience and Rejuvenation Research Center (RESTORE), UMR 1301 (Inserm) / UMR 5070 (CNRS), Université de Toulouse, France.

Examineurs

Éric Mortier, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, Sous-section 58-01 disciplines de dentisterie restauratrice et endodontie. Université de Lorraine, Nancy.

Institut Jean Lamour, UMR7198 (CNRS), Université de Lorraine, Nancy, France.

Résumé

L'écosystème buccal constitue un milieu complexe et dynamique, façonné par des interactions étroites entre le microbiote et les composantes cellulaires, tissulaires et les fluides de l'hôte. Au sein de cet écosystème, les cytokines détectées dans la salive représentent des biomarqueurs immunitaires privilégiés, dans la mesure où ces protéines jouent un rôle central au cœur de la régulation des réponses immunitaires. Cette thèse a pour objectifs de préciser la contribution des cytokines salivaires, en tant que potentiels biomarqueurs de la santé orale et d'en explorer également l'intérêt pour le diagnostic et le suivi des affections bucco-dentaires.

Le travail présenté se décline en trois grands volets de recherche : (1) La mise au point d'une technologie de détection ultrasensible salivaire afin d'améliorer la quantification multiplexée des cytokines orales ; (2) l'application de ce nouvel outil dans un projet exploratoire : l'étude ORASPORT ; (3) Son application dans un projet de recherche translationnelle à visée clinique : caractérisation des profils cytokiniques salivaires impliqués dans la maladie carieuse.

La technologie de détection ELISA multiplex (*S-Plex*[®], *Meso-Scale Discovery*[®]) permet une quantification simultanée et hautement sensible de plusieurs cytokines à partir de prélèvements salivaires. La mise en place de cette technologie innovante dans le domaine s'est faite à partir d'un projet innovant du laboratoire : l'étude ORASPORT. Cette étude transversale évalue l'impact des niveaux d'activité physique (sédentarité, pratique modérée, sport de haut niveau) sur la santé orale et l'écosystème buccal. La cohorte constituée pour ORASPORT a fourni une base d'échantillons indispensables pour valider la méthode S-plex[®]. Les résultats obtenus mettent en évidence une élévation de l'IL-17 chez les sportifs, indépendamment de l'intensité, et des interactions avec l'IL-6 et le TNF- α , suggérant un rôle pivot de l'IL-17 comme biomarqueur transversal reliant réponses muqueuses locales et myokines systémiques.

Par ailleurs, la même technologie a été utilisée pour caractériser des profils cytokiniques salivaires associés à la maladie carieuse notamment par comparaison avec la santé orale (absence de lésions) ou la présence d'inflammation gingivales. Nos résultats mettent en évidence un profil immunitaire salivaire spécifique à la maladie carieuse, notamment, l'association IL-1 β /IL-17 apparaît comme un biomarqueur robuste, reflétant une activation conjointe de l'immunité innée et adaptative, distincte des signatures inflammatoires gingivales.

Ces travaux démontrent l'intérêt du profilage immunitaire salivaire comme outil non invasif pour la caractérisation des états inflammatoires oraux. Ils soulignent le potentiel de la salive comme matrice diagnostique pour le suivi de pathologies bucco-dentaires et des adaptations physiologiques liées au mode de vie. À terme, ils pourraient permettre une prise en charge plus précoce, personnalisée et préventive des pathologies bucco-dentaires, en intégrant la dimension du mode de vie dans l'évaluation du risque.

Mots clés : Salive ; Cytokines ; Biomarqueurs ; Système S-PLEX ; ELISA Multiplex ; Santé orale ; Exercice physique

Abstract

The oral ecosystem constitutes a complex and dynamic environment shaped by close interactions between the microbiota and the host's cellular, tissue, and fluid components. Within this ecosystem, cytokines detectable in saliva represent privileged immune biomarkers, as these proteins play a central role in regulating immune responses. The objectives of this dissertation are to clarify the contribution of salivary cytokines as potential biomarkers of oral health, and to explore their relevance for the diagnosis and monitoring of oral diseases.

The research presented is structured into three main components: (1) the development of an ultrasensitive salivary detection technology to improve multiplex quantification of oral cytokines; (2) the application of this novel tool in an exploratory project: the ORASPORT study; and (3) its implementation in a translational research project with clinical orientation: the characterization of salivary cytokine profiles involved in dental caries.

The multiplex ELISA detection technology (S-Plex®, Meso-Scale Discovery®) enables simultaneous and highly sensitive quantification of multiple cytokines from salivary samples. The introduction of this innovative approach in the field was initiated through a pioneering laboratory project: the ORASPORT study. This cross-sectional study investigates the impact of physical activity levels (sedentary behavior, moderate practice, elite sport) on oral health and the oral ecosystem. The ORASPORT cohort provided an essential sample base for validating the S-Plex® method. Results revealed elevated IL-17 levels in athletes, regardless of activity intensity, as well as interactions with IL-6 and TNF- α , suggesting a pivotal role for IL-17 as a transversal biomarker linking local mucosal responses and systemic myokines.

Furthermore, the same technology was employed to characterize salivary cytokine profiles associated with dental caries, particularly through comparisons with oral health (absence of lesions) and gingival inflammation. Our findings highlight a specific salivary immune profile for caries, notably the IL-1 β /IL-17 association, which emerges as a robust biomarker reflecting the joint activation of innate and adaptive immunity, distinct from gingival inflammatory signatures.

This work demonstrates the relevance of salivary immune profiling as a non-invasive tool for characterizing oral inflammatory states. It underscores the potential of saliva as a diagnostic matrix for monitoring oral diseases and physiological adaptations related to lifestyle. Ultimately, these findings could contribute to earlier, personalized, and preventive management of oral pathologies, by integrating lifestyle factors into risk assessment.

Keywords: Saliva; Cytokines; Biomarkers; S-PLEX System; Multiplex ELISA; Oral Health; Physical Exercise

Remerciements

Je souhaite remercier,

Je remercie les membres du jury d'avoir accepté de siéger à ma thèse. J'ai l'honneur et le privilège de pouvoir partager avec vous mes premiers pas dans le monde de la recherche.

Mon directeur de thèse, le Dr. Alain Doglio, pour son soutien dans mon parcours scientifique et cela dès le Master 1. Tout au long de mes stages et de mon travail de thèse, votre bienveillance, votre soutien, et conseils ont été précieux.

Ma co-directrice thèse, mon mentor, le Pr. Marie-France Bertrand, qui m'a toujours soutenu, accompagné et cru en moi tout au long de ces années. Votre gentillesse, votre empathie et votre bienveillance vous caractérise et font de votre soutien un guide précieux qui m'a permis d'aboutir à la fin de cette thèse. L'engagement dont vous faites preuve envers les étudiants, la discipline et la faculté représentent pour moi une source d'admiration profonde.

Les membres du laboratoire Micoralis. Morgane, ma partenaire de laboratoire mais également mon amie proche, pour son soutien permanent, sa bonne humeur, son rire caractéristique, sa gentillesse et sa générosité. Cette thèse n'aurait pas été la même sans ta présence au laboratoire. A Lilit, pour ta disponibilité, ta gentillesse, ton esprit scientifique rigoureux, critique mais toujours avec bienveillance, qui m'a énormément fait avancer tout au long des années. A Julianne, qui nous a fait découvrir son pays et qui est devenue une amie. A Robert et Sandrine pour votre présence au laboratoire et votre aide au quotidien.

Le Dr. Loubat, pour votre soutien sur la plateforme de quantification et votre accueil chaleureux.

L'ensemble de mes collègues et le personnel de la faculté d'Odontologie. Au Dr. Ceinos pour être un collègue exceptionnel, une source intarissable de savoir et de passion. J'ai énormément de chance de travailler à tes côtés. Au Dr. Leforestier, pour ton soutien constant, ta rigueur et ta bienveillance qui incarnent l'idéal de l'enseignant et du soignant que j'aspire à devenir. Au Dr. Ponchet, au Dr. Chambon pour votre gentillesse et votre bonne humeur toujours partagées. Au Dr. Teisseire, pour ton engagement et ton soutien indéfectible dans notre discipline.

Mes amis, Mélanie, ma sœur toulousaine. Hortense mon amie de toujours. Clémentine et Caroline mes copines du lycée. Julie, ma coloc', ma jumelle en beaucoup de point. Ma bande de joyeux dentiste de la faculté Alexia, Antoine, Camille, Clémence, Jessica, Lisa, Nikola, Paul et Sophie. Mes études à vos côtés ont été incroyables et nos moments passés ensemble sont toujours géniaux. Je suis contente d'avoir croisé votre route et de continuer à la partager. Clémence, ma binôme d'hôpital, ma sœur de cœur, je veux te remercier pour ta présence tout au long de ces années. Tu as toujours été à mes côtés, y compris dans les périodes les plus difficiles, et ton soutien m'a été d'une valeur inestimable. Ta gentillesse, ton humour et ton soutien illuminent mon quotidien et font de toi une personne essentielle et profondément importante dans ma vie. A Wassila et Julien, pour vos chamailleries qui n'en finissent pas de me faire rire. Votre présence permanente autour d'un verre dans les moments difficiles et aux près de mes boules de poils.

Enfin, je souhaite remercier profondément ma famille, à qui je dois tant. À mes grands-parents, qui ont contribué à façonner la personne que je suis aujourd'hui et dont l'héritage continue de me guider. À mes parents, pour leur soutien indéfectible tout au long de ma vie, pour les valeurs qu'ils m'ont transmises et pour m'avoir permis de devenir celle que je suis. À ma sœur, qui est ma vie, mon pilier, toujours présente à mes côtés, veillant sur moi avec une générosité infinie. Pour qui, je ressens un profond respect et une admiration, par sa force, sa détermination et son courage. A ses enfants, à sa famille, nos lumières, nos soleils, nos sources d'énergie.

A tout ceux qui ont croisé mon chemin, qui m'ont offert un peu de leur lumière, de leur temps, de leur vie, je vous dis merci.

Présentation du consortium des laboratoires impliqués

Le projet s'appuie sur un consortium pluridisciplinaire réunissant trois structures de recherche de l'Université Côte d'Azur :

- **MICORALIS (UPR 7354, Université Côte d'Azur – EUR Healthy) :** Le laboratoire MICORALIS réalise des recherches axées sur la microbiologie, l'immunologie et la santé orale. Il étudie les liens entre santé bucco-dentaire et santé en général, notamment par l'intermédiaire du microbiote, des virus ou des biofilms oraux impliqués dans la dysbiose, l'inflammation et diverses pathologies. Le laboratoire s'intéresse également aux stratégies innovantes pour la prévention et le traitement des maladies bucco-dentaires.
- **LAMHESS (UPR 6312, Université Côte d'Azur – EUR Healthy) :** Le LAMHESS est un laboratoire de qui étudie les déterminants biologiques, physiologiques, psychologiques et sociaux de la performance sportive et de la santé. Le laboratoire axe ses recherches sur les liens entre activité physique, santé générale et condition physique.
- **Institut de Médecine Bucco-Dentaire (IMBD – Centre Hospitalier Universitaire de Nice) :** l'Institut de Médecine Bucco-Dentaire a pour mission le soin, la formation et la recherche clinique. La contribution de IMBD dans le consortium de recherche, permet la mise en œuvre des projets cliniques et du transfert des connaissances scientifiques vers la pratique médicale et des soins aux patients.

Avant-propos

Clinicienne de formation, et particulièrement orientée en dentisterie restauratrice, mon parcours doctoral m'a permis de prolonger cette expérience clinique par des études de recherche translationnelles menées en laboratoire. L'objectif principal poursuivi pendant mes trois années de thèse était d'identifier des biomarqueurs inflammatoires salivaires susceptibles de marquer différents états de la santé orale. Bien que la salive contienne de nombreux marqueurs inflammatoires potentiels, le choix de travailler sur les cytokines salivaires a été motivé, d'une part par la grande versatilité et la pertinence biologique de ces biomarqueurs par rapport à la question posée, et d'autre part par la disponibilité sur le marché d'outils capables de détecter de manière ultrasensible et simultanée (multiplexée) une dizaine de cytokines dans le même échantillon de salive.

Dans ce contexte, nous avons fait le choix d'utiliser la technologie de quantification de cytokines par émission de luminescence (S-PLEX®) développée par la société Meso Scale Discovery® (MSD). Outre sa capacité à proposer une analyse multiplexée couvrant 9 cytokines, cette technologie permet de franchir un seuil de sensibilité déterminant en détectant les cytokines à des seuils très faibles (fg/ml), ce qui est particulièrement pertinent dans le contexte salivaire. Cependant, cette technologie n'ayant jamais été appliquée à des échantillons salivaires, la première partie de mon travail a donc consisté à valider la méthodologie S-PLEX® sur des prélèvements salivaires (Partie 2) afin de disposer d'un outil sensible et reproductible pour l'étude de l'immunité orale.

La validation technique et biologique de cet immunoessai a été menée dans le contexte de la constitution de la cohorte ORASPORT. Le projet ORASPORT est un projet transversal qui explore l'impact de la pratique du sport d'endurance sur l'écosystème oral et la santé bucco-dentaire chez des individus jeunes et en bonne santé. L'objectif principal est d'étudier les variations du microbiote oral et du profil inflammatoire salivaire en fonction du niveau d'activité physique, mais aussi en fonction de l'état de santé bucco-dentaire et du mode de vie. Ce projet se mettait en place au laboratoire à mon arrivée et j'ai participé activement à sa mise en place, notamment en tant que principal investigateur clinique pour réaliser les prélèvements et établir le bilan de santé orale de chaque participant. La cohorte ORASPORT a ainsi fourni un ensemble d'échantillons bien documentés au niveau clinique. A ce jour, la cohorte ORASPORT est riche d'environ 110 participants et j'ai manipulé et analysé avec le kit S-PLEX® 80 échantillons salivaires. Ces analyses ont généré une première partie de résultats qui ne sont pas encore publiés, mais qui sont présentés dans ce mémoire (Partie 2). Ces données illustrent l'impact de l'activité physique de chacun sur le profil cytokinique salivaire. Ces données encore exploratoires devraient aboutir à la publication d'un article prochainement. En particulier, ces données inflammatoires pourront être croisées avec les variations du microbiote oral analysées par PCR à haut-débit (Dr. Morgane Ortis) sur ces mêmes prélèvements.

En parallèle, nous avons également cherché à documenter d'une manière plus ciblée les relations potentielles qui pourraient apparaître entre les états de santé orale et les profils cytokiniques salivaires (Partie 3). Les prélèvements de la cohorte ORASPORT ont été regroupés en fonction de la clinique bucco-dentaire de chaque participant (bonne santé orale, caries, inflammation gingivale) et l'analyse des cytokines salivaires a mis en évidence des différences significatives susceptibles de définir des profils caractéristiques des lésions carieuses. Cette étude pilote constitue la finalité de mon travail de thèse et fait actuellement l'objet d'une proposition de publication internationale en cours de revue dans « Journal of Dental Research Clinical & Translational Research » : « *Ultrasensitive Multiplex Salivary Cytokine Profiling for Caries Detection* » (Dubois et al.).

Articles et communications publiés en rapport avec la thèse

L'exploitation des données collectées permet déjà d'identifier des résultats que j'ai pu valoriser au travers de plusieurs publications. Au niveau national, j'ai publié une revue narrative intitulée « *Microbiote oral et santé bucco-dentaire des sportifs : revue narrative* » (Dubois & Ortis et al. 2024, co-première auteur), dans le Cahier de Nutrition et de Diététique. La seconde publication, parue dans le journal de l'Information Dentaire, s'intitule « *Santé orale et performances sportives : les spécificités de la prise en charge du patient-athlète* » (Dubois et al. 2024). J'ai également réalisé une publication internationale d'une revue systématique de la littérature explorant le lien entre microbiote oral et sport, dans la revue Cureus : « *Correlation Between the Oral Microbiota and Sports Practice: A Systematic Review* » (Dubois et al. 2025). Le protocole de recherche est en cours de revue dans « *Frontiers in Oral Health* » : « *ORASPORT Study Protocol: A Prospective Observational Study on the Impact of Endurance Physical Activity on Oral Microbiology and Immunology* » (Dubois & Ortis et al. 2025, co-première auteur). La publication des résultats de l'ensemble de l'étude ORASPORT est prévue dans une revue internationale dédiée à la Biologie Orale durant l'année 2026. Je serai co-première auteure avec Morgane ORTIS qui travaille plus spécifiquement sur les aspects bactériologiques et viraux.

La finalité de mon travail de thèse, centrée sur l'étude pilote sur l'analyse des profils caractéristiques des lésions carieuses, fait l'objet d'une proposition de publication internationale en cours de revue dans « *Journal of Dental Research Clinical and Translational Research* » : « *Ultrasensitive Multiplex Salivary Cytokine Profiling for Caries Detection* » (Dubois et al.).

Durant mon parcours doctoral, j'ai assuré la diffusion de mes travaux de recherche lors de deux congrès internationaux organisés par la « *Continental European Division of the International Association for Dental Research* », à Rhodes en septembre 2023 puis à Genève en septembre 2024. Sur le plan national, j'ai régulièrement communiqué l'avancée de mes travaux lors des Journées Annuelles du Collège National des Enseignants en Odontologie Conservatrice, à Brest en 2023 puis à Clermont-Ferrand en 2024, ainsi que lors des Journées de l'Ecole Doctorale ED85 en 2025. Enfin, j'ai eu le plaisir de contribuer à la diffusion scientifique auprès du grand public en présentant mes recherches dans le cadre de la Fête de la Science ainsi que dans le cadre d'une conférence organisée pour la Journée Mondiale de la Santé Bucco-Dentaire à Nice en 2025, illustrant ainsi mon engagement à partager mes travaux de recherche au-delà du milieu académique.

Abréviations

AAE : American Association of Endodontists

AUC : Aire sous la courbe

BCR : Récepteur des lymphocytes B

BH : Benjamini–Hochberg

BKY : Benjamini-Krieger-Yekutieli

CAOD : Indice carieux mesurant le nombre de dents cariées, absentes pour carie et obturées en denture permanente

CC4D : CariesCare 4D™

CLR : Récepteurs lectines de type-C

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CPA : Cellules présentatrices d'antigènes

CPP : Comité de Protection des Personnes

CV : Coefficients de variation

DAMP : Damage associated molecular pattern

EPM : matrice polymère extracellulaire

HAS : Haute Autorité de Santé

ICDAS : International Caries Detection and Assessment System

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

JAD : Jonction amélo-dentinaire

LB : Lymphocyte B

LT : Lymphocyte T

LPS : Lipopolysaccharide

LSI : Indice de Loe et Silness

MALT : Mucosa Associated Lymphoid Tissue

MSD : Meso Scale Discovery®

NK : Natural Killer

NLR : NOD-like receptor

NLRP3 : NOD-like receptor family pyrin domain containing 3

PAMP : Pathogen associated molecular pattern

PI : Indice de plaque

PRR : Pattern recognition receptor

ROC : Receiver Operating Characteristic

SI : Système immunitaire

TCR : Récepteur des lymphocytes T

TLR : Toll-like receptor

Table des matières

Chapitre I : Introduction générale : Mécanismes immunologiques impliqués dans l'écosystème oral	1
I-1. Le système immunitaire oral : Bases théoriques.....	1
I-1.1 Organisation de l'écosystème oral	1
I-1.2 Microbiote et dysbiose, généralités.....	1
I-1.3 Le système immunitaire oral.....	3
I-1.4 L'immunité innée.....	4
I-1.5 L'immunité adaptative	7
I-1.6 Les cytokines comme médiateurs clés	9
I-2. Immunité et pathologies orales : sous le prisme de la maladie carieuse.....	14
I-2.1 La maladie carieuse : une pathologie biofilm-dépendante.....	14
I-2.2 Le Microbiote et la Dysbiose orale : à l'origine de la pathogénèse carieuse	21
I-2.3 Réactions tissulaires et immunitaires face au biofilm cariogène	22
I-2.4 Le diagnostic des pulpopathies et ses limites.....	25
I-2.5 Médiateurs cytokiniques et lésions carieuses.....	26
Chapitre II : Développement d'une méthode multiplexe de quantification des cytokines salivaires dans la cohorte ORASPORT	28
II-1. La mise en place de l'étude ORASPORT	28
II-1.1 Lien entre santé orale et sport.....	28
II-1.2 Revue systématique de la littérature : Microbiote oral et santé bucco-dentaire des sportifs	30
II-2. Approche méthodologique de l'étude	41
II-2.1 La détection multiplexée de cytokines selon la technologie MSD®	41
II-2.2 Le dosage des protéines salivaires	45
II-2.3 Le protocole de l'étude ORASPORT	47
II-3. Résultats	63
3.1 Méthode d'analyse statistiques	63
3.2 Interprétation des résultats.....	68
Chapitre III : Caractérisation de profils cytokiniques salivaires centrés sur la maladie carieuse	70
III-1. Contextualisation	70
III-2. L'étude ancillaire	70
III-2.1 La population.....	70
III-2.2. Résultats	72
III-3. Discussion et perspectives.....	98
III-3.1 Relevance biologique de la technologie S-PLEX® dans la quantification des cytokines salivaires	98
III-3.2 Sensibilité et plage dynamique de dosage	98
III-3.3 Choix de la normalisation des données : par volume salivaire ou par teneur en protéines totales ?	99
III-3.4 Limites de l'étude.....	106
III-3.5 Perspective de l'étude.....	107
Conclusion générale	109
Bibliographie	110
Annexes	120

Liste des figures

Figure 1 : L'anneau de Waldeyer composé des tonsilles pharyngienne, tubaires, palatine et linguale...	4
Figure 2 : Etapes de la réponse immunitaire (Medzhitov, 2007)	5
Figure 3 : Mécanismes de l'inflammasome (Xia et al., 2023)	6
Figure 4 : Acteurs de la réponse immunitaire innée et adaptative (Dranoff, 2004)	7
Figure 5 : Mécanismes de la synapse immunologique (Poureau & Metges, 2021)	8
Figure 6 : Orientation de réponse lymphocytaire T en fonction des molécules de co-stimulations (Corripio-Miyar et al., 2022)	9
Figure 7 : Fonction majeure des cytokines classées comme « pro-inflammatoires ».....	13
Figure 8 : Fonction majeure des cytokines classées comme « anti-inflammatoires ».....	13
Figure 9: Ensemble des facteurs modifiant l'environnement oral à l'origine de la dysbiose (Banakar et al., 2024).....	14
Figure 10 : Théorie de Keys (Keyes, 1968), revisité par Newburn en (Newbrun, 1982).....	15
Figure 11: Prise en charge de la maladie carieuse selon 4 étapes (Martignon et al., 2019)	18
Figure 12 : Arbre décisionnel du diagnostic des lésions carieuses selon la sévérité et l'activité (critères icdas)	19
Figure 13 : Mise en place du biofilm et transition vers la dysbiose carieuse (Lamont et al., 2018)	3
Figure 14: Variations du microbiote carieux en fonction de la sévérité de la lésion (Spatafora et al., 2024).....	21
Figure 15 : Les différents tissus composant la dent	16
Figure 16: Email visualisé au microscope électronique à balayage, interprismatique (Interrod) et prismatique (rod) (Nanci Antonio et al., 2017)	16
Figure 17 : Aspect histologique d'une lésion carieuse amélaire, (Goldberg, 2016).....	17
Figure 18: Schéma histologique de la lésion carieuse dentinaire (Jean-Claude Kaquelier & Olivier Le May, 1998)	17
Figure 19: Cellules immunitaires du tissu pulpaire (d'après Pohl et al., 2024).....	22
Figure 20 : La réponse inflammatoire pulpaire (Rechenberg et al., 2016).....	23
Figure 21 : Mise en place de la dentine tertiaire, dentinogénèse réactionnelle ou dentinogénèse réparatrice en réponse à une lésion carieuse (da Rosa et al., 2018).....	24
Figure 22 : Mécanisme de de la technologie MULTI-ARRAY®	41
Figure 23 : Description du kit S-PLEX® Proinflammatory Panel 1	42
Figure 24 : Solution de calibrage du kit S-PLEX®	43
Figure 25 : Mise en place de la technologie au laboratoire Micoralis.....	44
Figure 26 : Résumé du protocole du kit Pierce BSA Protein Kit™ de Thermo Scientific pour la détection colorimétrique et la quantification des protéines totales.....	45
Figure 27 : Mise en place du protocole de quantification des protéines totales par détection colorimétrique au laboratoire Micoralis	46
Figure 28 : Ensemble des indices et variables cliniques évaluées dans l'étude orasport	48
Figure 29 : Représentation en violon des cytokines significatives selon les groupes, exprimées en Z-scores.....	64
Figure 30 : Représentation en violon des combinaisons de bi-cytokines significatives selon les groupes, exprimées en Z-scores	65
Figure 31 : Représentation en violon des combinaisons de tri-cytokines significatives selon les groupes, exprimées en Z-scores.	65
Figure 32 : Interactions cytokiniques autour de l'axe Th17 lors d'un effort d'endurance	69
Figure 33 : Organisation de la cohorte en fonction des pathologies orales	71
Figure 34 : Concentration de l'il-1β pour l'ensemble des échantillons.....	99
Figure 35 : Répartition des scores de signature des cytokines salivaires chez les patients présentant des lésions carieuses (CL) par rapport aux témoins (H) et aux témoins combinés (H+GI) en fg/μg.	102

Figure 36 : Courbes ROC de la combinaison IL-1 β + IL-17 pour la discrimination entre groupes....	103
Figure 37 : Signatures spécifiques à l'inflammation gingivale et aux lésions carieuses dans l'étude	105
Figure 38 : Effectifs requis par cytokine pour assurer la comparaison des groupes	108

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques histologiques et microbiologiques des différents stades de la carie.....	22
Tableau 2 : Préparation de la gamme étalon selon le kit Pierce bsa protein Kit™	45
Tableau 3: concentrations des cytokines (fg/ml) entre les trois groupes.....	67
Tableau 4 : Signatures cytokines permettant de distinguer les lésions carieuses (CL) des témoins sains (H), de l'inflammation gingivale (GI) et des témoins combinés (H + GI) en fg/ μ g à l'aide du test de mann-whitney.....	101
Tableau 5 : Analyse ROC des cytokines et détermination des effectifs pour la comparaison des groupes	107

Chapitre I : Introduction générale : Mécanismes immunologiques impliqués dans l'écosystème oral

I-1. Le système immunitaire oral : Bases théoriques

I-1.1 Organisation de l'écosystème oral

La cavité orale possède le microbiote le plus diversifié de l'organisme humain, avec plus de 700 espèces bactériennes identifiées, ainsi que des champignons, virus et protozoaires (Baker et al., 2024; Caselli et al., 2020). Ce microbiote joue un rôle essentiel dans le maintien de la santé bucco-dentaire. En particulier, la santé orale repose sur un équilibre dynamique qui se met en place entre les microorganismes et les tissus de la cavité orale. En effet, le microbiote entretient des échanges étroits avec les cellules épithéliales et immunitaires environnantes et ces échanges jouent un rôle essentiel pour moduler la tolérance immunitaire et la réponse inflammatoire.

L'homéostasie orale est donc définie comme l'état d'équilibre entre le microbiote, les défenses immunitaires de l'hôte et les facteurs environnementaux (alimentation, hygiène, habitudes de vie). Dans un état de stabilité, les microorganismes commensaux coexistent de manière bénéfique avec l'hôte, la réponse immunitaire reste cependant en alerte, mais sous un état contrôlé, souvent qualifié de veille immunitaire. En cas de rupture de l'homéostasie, une dysbiose microbienne s'installe, favorisant le développement de pathologies telles que la carie ou la maladie parodontale. La réponse immunitaire, initialement protectrice face à cette dysbiose, peut également évoluer et participer à la progression de la pathologie. Ainsi, une meilleure compréhension des mécanismes mis en jeu lors du passage vers un état dysbiotique est essentielle pour appréhender la transition de la santé vers la maladie et identifier des biomarqueurs précoces du déséquilibre immunitaire.

I-1.2 Microbiote et dysbiose, généralités

Le sens étymologique du mot microbiote vient du grec « *mikros* » signifiant petit et « *bios* » qui est la vie. Le microbiote correspond ainsi à une communauté de microorganismes présents dans un habitat spécifique. Sur le plan microbiologique, un microbiote correspond ainsi non seulement à une collection de bactéries, champignons, virus, mais aussi à un réseau fonctionnel d'espèces microbiennes qui interagissent entre elles et avec leur environnement, contribuant à des fonctions métaboliques et immunologiques essentielles. Outre le microbiote oral, l'organisme humain héberge de nombreux autres microbiotes spécialisés selon les niches écologiques : intestinal, cutané, vaginal, pulmonaire, ou encore nasal. Le microbiote intestinal est de loin le plus abondant et le mieux caractérisé, avec une densité microbienne estimée à plus de 10^{11} cellules par gramme de contenu colique (Sender et al., 2016).

Ces microorganismes forment un écosystème complexe qui prospère dans un environnement dynamique en symbiose avec l'hôte qui les héberge (Radaic & Kapila, 2021). La conception moderne envisage désormais l'ensemble comme un tout, formant un super-organisme (holobionte) qui associe l'hôte et ses nombreux microbiotes (Dominguez-Bello et al., 2019; Reynoso-García et al., 2022; Rosenberg & Zilber-Rosenberg, 2018).

Pour s'adapter aux conditions environnementales souvent difficiles, les bactéries ont développé des stratégies spécifiques, parmi lesquelles la coagrégation de différentes espèces au sein de communautés structurées et organisées dans une matrice extracellulaire : les biofilms. Les biofilms ont été définis comme une communauté structurée, de une ou de plusieurs espèces intégrées et enfermées dans une

matrice polymère extracellulaire (EPM) autoproduite et adhérant à une surface inerte ou vivante (Radaic & Kapila, 2021; Sedghi et al., 2021).

Dans ce contexte, l'étude des microbiotes se concentre désormais davantage sur les interactions entre les microorganismes au sein des biofilms, plutôt que sur leur analyse individuelle (Lloyd-Price et al., 2016).

Mise en place du microbiote dento-gingival : La cavité buccale constitue un environnement difficile pour la survie microbienne, car elle subit d'importantes fluctuations quotidiennes en termes d'apport en nutriments, de température, de pH etc. Il n'existe pas de microbiote oral unique du fait de la diversité des niches écologiques dans la cavité orale (gencives, salive, langue, palais, ...) et de plusieurs facteurs tels que l'âge, le régime alimentaire, l'existence de lésions et l'étendue et la vitesse de leur progression (Lamont et al., 2018).

Le développement du biofilm dento-gingival passe par plusieurs étapes clés (Figure 1). La première étape de la mise en place de ce biofilm est la constitution de la pellicule dentaire acquise. La pellicule dentaire se constitue en un film salivaire à la surface de l'émail. Celui-ci est composé de protéines, lipides, glycoprotéines et glycolipides (Hannig & Joiner, 2005).

Cette pellicule dentaire acquise va être le point de départ de l'adhésion des colonisateurs microbiens primaires, essentiellement des bactéries Gram positives. Les espèces du genre *Streptococcus*, et en particulier *S. salivarius*, représentent près de 80 % de cette flore précoce. On retrouve également d'autres genres tels que *Actinomyces*, *Gemella*, *Veillonella*, *Rothia* ou encore *Neisseria* (Jakubovics, 2015; Luizon et al., 2009). Ces bactéries interagissent avec la pellicule acquise et se fixent à la surface dentaire. Elles demeurent dominantes durant une période allant de 18 heures à 4 jours après le début de la colonisation.

Ces colonisateurs vont faciliter une colonisation intermédiaire par *F. nucleatum* qui fait la transition entre les colonisateurs précoces et tardifs. Ces interactions microbiennes successives permettent ensuite l'adhésion de colonisateurs secondaires, regroupant principalement des bactéries anaérobies telles que *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Prevotella* ou *Capnocytophaga*.

Ce biofilm devient progressivement plus complexe et peut contenir plusieurs centaines d'espèces, ce qui accroît son potentiel pathogène (M. Zhang et al., 2022). Il est également important de noter que ces consortiums ne sont pas exclusivement bactériens : d'autres phyla peuvent y participer, notamment des champignons tels que les *Candida*, dont la présence au sein du biofilm oral est de plus en plus reconnue (Allison et al., 2016) (Figure 1).

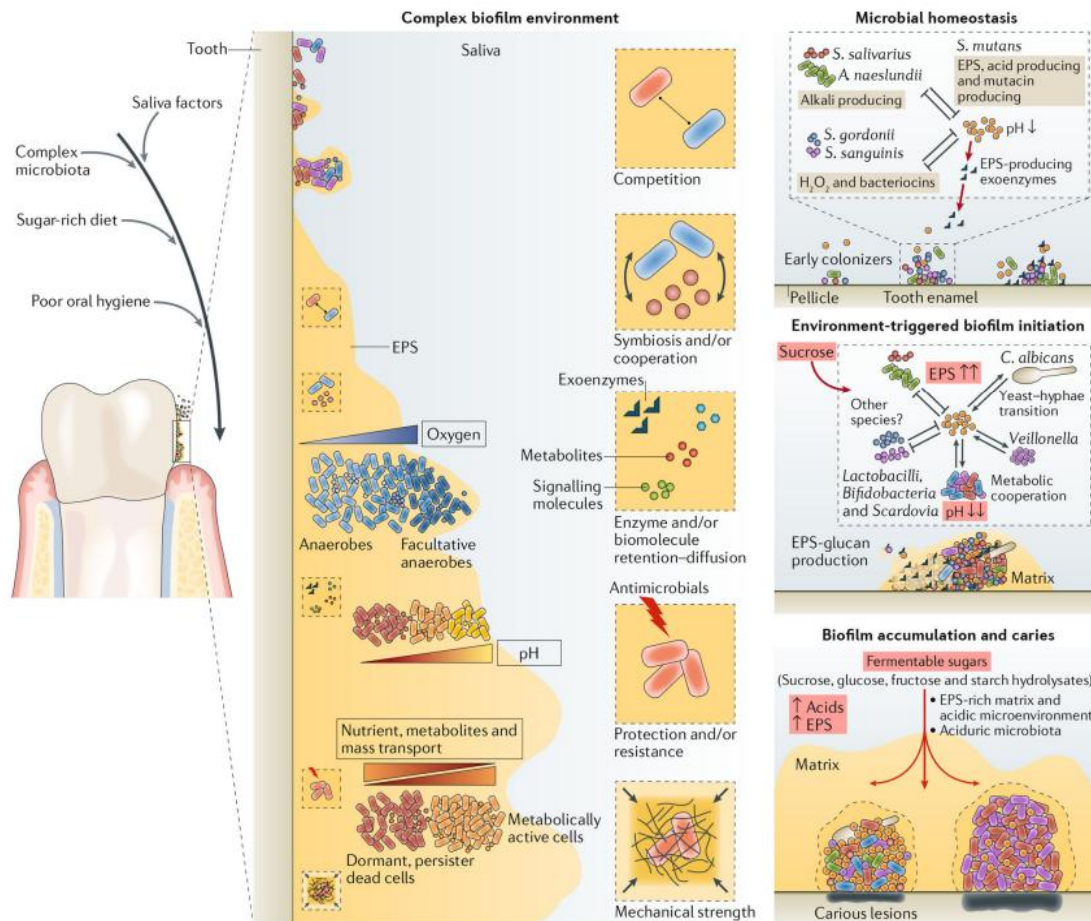


FIGURE 1 : MISE EN PLACE DU BIOFILM ET TRANSITION VERS LA DYSBIOSE CARIEUSE (LAMONT ET AL., 2018)

Les interactions entre les facteurs salivaires, le microbiote oral, l'apport en sucres et l'hygiène influencent la structure du biofilm. Le biofilm se caractérise par une architecture spécifique, avec des gradients d'oxygène et de pH, une structure de transport de métabolites et de nutriments. En situation d'homéostasie, les espèces commensales maintiennent un équilibre microbien protecteur. En revanche, une alimentation riche en sucres et un déséquilibre écologique favorisent l'initiation du biofilm pathogène, l'accumulation de bactéries acidogènes et aciduriques, et la formation de lésions carieuses.

I-1.3 Le système immunitaire oral

Le système immunitaire (SI) a pour fonctions de défendre l'organisme contre les invasions pathogènes et de le maintenir dans un état d'intégrité fonctionnelle. Traditionnellement, le SI est décrit à travers deux composantes principales : l'immunité innée et l'immunité adaptative. Cette distinction reste toutefois artificielle, car ces deux dimensions s'inscrivent en réalité dans un continuum dynamique. Néanmoins, cette simplification demeure nécessaire pour mieux comprendre et analyser les multiples acteurs et interactions qui caractérisent la réponse immunitaire (Spatafora et al., 2024; Warrick et al., 2025). La cavité orale constitue une interface majeure entre l'organisme et l'environnement, dotée d'un réseau immunitaire spécialisé. Elle est, par excellence, un site essentiel d'échanges de l'organisme avec le milieu extérieur (alimentation, respiration, contacts individuels, ...). Le SI oral constitue donc une interface privilégiée avec le milieu extérieur. Sur le plan fonctionnel il est intégré au complexe des

MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tissue), c'est-à-dire l'ensemble des tissus lymphoïdes secondaires associés aux muqueuses. Les tissus oraux et pharyngés s'articulent autour de l'anneau lymphoïde de Waldeyer, constitué des amygdales palatines, linguales, pharyngées et tubaires (Figure 2) (Brandtzaeg, 2010; Şenel, 2021a).

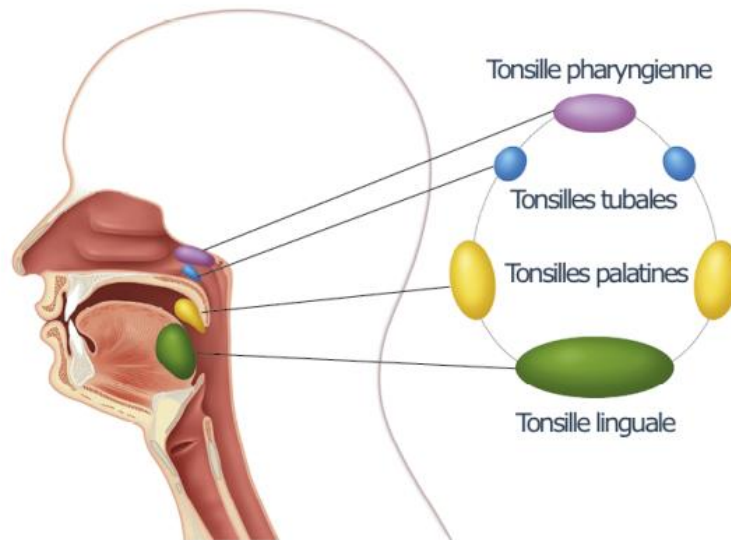


FIGURE 2 : L'ANNEAU DE WALDEYER COMPOSÉ DES TONSILLES PHARYNGIENNE, TUBAIRES, PALATINE ET LINGUALE

Ces structures abritent une forte densité de cellules dendritiques, macrophages et lymphocytes B et T, assurant la capture des antigènes et l'initiation des réponses immunitaires adaptatives. Elles fonctionnent comme des sites privilégiés d'induction de l'immunité muqueuse, notamment via la production d'immunoglobulines A sécrétées (sIgA), essentielles à la neutralisation des pathogènes. Ce dispositif est complété par un réseau de ganglions cervicaux drainant les tissus buccaux et gingivaux, permettant la coordination entre immunité locale et systémique. L'ensemble de ce réseau immuno-lymphatique confère à la cavité orale un rôle central dans la surveillance immunitaire et dans le maintien de l'équilibre entre tolérance vis-à-vis du microbiote commensal et défense contre les agents pathogènes (Foley, 2013).

I-1.4 L'immunité innée

I-1.4.1 Les premières étapes de la défense immunitaire

L'immunité innée est la première ligne de défense de l'organisme. Elle a pour objectif de répondre immédiatement à une agression, souvent par un pathogène microbien, mais cela peut être par d'autres agents de nature variable (Mogensen, 2009). Ce système est activé dans les secondes qui suivent l'agression et il agit dans les heures qui suivent et sur plusieurs jours, avant la mise en place de la réponse immunitaire adaptative aux antigènes. Ce système repose sur la détection de « signaux de danger » émis ou portés par l'agresseur et qui sont détectés par les cellules épithéliales, conjonctives, dermiques, ou immunes et qui vont en bout de chaîne déclencher l'activation et l'infiltration de cellules immunes innées qui assurent la gestion de la majorité de ces agressions (Şenel, 2021). Parmi les cellules de l'immunité innée, on retrouve les cellules de Langherans, les cellules dendritiques, les monocytes/macrophages, les neutrophiles, les cellules Natural Killer (NK), ect. (Delneste et al., 2007). Ces processus mettent en jeu l'activation de mécanismes cellulaires induits par l'activation de récepteurs

membranaires et cytoplasmiques appelés, les « pattern recognition receptors » (PRR). Ces PPR ont la capacité d'identifier de nombreuses signatures moléculaires conservées, nommés “motifs” (Farges et al., 2009; Şenel, 2021).

On peut distinguer deux types de motifs :

- Les PAMP, *pathogen associated molecular pattern* qui sont exprimés par les pathogènes. Par exemple, de nombreuses molécules bactériennes telles que les lipopolysaccharides (LPS), les peptidoglycanes, la flagelline, l'acide téichoïque sont reconnues par ces récepteurs. Les ADN et ARN et les protéines glycosylées pour les virus, ou encore les β -glucanes pour les champignons.
- Les DAMP *damage associated molecular pattern* qui sont des molécules produites ou larguées par les cellules du sujet en cas de dommage ou de stress cellulaire.

De nombreuses familles de PRR ont été découvertes. Les familles des Toll-like receptor (TLR), des récepteurs lectines de type-C (CLR) et des NOD-like receptor (NLR) sont les plus connues. La stimulation de ces récepteurs au niveau cellulaire active des voies de signaling intracellulaires qui vont induire au niveau génique la production des principaux éléments de la réponse inflammatoire comme l'histamine, sécrétée par les mastocytes, qui agit sur la perméabilité vasculaire et la formation de l'œdème et le déclenchement de la douleur. Mais aussi notamment des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , TNF- α , IL-6...), des chimiokines (IL-8, CCL2, etc.), les interférons de type I et des médiateurs lipidiques pro-inflammatoires (Prostaglandines, Leucotriènes, Thromboxanes) et des molécules antimicrobiennes (NO, ROS, peptides antimicrobiens) (Delneste et al., 2007; Warrick et al., 2025). Les mécanismes d'induction de ces voies d'activation inflammatoires impliquent l'intervention de structures intracellulaires très spécialisées et appelées « inflammasomes » (voir paragraphe I-1.4.2).

Ainsi, l'agression microbienne provoque la libération de composants inflammatoires et de toxines, lesquels déclenchent la réponse innée au travers d'une cascade de réactions et de boucles d'amplifications (Figure 3) qui permettent le plus souvent de contrôler l'agression (Galler et al., 2021).

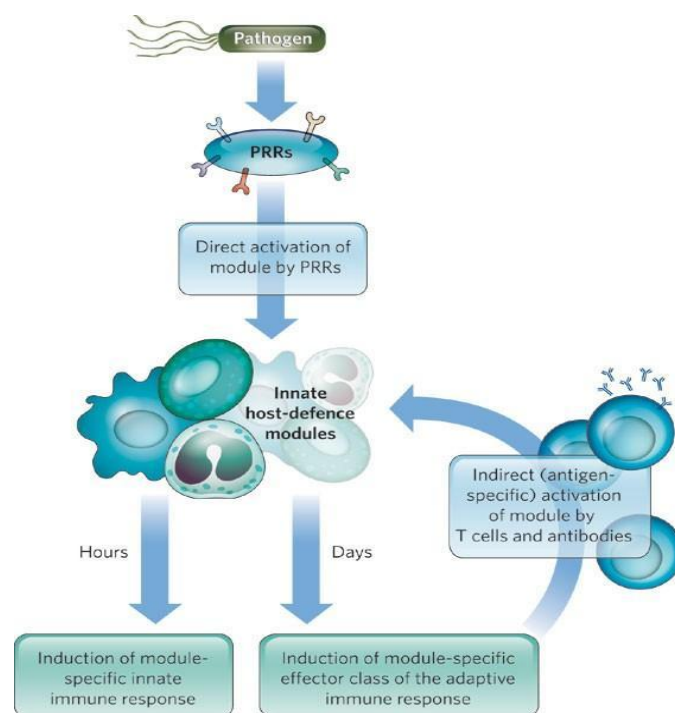


FIGURE 3 : ETAPES DE LA RÉPONSE IMMUNITAIRE (MEDZHITOV, 2007)

I-1.4.2 L'inflammasome : un complexe de signalisation de l'immunité innée

L'inflammasome est un complexe intracellulaire clé dans l'immunité innée. Lors d'une infection, la reconnaissance des PAMP par les TLR induit l'activation de la voie NF- κ B, conduisant à une augmentation de l'expression de NLRP3. Un second signal, relayé par les PRR, est ensuite requis pour déclencher un changement conformationnel de NLRP3, facilitant son interaction avec ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) et la procaspase-1. L'assemblage de ces composants aboutit à la formation du complexe hétéroheptamérique NLRP3-inflammasome, au sein duquel la caspase-1 est activée. Cette activation entraîne le clivage de la pro-IL-1 β et de la pro-IL-18 en leurs formes matures, qui sont ensuite sécrétées. Parallèlement, la caspase-1 induit la pyroptose de la cellule, une forme inflammatoire de mort cellulaire programmée (Figure 4).

L'activation de l'inflammasome NLRP3 et la pyroptose qui en découle favorisent la libération d'IL-1 β , laquelle stimule à son tour la production de médiateurs pro-inflammatoires additionnels, notamment IL-6. IL-6 joue un rôle central dans la différenciation des lymphocytes T auxiliaires de type 17 (Th17), induisant une sécrétion accrue d'IL-17 (Figure 4). Cette dernière favorise le recrutement des polynucléaires neutrophiles et amplifie l'inflammation locale. De manière importante, IL-17 peut également induire la production d'IL-1 β , établissant ainsi une boucle de rétroaction positive susceptible d'entretenir un état inflammatoire chronique. Bien que l'axe IL-17-pyroptose soit largement caractérisé dans d'autres tissus, son implication dans les mécanismes inflammatoires des tissus oraux reste encore méconnue. Des données émergentes suggèrent toutefois que l'IL-17 pourrait moduler indirectement les voies pyroptiques en intensifiant les réponses inflammatoires locales (Al Natour et al., 2023).

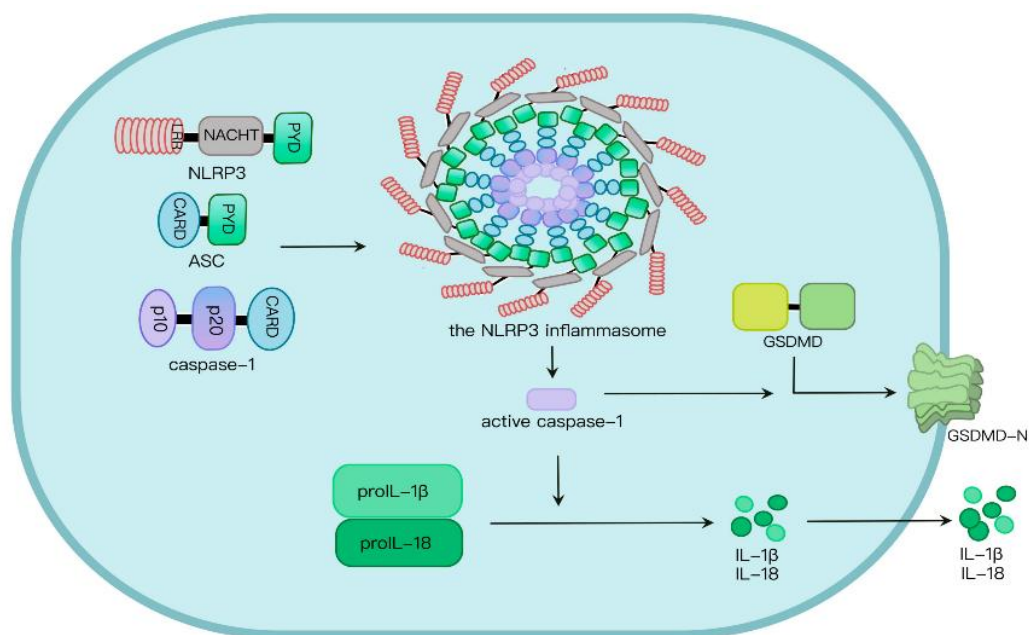


FIGURE 4 : MÉCANISMES DE L'INFLAMMASOME (XIA ET AL., 2023)

I-1.5 L'immunité adaptative

I-1.5.1 Lymphocytes B et lymphocytes T : les deux piliers de l'immunité adaptative

La réponse immunitaire adaptative est déclenchée par l'exposition de l'organisme à un antigène du non-soi, le plus souvent un antigène microbien, et elle nécessite un délai de plusieurs jours avant de devenir effective. En effet, les cellules de l'immunité adaptative, principalement les lymphocytes T (LT) et les lymphocytes B (LB) nécessitent d'être activées de manière spécifique par une rencontre préalable avec les antigènes de l'agresseur.

Suite à cette activation :

- Les LT prolifèrent de manière clonale et ils vont jouer un rôle fondamental, soit en orchestrant la réponse immune adaptative grâce aux LT, dits auxiliaires, qui sont caractérisés par l'expression de la protéine CD4 (T-CD4) et sont déclinés en sous-populations polarisés ou « helper » (Th1, Th2, ...), soit grâce au LT, dits cytotoxiques, qui expriment la protéine CD8 (T-CD8) et qui en détruisent de manière spécifiques les cellules qui expriment les antigènes du pathogène.
- Les LB sont les acteurs de l'immunité humorale, la présence des antigènes microbiens à la surface des cellules infectées, circulants, ou à la surface de bactéries, parasites et champignons active les LB par leur récepteur BCR. Sous le contrôle des T-CD4, les LB réalisent une expansion clonale, se différencient en plasmocytes, lesquels sécrètent des anticorps capables d'inactiver les virus, activer la phagocytose des pathogènes ou encore d'induire la destruction de cibles cellulaires ou microbiennes.

De plus, la réponse adaptative s'appuie sur une mémoire des expositions antérieures, ce qui permet lors d'un second contact avec le même pathogène d'induire une réponse plus intense et plus rapide (Chi et al., 2024; Walker, 2004).

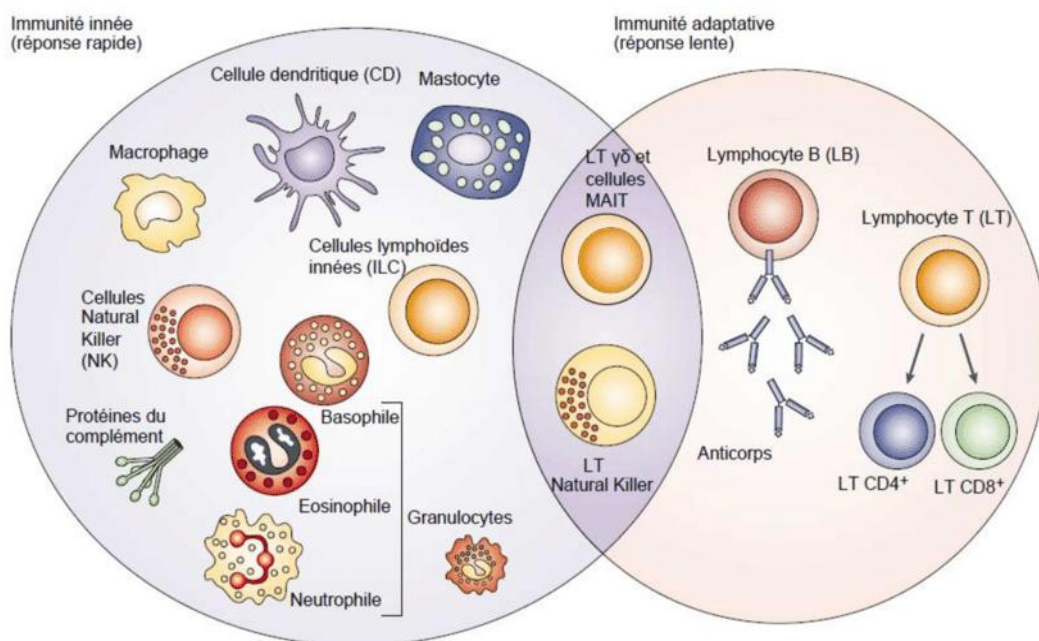


FIGURE 5 : ACTEURS DE LA RÉPONSE IMMUNITAIRE INNÉE ET ADAPTATIVE (DRANOFF, 2004)

On distingue classiquement deux grands types de cellules de l'immunité adaptative (Figure 5) :

- Les LB : Acteurs de l'immunité humorale. Ils se différencient en plasmocytes pour générer des anticorps (leurs récepteurs) qui vont cibler de manière très spécifique les antigènes. L'association entre l'anticorps et l'antigène (complexe immun) va faciliter la phagocytose de l'antigène.
- Les LT : L'immunité à médiation cellulaire provient de la réponse des LT

I-1.5.2 Activation et polarisation des lymphocytes T

L'immunité innée et l'immunité adaptative sont étroitement connectées. Les cellules dendritiques sont des véritables cellules sentinelles qui jouent un rôle central dans ce continuum. Elles possèdent la capacité de migrer vers les ganglions du réseau lymphatique afin de présenter l'antigène, en particulier aux LT CD4⁺, dont l'activation signe l'induction de la réponse adaptative. Contrairement aux LB, qui reconnaissent l'antigène sous sa forme native, les LT nécessitent que celui-ci soit maturé et présenté par une CPA. L'établissement de la synapse immunologique, entre la CPA et le T-CD4 repose sur plusieurs interactions: i) la reconnaissance de l'antigène, présenté par le CMH de classe II, par le récepteur TCR associé à la protéine CD4, ii) la co-stimulation assurée par le couple CD28-CD80/86, iii) l'action des cytokines impliquées dans la différenciation lymphocytaire, ainsi que iv) l'intervention de molécules d'adhésion, qui garantissent la stabilité et la durée du contact (Figure 6) (Chi et al., 2024; Walker, 2004).

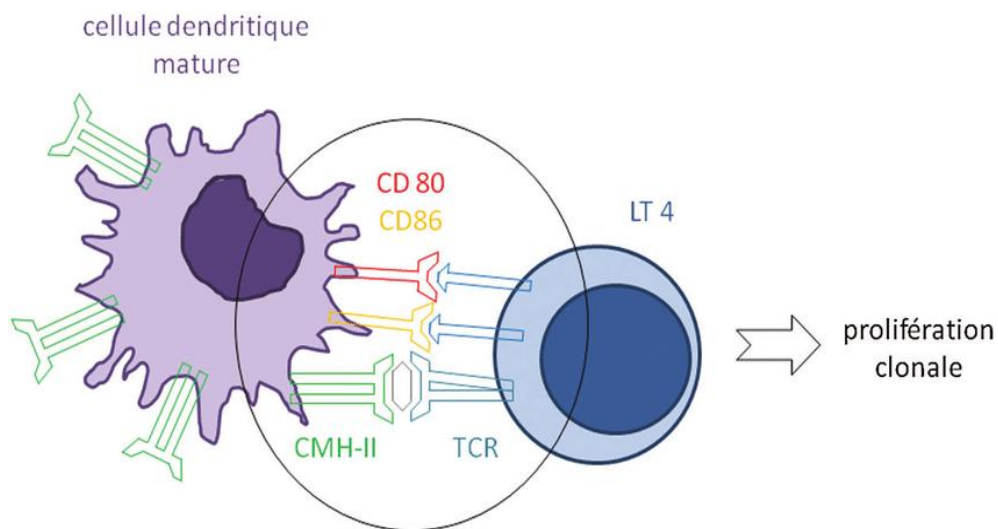


FIGURE 6 : MÉCANISMES DE LA SYNAPSE IMMUNOLOGIQUE (POUREAU & METGES, 2021)

Les LT, alors activés, sortent de leur état de quiescence et réalisent une expansion clonale, puis se différencient en cellules T effectrices de différents types (polarisation) (Figure 6). L'orientation de la différenciation des LT est notamment orientée en fonction du gradient de cytokines présent dans le milieu environnant. Selon cette polarisation, la réponse immunitaire peut adopter une dimension pro-inflammatoire ou, au contraire, régulatrice et anti-inflammatoire. Les LT ainsi différenciés sécrètent ensuite, à leur tour, des médiateurs solubles, notamment des cytokines et des chimiokines, spécifiques de polarisation vers une orientation fonctionnelle (Chi et al., 2024).

I-1.6 Les cytokines comme médiateurs clés

Après la reconnaissance du pathogène, les cellules immunitaires activées vont produire des médiateurs dont les effets combinés vont permettre le recrutement des cellules circulantes, l'élimination du pathogène et la réparation de la lésion.

Parmi ces médiateurs, on peut retrouver :

- L'histamine qui est sécrétée par les mastocytes. Elle permet la perméabilité vasculaire et, par son action sur le système nerveux, le déclenchement de la douleur.
- Les cytokines pro-inflammatoires qui permettent la communication entre les cellules de l'immunité et l'orientation de la réponse suivant la nature du signal détecté. Les chimiokines (appartenant à la famille des cytokines) sont impliquées dans la migration des cellules vers le site enflammé.

Les cytokines sont des petites protéines produites par presque toutes les cellules pour réguler et influencer la réponse immunitaire. Dans toute réponse immunitaire, il y a une libération simultanée de cytokines pro et anti-inflammatoires. L'orientation de la réponse immunitaire dépendra du gradient de concentration de ces cytokines dans l'environnement (Figure 7).

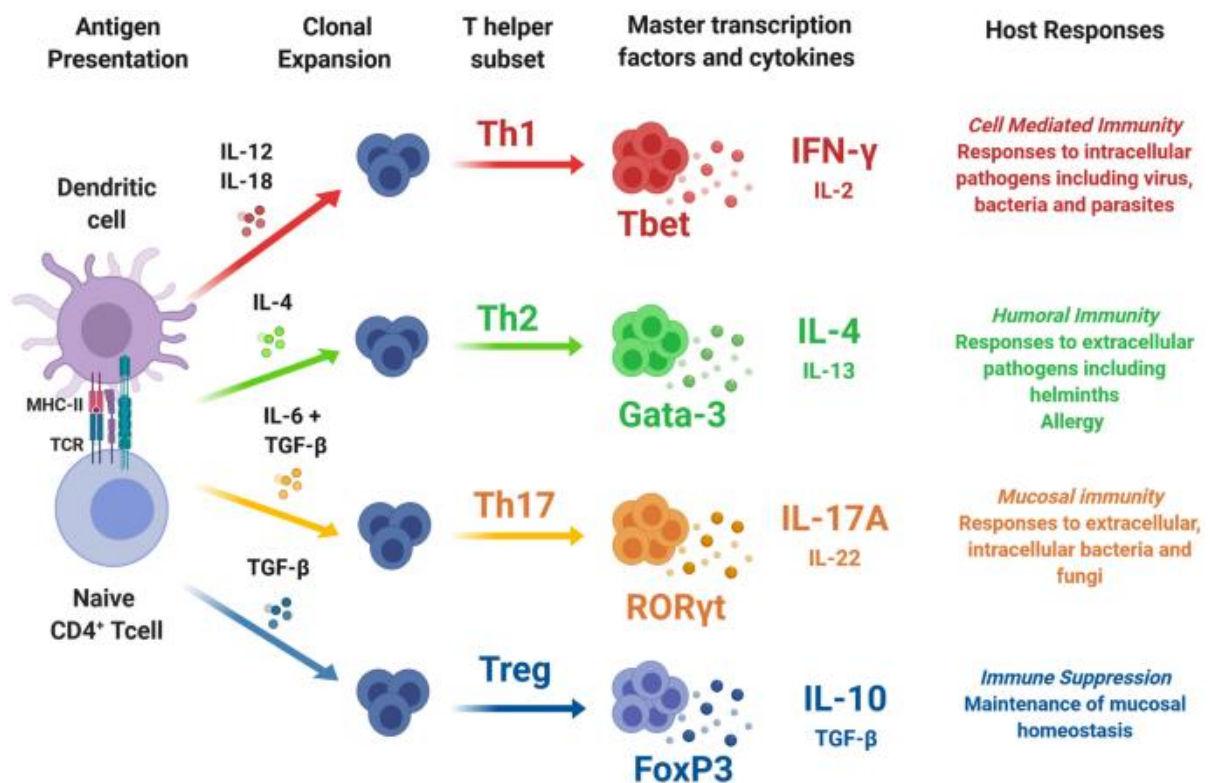


FIGURE 7 : ORIENTATION DE RÉPONSE LYMPHOCYTAIRE T EN FONCTION DES MOLÉCULES DE CO-STIMULATIONS (CORRIPIO-MIYAR ET AL., 2022)

La présentation de l'antigène par les cellules dendritiques, associée à des signaux cytokiniques spécifiques présent dans l'environnement, oriente la différenciation vers différents profils effecteurs. Les profils connus sont : Th1 (immunité cellulaire) ou Th2 (immunité humorale) ou Th17 (immunité muqueuse) ou Treg (immunosuppression et homéostasie).

I-1.3.1 Les cytokines pro-inflammatoires

Les cytokines pro-inflammatoire orientent la réponse immunitaire vers une voie inflammatoire. Elles stimulent la production de médiateurs et activent les cellules immunitaires effectrices. Les cytokines pro-inflammatoire majeures sont (Figure 8) :

- **IL-1 β** :

La famille des Interleukines-1 (IL-1) regroupe l'IL-1 α , l'IL-1 β et l'IL-33. Ce sont les premières cytokines à avoir été découvertes en 1974. L'IL-1 β est une cytokine majeure de l'inflammation. Elle est impliquée dans les réponses immunitaires auto-immune ou infectieuse.

Elle est sécrétée par les cellules immunitaires (macrophages, monocytes, cellules dendritiques, neutrophiles) mais également par des cellules non immunitaires (épithéliales, endothéliales) en réponse à des lésions tissulaires ou à l'invasion de pathogènes. L'IL-1 β peut être également activée par la voie de l'inflammasome NLRP3, qui clive la pro-IL-1 β en forme active et en permet la sécrétion, notamment par l'induction de la pyroptose. L'IL-1 β exerce des effets pléiotropes. Elle favorise la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire et recrute les leucocytes sur le site de l'infection ou de la lésion, contribuant aux symptômes classiques de l'inflammation (rougeur, gonflement, chaleur et douleur). Elle possède également un rôle important dans l'induction de la fièvre en stimulant la production de prostaglandines au niveau central.

Au niveau de la réponse immunitaire innée, l'IL-1 β favorise le recrutement des neutrophiles et des monocytes sur le site de l'infection. Elle active également ces cellules, améliorant leurs fonctions de phagocytose et de destruction des pathogènes. L'IL-1 β induit la production d'autres cytokines pro-inflammatoires comme l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α). L'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF- α constituent un « triangle inflammatoire » central de l'immunité innée. Leur action synergique accélère la mise en place de l'immunité, mais une activation persistante peut contribuer au maintien d'une inflammation chronique. Concernant la réponse immunitaire acquise, l'IL-1 β en synergie avec l'IL-6 et l'IL-23, favorise l'activation et le recrutement des LT en orientant la réponse vers la voie TH17. Si cette polarisation est aggravante dans les maladies auto-immune, elle demeure essentielle pour l'élimination des agents infectieux des sites muqueux (Silva et al., 2024). Du fait de sa puissante action pro inflammatoire, cette cytokine peut également avoir des effets délétères et être impliquée dans de nombreuses maladies.

- **IL-2** :

L'interleukine-2 (IL-2) est une cytokine avec des rôles pléiotropiques nombreux. Initialement découverte comme facteur de croissance des LT, elle s'est avérée avoir des effets complexes et variés. Le rôle principal de l'IL-2 est d'agir comme un facteur de croissance majeur pour les LT. Elle stimule la prolifération des LT activés (CD4⁺ helper et CD8⁺ cytotoxiques), contribuant à l'expansion clonale des lymphocytes spécifiques à l'antigène lors d'une réponse immunitaire.

- **IL-6** :

Décrite pour la première fois en 1973, l'interleukine-6 (IL-6) est produite principalement par les LT et les macrophages. Au sein de la dent, cette cytokine sera également exprimée par les odontoblastes. Son expression est régulée par d'autres cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β et le TNF- α

(Grebenciucova & VanHaerents, 2023). L'IL-6 est un vrai marqueur de la transition entre l'immunité innée et adaptative. Elle favorise le recrutement, sur site, des cellules immunitaires en augmentant la perméabilité vasculaire. Cette interleukine renforce également la différenciation des LT, la croissance des LB et la différenciation des monocytes en macrophages. L'IL-6 favorise la réponse immunitaire Th2 en induisant les LT CD4⁺ à sécréter de l'IL-4. Elle diminue également la sécrétion d'IFN- γ , une cytokine essentielle à la polarisation Th1. Cependant, en synergie avec TGF β 1, l'IL-6 oriente la différenciation des CD4⁺ en Th17. Elle possède un rôle important dans les infections bactériennes, et est ainsi exprimée à la hausse dans la pulpe enflammée.

Toutefois, une dérégulation de cette cytokine peut être à l'origine de pathologies inflammatoires (Grebenciucova & VanHaerents, 2023). En effet, une production excessive d'IL-6 est présente dans les maladies inflammatoires auto-immunes comme l'arthrite, la sclérose en plaques ou l'ostéoporose. De ce fait, elle constitue un biomarqueur utile pour suivre l'évolution de l'inflammation dans des pathologies infectieuses, auto-immunes ou cancéreuses.

- **IL-8 :**

Également appelée CXCL8, l'interleukine-8 (IL-8) est une chimiokine pro-inflammatoire. Son action principale est d'agir comme un puissant facteur chimio-attractif pour les neutrophiles. L'IL-8 est produite par diverses cellules, notamment les macrophages, les cellules épithéliales et endothéliales, en réponse à des signaux inflammatoires (comme les cytokines IL-1 β et TNF- α , ou les produits bactériens tel que le LPS). Son gradient de concentration guide les neutrophiles de la voie sanguine vers le tissu enflammé ou infecté.

- **IL-12p70 :**

L'interleukine-12 (IL-12) est produite principalement par les cellules dendritiques et les macrophages. Il s'agit d'une cytokine pro-inflammatoire qui contribue à la réponse cytotoxique. Elle possède un rôle majeur dans l'orientation de la réponse immunitaire vers la polarisation Th1. Elle permet également d'activer les cellules NK en induisant la production d'IFN- γ . L'amplification de la production d'IFN- γ crée une boucle de rétro-activation qui renforce l'immunité antitumorale.

- **IL-17 :**

L'interleukine-17 (IL-17) est une cytokine pro-inflammatoire qui joue un rôle essentiel dans la défense de l'hôte contre les infections extracellulaires, en particulier les champignons et les bactéries. L'IL-17 est principalement sécrétée par les LT Th17. Leur différenciation et la production d'IL-17 sont induites par un ensemble de cytokines, notamment l'IL-23, l'IL-6 et le TGF- β . Il existe une famille de six cytokines IL-17 (IL-17A, B, C, D, E/IL-25 et F). L'IL-17A est la mieux étudiée et est souvent considérée comme la principale cytokine pro-inflammatoire de cette famille. Dans l'inflammation, l'IL-17 stimule les cellules épithéliales et d'autres types de cellules à produire des peptides antimicrobiens tels que les défensines. L'IL-17 induit également la production de chimiokines comme l'IL-8 qui attirent les neutrophiles sur le site de l'infection. L'IL-17 stimule d'autres part diverses cellules (fibroblastes, macrophages, cellules endothéliales) à produire d'autres cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β , le TNF- α et l'IL-6, amplifiant ainsi la réponse inflammatoire. Cependant, une production excessive d'IL-17 est également impliquée dans la pathogenèse de nombreuses maladies inflammatoires et auto-immunes.

- **Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) :**

Le TNF- α est une cytokine produite par les macrophages, les cellules dendritiques et les mastocytes. Initialement identifié pour son action cytotoxique contre les cellules tumorales, il joue un rôle clé dans la survie cellulaire et la réponse pro-inflammatoire. Cette cytokine favorise la production de chimiokines qui attirent les leucocytes vers le site d'inflammation, induit une vasodilatation facilitant l'accès des cellules immunitaires, et augmente l'expression des molécules d'adhésion nécessaires à l'extravasation des monocytes et des neutrophiles. Enfin, le TNF- α stimule la production de facteurs de croissance impliqués dans la réparation tissulaire.

- **Interféron gamma (IFN- γ) :**

L'IFN- γ est une cytokine produite principalement par les LT et les cellules NK. Son rôle principal est d'attirer et d'activer les monocytes, sur le site de l'infection. L'IFN- γ oriente la réponse immunitaire vers un profil Th1, favorisant l'immunité à médiation cellulaire, et régule l'expression des molécules du CMH, cruciales pour la présentation de l'antigène. Finalement, l'IFN- γ participe également à renforcer l'immunité antivirale en induisant un état de résistance virale dans les cellules et en augmentant la reconnaissance des cellules infectées. Cette cytokine possède un rôle central contre les infections et anomalies intracellulaires.

1.3.2 Les cytokines anti-inflammatoires

A contrario, les cytokines anti-inflammatoires vont orienter la réaction immunitaire vers la réparation tissulaire en limitant l'inflammation et en favorisant la cicatrisation. Les cytokines clés anti-inflammatoires sont (Figure 9) :

- **IL-4 :**

L'interleukine-4 (IL-4) est une cytokine pléiotrope. Sa fonction principale est de réguler la réponse immunitaire, en particulier en favorisant la polarisation des LT helper en Th2 et en inhibant la réponse de type Th1. Elle possède également une action autocrine et paracrine, une fois différenciées, les cellules Th2 produisent elles-mêmes de l'IL-4, créant une boucle de rétroaction positive. Concernant les LB, l'IL-4 favorise la croissance et la maturation en plasmocytes. Elle induit également les LB à produire la commutation isotypique des anticorps des classes IgE et IgG4. Sur d'autres cellules immunitaires, l'IL-4, avec l'IL-13, induit la différenciation des macrophages vers le phénotype M2, qui sont impliqués dans la résolution de l'inflammation, la réparation tissulaire et la suppression immunitaire.

- **IL-10 :**

L'interleukine-10 (IL-10), cytokine anti-inflammatoire produite par de nombreuses cellules telles que les LT régulateurs, macrophages, cellules dendritiques et certaines cellules pulpaires. Elle possède une place centrale dans la régulation de la réponse immunitaire en inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β , l'IL-6, l'IL-8, le TNF- α et l'IFN- γ . L'IL-10 contribue à réduire les lésions tissulaires et au retour à l'homéostasie, en limitant l'activation des cellules immunitaires, en diminuant l'expression des molécules pro-inflammatoire et en favorisant un environnement favorable à la réparation.

Certaines cytokines comme l'IL-2, l'IL-4 et l'IL-6 sont immunorégulatrices. Leurs effets pléiotropes leur confère la capacité de jouer un rôle anti-inflammatoire ou pro-inflammatoire sous certaines conditions.

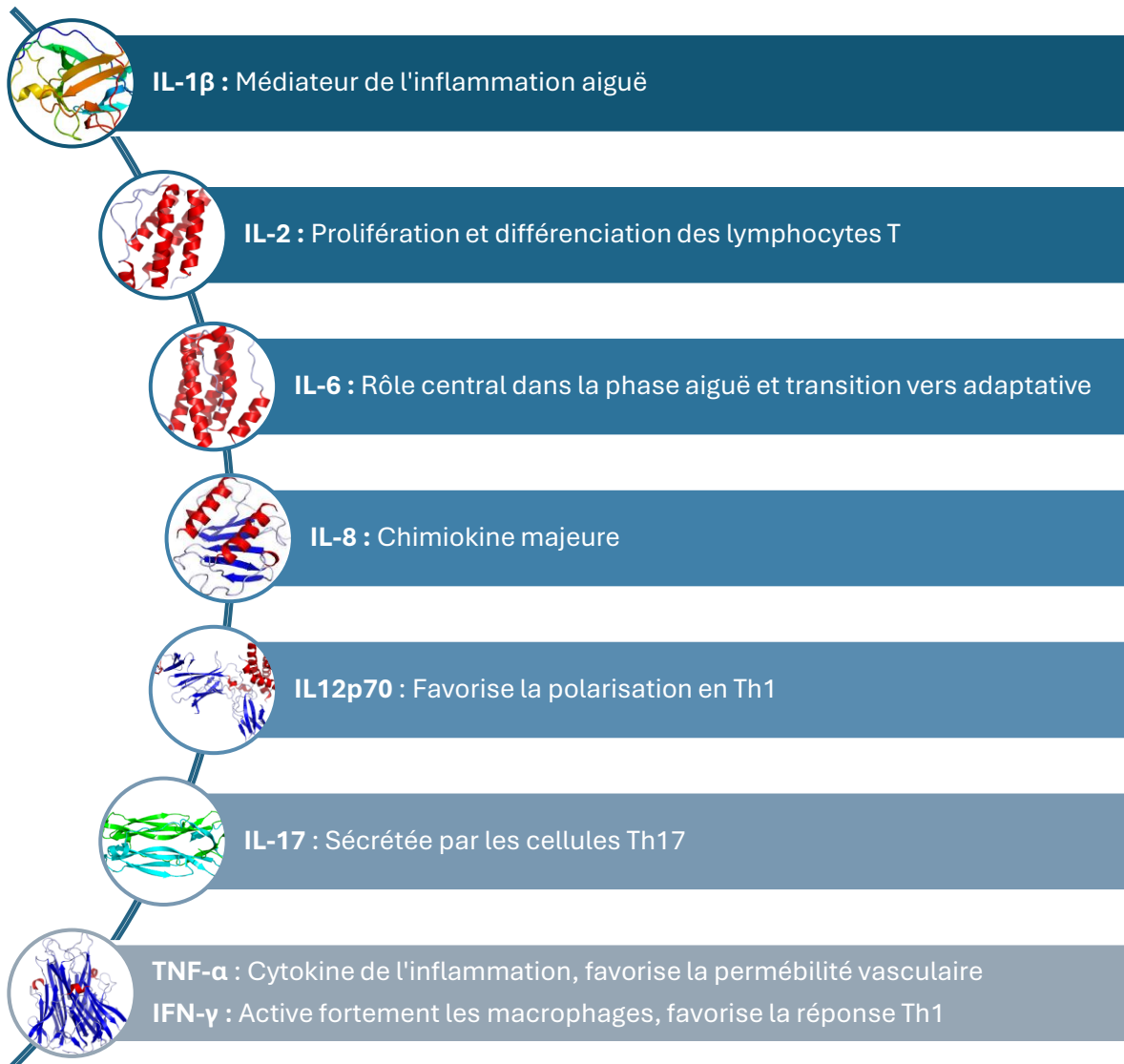


FIGURE 8 : FONCTION MAJEURE DES CYTOKINES CLASSÉES COMME « PRO-INFLAMMATOIRES »

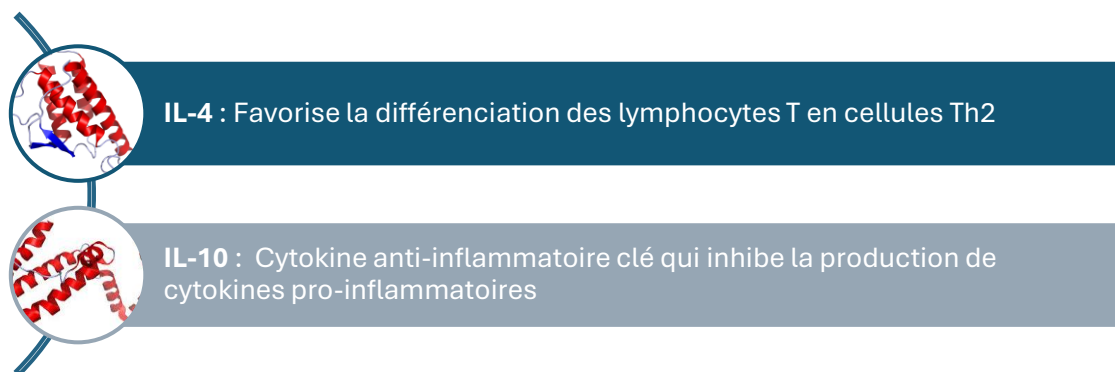


FIGURE 9 : FONCTION MAJEURE DES CYTOKINES CLASSÉES COMME « ANTI-INFLAMMATOIRES »

I-2. Immunité et pathologies orales : sous le prisme de la maladie carieuse

I-2.1 La maladie carieuse : une pathologie biofilm-dépendante

I-2.1.1 Définition et fondements

La maladie carieuse est la pathologie la plus fréquente dans le monde avec 2,3 milliards de personnes atteintes de lésions non traitées en dentition permanente (Giacaman et al., 2022). C'est une maladie chronique non transmissible, plurifactorielle, qui résulte de l'apparition d'une dysbiose des biofilms supra-gingivaux. La dysbiose est notamment provoquée par la modification de l'écosystème oral à la suite d'une consommation fréquente de glucides fermentescibles et elle est également associée à une hygiène bucco-dentaire insuffisante (Figure 10) (Spatafora et al., 2024). La consommation de sucre reste cependant le principal facteur contribuant à l'apparition et la progression de la maladie (Ev et al., 2023).

En effet, l'ingestion fréquente de sucre entraîne une modification de la composition du biofilm bactérien en sélectionnant des espèces bactériennes aciduriques et acidogènes telles que *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* ou certaines espèces de *Lactobacillus*. Le métabolisme acidogène de ces bactéries favorise la croissance d'espèces acidotolérantes, tout en inhibant les microorganismes bénéfiques au maintien de l'homéostasie orale. L'environnement acide, s'il se perpétue, va entraîner une déminéralisation de la surface dentaire (Giacaman et al., 2022). L'abaissement du pH de la plaque en dessous de 5,5 est considéré comme le niveau d'acidité nécessaire à l'initiation de la déminéralisation de l'émail (Featherstone, 2000).

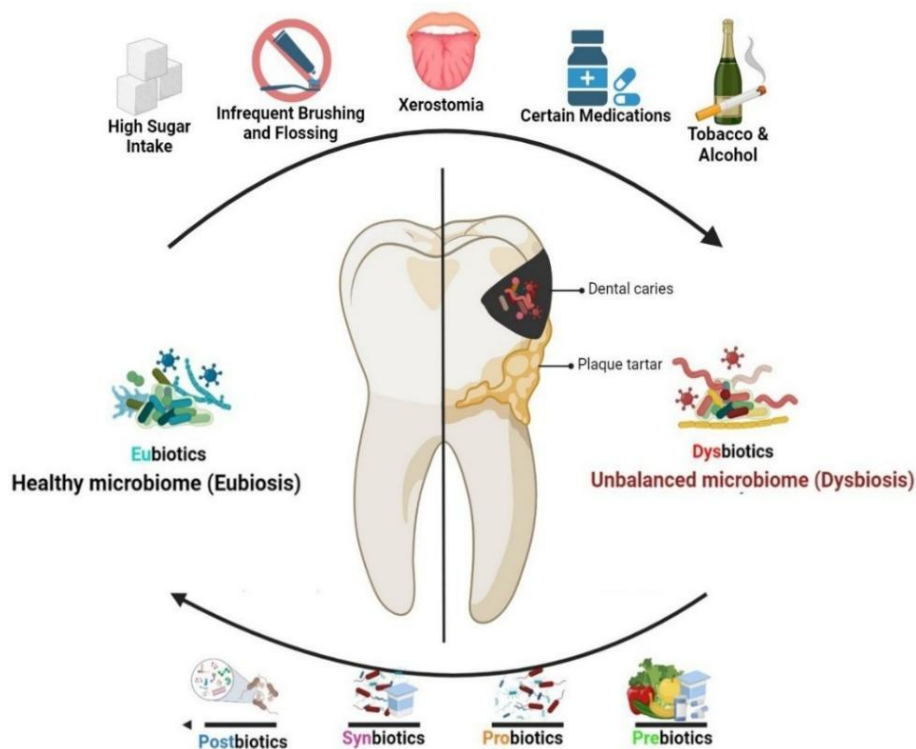


FIGURE 10: ENSEMBLE DES FACTEURS MODIFIANT L'ENVIRONNEMENT ORAL À L'ORIGINE DE LA DYSBIOSE (BANAKAR ET AL., 2024)

Les trois facteurs étiologiques de la maladie carieuse ont été énoncé dès 1962 et désignés comme « la Trilogie de Keyes » (Keyes, 1968):

- L'exposition au sucre, en particulier le saccharose, qui est le principal facteur de production d'acides dans les communautés bactériennes.
- La plaque bactérienne, par sa modification, engendre une sélection de bactéries qui se structurent, s'organisent et gagnent ainsi en virulence.
- L'individu, sa capacité immunitaire, son patrimoine génétique et de nombreux autres facteurs jouent également un rôle majeur dans la maladie.

Par la suite, une dimension temporelle a été intégrée dans ce modèle, soulignant que la maladie carieuse s'inscrit dans un processus évolutif de longue durée. Ainsi, la définition multifactorielle a été réévaluée et le schéma de Keyes a été enrichi, notamment grâce à la théorie de Newburn (Figure 11) (Newbrun, 1982; Reich et al., 1999). Depuis, de nombreux autres déterminants de la maladie carieuse ont été identifiés, tels que les facteurs socio-économiques, biologiques ou encore génétiques, qui exercent une influence majeure sur son développement tout au long de la vie (WHO, *Ending Childhood Dental Caries*; Fejerskov, 2004; Usha & R, 2009).

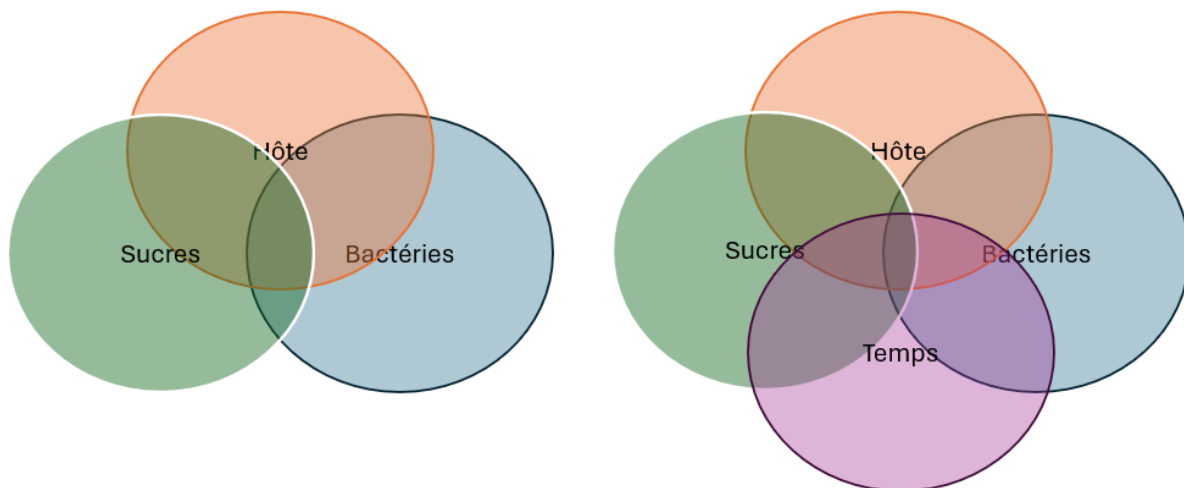


FIGURE 11 : THÉORIE DE KEYS (KEYES, 1968), REVISITÉ PAR NEWBURN EN (NEWBRUN, 1982)

D'un point de vue histologique : Les tissus durs (émail et dentine) constituent la surface externe de la dent, tandis que la pulpe en constitue le milieu interne. L'émail, minéralisé et dépourvu de cellules, protège la dent contre les agressions mécaniques et chimiques. La dentine, structure élastique moins minéralisée, est parcourue par des tubuli dentinaires qui assurent une communication entre la surface externe et la pulpe. La pulpe est alimentée par un réseau vasculaire pulpaire qui représente environ 40% de son volume. Le foramen apical est le lieu de passage des vaisseaux alvéolaires supérieurs et inférieurs, ainsi qu'au retour veineux par des veines collectrices (França et al., 2019). A ce réseau sanguin s'ajoute les vaisseaux lymphatiques, impliqué dans la réponse immunitaire et dans le drainage des médiateurs de l'inflammation (Figure 12). La pulpe abrite également un riche réseau de fibres nerveuses sensibles, responsable de la perception douloureuse et de la modulation des réponses neuro-immunes.

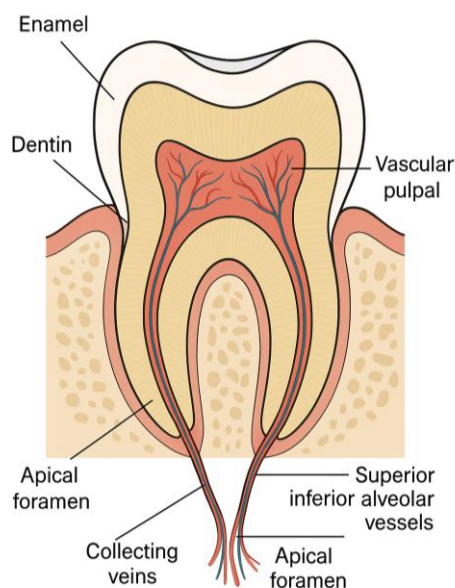


FIGURE 12: LES DIFFÉRENTS TISSUS COMPOSANT LA DENT

L'émail est un tissu hautement minéralisé ($\approx 96\%$) organisé en prismes et substance interprismatique, séparés par des espaces intercrystallins qui contiennent de l'eau et de la matière organique (Figure 13). L'émail est exposé de manière constante à des cycles de déminéralisation, notamment suite aux variations alimentaires, et de reminéralisation rendus possible grâce aux apports ioniques de la salive et du fluor. Les espaces intercrystallins sont affectés lors de la chute du pH en dessous du seuil critique ($\approx 5,5$), et constituent alors une voie de pénétration pour les microorganismes lorsque cette chute se maintient dans le temps. La lésion amélaire apparaît histologiquement sous forme triangulaire (Figure 14), avec une pointe dirigée vers la jonction amélo-dentinaire (JAD). Quatre zones principales sont décrites : la zone translucide (front de progression, porosité faible), la zone sombre (siège de phénomènes de reminéralisation), le corps de lésion (fortement déminéralisé et poreux) et la couche de surface (relativement préservée malgré la déminéralisation sous-jacente). Lorsque le processus évolue, la surface amélaire finit par s'effondrer, créant une cavitation qui expose la dentine.

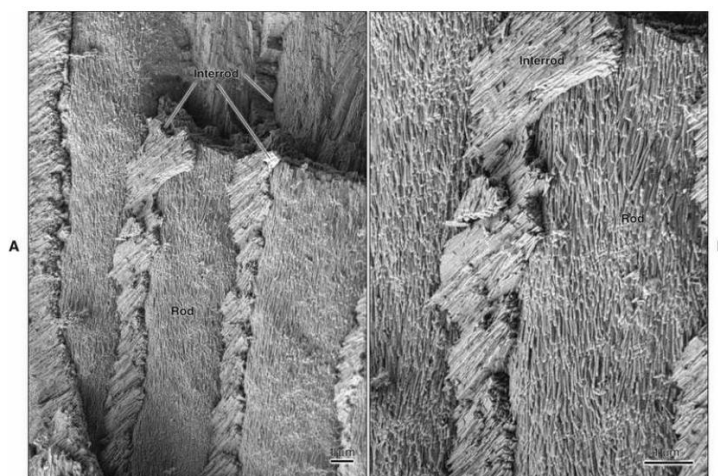


FIGURE 13: EMAIL VISUALISÉ AU MICROSCOPE ÉLECTRONIQUE À BALAYAGE, INTERPRISMATIQUE (INTERROD) ET PRISMATIQUE (ROD) (NANCI ANTONIO ET AL., 2017)

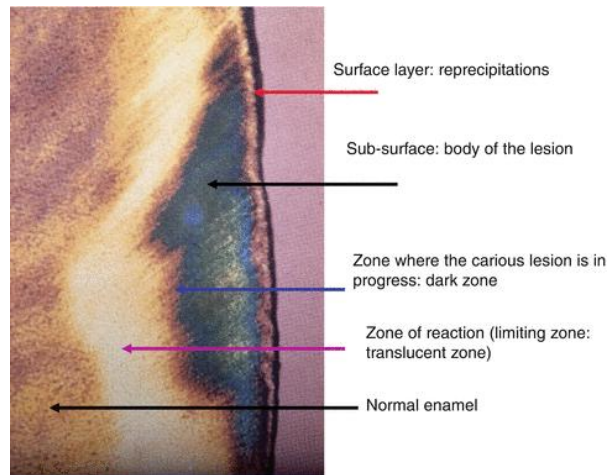


FIGURE 14 : ASPECT HISTOLOGIQUE D'UNE LÉSION CARIEUSE AMÉLAIRE, (GOLDBERG, 2016)

La dentine se compose d'environ 70 % de minéraux, 20 % de matière organique (essentiellement du collagène) et 10 % d'eau. Elle est parcourue par des tubules contenant les prolongements cytoplasmiques des odontoblastes. Sa structure tubulaire la rend particulièrement perméable aux agressions microbiennes et chimiques. La perméabilité aux agressions est augmentée chez les jeunes, où les lumières tubulaires sont plus larges et donc plus facile d'accès pour les bactéries. On distingue plusieurs zones histopathologiques (Figure 15): une zone opaque comprenant la zone de désintégration (couche nécrotique), la zone infectée (colonisation bactérienne des tubules et début de destruction organique) et la zone de affectée (dissolution des cristaux d'hydroxyapatite avec trame collagénique encore intacte) ; une zone transparente correspondant à la dentine sclérosée qui constitue une barrière biologique contre l'invasion bactérienne ; et enfin une zone de dentine saine mais métaboliquement modifiée, siège d'adaptations cellulaires.

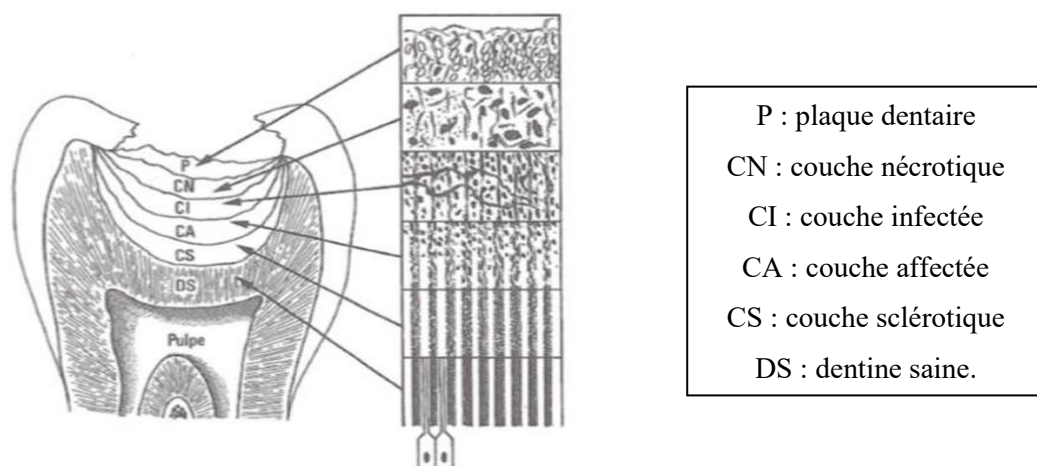


FIGURE 15: SCHÉMA HISTOLOGIQUE DE LA LÉSION CARIEUSE DENTINAIRE (JEAN-CLAUDE KAQUELER & OLIVIER LE MAY, 1998)

A l'interface entre la dentine et la pulpe, on distingue une fine bordure odontoblastique dont la principale fonction est de produire de la dentine secondaire ou tertiaire, notamment lorsque celle-ci est affectée par des bactéries cariogènes. En l'absence d'élimination des bactéries, l'inflammation pulpaire progresse d'un processus localisé vers un processus plus généralisé, pouvant évoluer vers une nécrose tissulaire associée à une infection du réseau canalaire puis des tissus péri-apicaux.

I-2.1.2 La prise en charge clinique

De nombreux guides cliniques ont été créés afin d'aider et de guider les praticiens dans la prise en charge de la maladie carieuse, depuis le diagnostic jusqu'à la thérapeutique. Depuis 2019, le guide clinique CariesCare 4D™ (CC4D) constitue une référence dans la gestion de la maladie carieuse. Il propose une version plus adaptée aux pratiques cliniques de l'International Caries Classification and Management System « ICCMS™ ». Ce guide intègre le concept global d'intervention a minima et d'une approche personnalisée de chaque patient en fonction des besoins individuels. La prise en charge de la maladie carieuse s'effectue en 4 étapes, chacune débutant par la lettre « D » : « Déterminer », « Détecter », « Décider » et « Délivrer ». La première étape « Déterminer » consiste à évaluer le risque carieux individuel du patient. Elle est suivie de l'étape « Détecter » qui vise à identifier et diagnostiquer les lésions carieuses. Vient ensuite l'étape « Décider », permettant d'élaborer un plan de traitement personnalisé, qui sera finalement à « Délivrer » au patient (Figure 16).

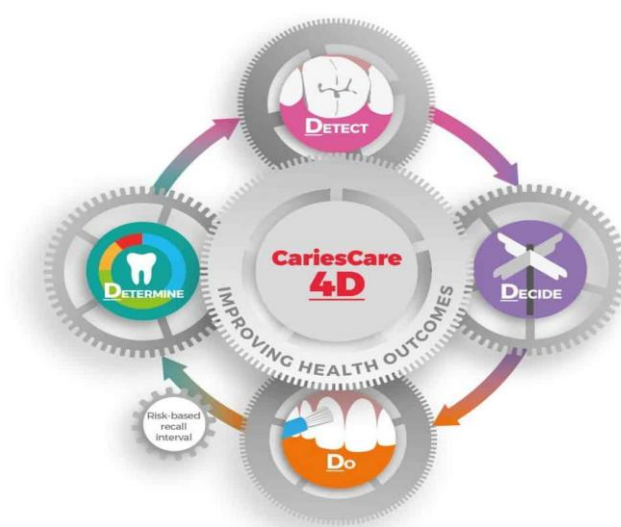


FIGURE 16: PRISE EN CHARGE DE LA MALADIE CARIEUSE SELON 4 ÉTAPES (MARTIGNON ET AL., 2019)

I-2.1.3 Approches diagnostiques des lésions carieuses

Actuellement, la détection des lésions carieuses est obtenue par la combinaison de l'examen visuel et d'examen complémentaires.

L'examen visuel, afin d'être optimal, doit être réalisé sur des dents nettoyées et séchées sous un bon éclairage, à l'aide d'un miroir (Abdelaziz, 2023). Il se base sur l'analyse de l'état de surface de la dent. La recherche d'une modification de couleur mais également de texture, au sondage léger avec une sonde à bout rond, permet d'obtenir des informations sur l'activité et l'étendue de la lésion carieuse.

La détection clinique des lésions carieuses est significativement améliorée lorsqu'elle repose sur des classifications et des critères diagnostiques clairement définis. La classification ICDAS permet de proposer un ensemble de critères et une marche à suivre afin de guider le praticien dans son diagnostic et sa prise en charge (Figure 17).

Les études décrivant la sensibilité et la spécificité de l'examen visuel pour la détection des lésions carieuses non cavitaires présentent des résultats très variables. La sensibilité correspond à la capacité du test à identifier correctement les individus atteints de la maladie (vrais positifs), tandis que la spécificité

reflète sa capacité à reconnaître comme sains les individus non atteints (vrais négatifs). La sensibilité de l'examen visuel varie de 0,20–0,96, avec une spécificité également large de 0,50–1,00. Des incohérences diagnostiques sont également décelables entre les examinateurs (Abdelaziz, 2023). Une revue Cochrane (2021), analysant plus de 19 590 surfaces dentaires, indique une sensibilité moyenne de l'examen visuel avec le système ICDAS de 0,86 (IC 95 % : 0,80–0,90) et une spécificité de 0,77 (IC 95 % : 0,72–0,82) pour la détection des lésions initiales et modérées amélares (Macey et al., 2021).

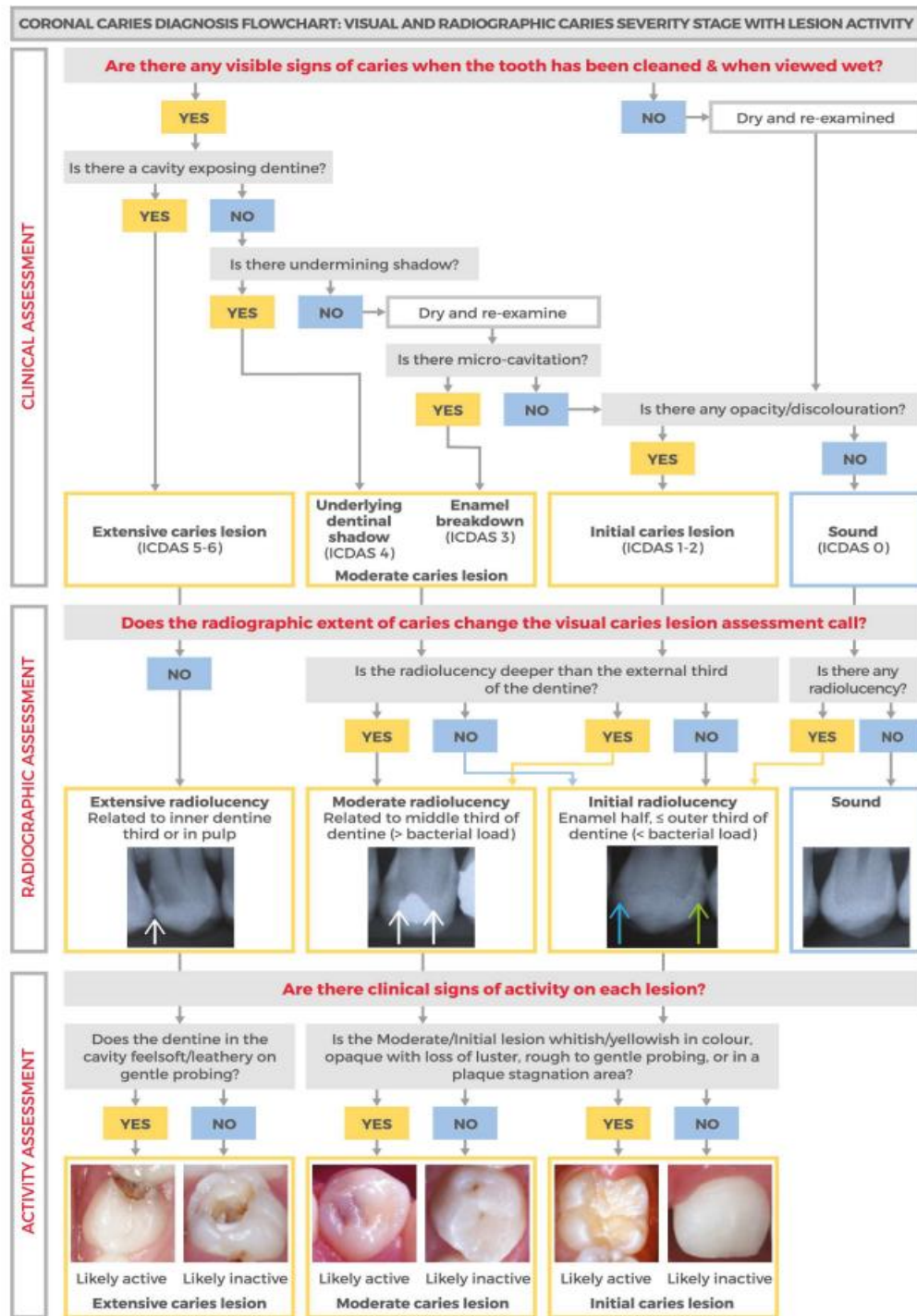


FIGURE 17 : ARBRE DÉCISIONNEL DU DIAGNOSTIC DES LÉSIONS CARIEUSES SELON LA SÉVÉRITÉ ET L'ACTIVITÉ (CRITÈRES ICDAS)

L'examen clinique présente plusieurs avantages tels que la facilité, la rapidité, le faible coût technique et matériel. Toutefois, de fortes limitations sont reconnues. En effet, l'accès visuel est parfois difficile sur certains sites notamment au niveau proximal. L'examen visuel seul ne permet d'identifier que 12 à 50 % des lésions cavitaires proximales. Il est également très opérateur dépendant (Abdelaziz, 2023). L'examen visuel peut être amélioré par l'utilisation de système loupes. En effet, la profondeur moyenne d'un sillon varie de 120 à 1050 μm . Sa largeur moyenne est de 40 et 150 μm . L'acuité visuelle normale de l'œil et des récepteurs rétiniens suggère qu'à une distance moyenne de travail de 40 cm, la plupart des sillons ne sont pas détectables visuellement. L'utilisation de loupes, associées à un éclairage LED, permet d'augmenter l'acuité visuelle.

Les grossissements classiques se situent entre 2,5 et 3. L'amélioration de la détection des lésions carieuses avec l'utilisation de loupe est contrastée dans la littérature. L'étude de Sisodia & Manjunath, 2014, conclue que les loupes n'améliorent pas systématiquement la sensibilité, mais permettent d'augmenter la spécificité. Cependant, les résultats de l'étude de Rekha et al., 2023, révèle même que le grossissement n'apporterait aucune plus-value dans le diagnostic des caries occlusales par rapport à l'examen visuel classique.

L'examen visuel est généralement complété par un ou des examens complémentaires. L'examen complémentaire le plus fréquent est l'examen radiographique. La réalisation de radiographies intra-orales rétro-alvéolaires permet notamment de dépister les lésions proximales peu visibles à l'examen clinique, d'analyser la sévérité de l'atteinte tissulaire et les conséquences au niveau pulpo-parodontal des lésions carieuses modérées à sévères. Les études montrent une sensibilité de l'examen radiographique allant de 0 à 0,93 et une spécificité de 0,6 à 1 pour les caries occlusales. Concernant les lésions carieuses proximales, la sensibilité varie de 0,15 à 0,83 et la spécificité de 0,6 à 0,99. Cette technique ne permet toutefois pas de détecter les lésions débutantes (< 500 μm d'émail), ni d'en apprécier l'activité, ni de déterminer clairement la présence d'une cavité (Chan et al., 2023).

L'avantage majeur de l'examen radiographique est qu'il permet de compléter l'examen clinique en facilitant la détection des lésions carieuses proximales. Cependant, il s'agit d'une technique irradiante, qui sous-estime la taille réelle de la lésion et ne donne pas d'information sur l'intégrité de la surface dentaire ou le niveau d'activité de la lésion. Afin qu'une lésion de l'émail soit détectable sur une radiographie, il faut que 30 à 40 % de l'émail soit déminéralisé (Abdelaziz, 2023).

Si l'examen visuel et les radiographies intra-orales constituent des méthodes de référence pour la détection des caries dentinaires, leur sensibilité demeure limitée pour l'identification des lésions carieuses précoces, et de celles situées dans des zones de faible accès. Cela met ainsi en évidence la nécessité de rechercher des outils diagnostiques plus performants et fiables (Abdelaziz, 2023).

I-2.2 Le Microbiote et la Dysbiose orale : à l'origine de la pathogénèse carieuse

Comme cela a été introduit, la formation de la carie résulte d'un processus écologique dynamique dans lequel le biofilm dentaire évolue progressivement d'un état symbiotique vers un état dysbiotique. En particulier, sous l'effet d'expositions répétées aux sucres fermentescibles, les microorganismes acidogènes s'accumulent et produisent des acides organiques qui abaissent le pH local favorisant l'établissement d'une communauté pathogène. La composition microbienne d'une lésion carieuse varie selon la localisation de la lésion (émail/dentine, couronne/racine) et sa profondeur. Au niveau amélaire, la composition du biofilm se caractérise par une prédominance de bactéries acidogènes et aciduriques comme *Streptococcus* (notamment *S. mutans*), *Actinomyces* et *Veillonella*. Ces espèces sont capables de tolérer un environnement très acide et participent directement à la déminéralisation de l'émail (Figure 18, Spatafora et al., 2024).

Lorsque la lésion progresse vers la dentine, le microbiote devient plus diversifié. La dentine, moins minéralisée et plus riche en matière organique que l'émail, favorise la colonisation d'espèces capables d'exploiter ces substrats, notamment *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Fusobacterium* et *Bifidobacterium*. L'activité protéolytique de ces bactéries accentue la dégradation tissulaire. Dans les lésions dentinaires profondes, l'élévation relative du pH par rapport aux lésions superficielles est expliquée par l'intensification du métabolisme protéique, favorisant l'implantation d'espèces anaérobies strictes (Figure 18, Spatafora et al., 2024).

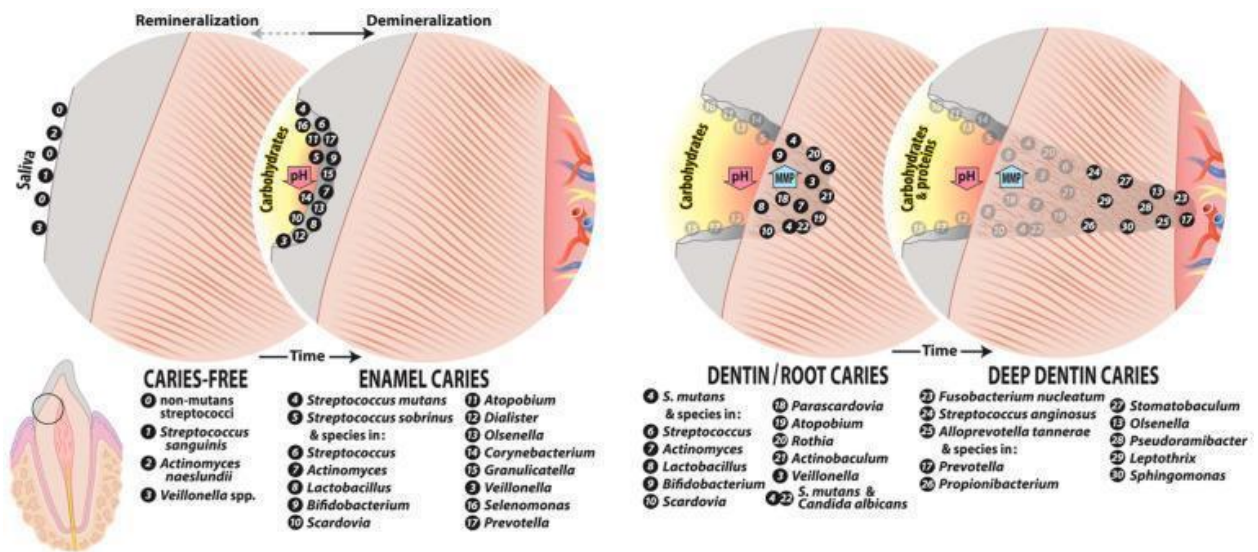


FIGURE 18: VARIATIONS DU MICROBIOTE CARIEUX EN FONCTION DE LA SÉVÉRITÉ DE LA LÉSION (SPATAFORA ET AL., 2024)

Streptococcus mutans est particulièrement incriminée dans le développement de la maladie carieuse, bien que l'apparition de la maladie ne puisse pas être attribuée à la seule présence de cette bactérie. Certaines espèces bactériennes peuvent, au contraire, exercer un effet protecteur contre le développement des bactéries cariogènes, comme c'est le cas pour trois espèces de *Streptococcus*, dont *S. oralis*, *S. mitis* et *S. sanguinis* (Belda-Ferre et al., 2012).

TABLEAU 1 : CARACTÉRISTIQUES HISTOLOGIQUES ET MICROBIOLOGIQUES DES DIFFÉRENTS STADES DE LA CARIE

Localisation / stade de la lésion	Caractéristiques	Bactéries dominantes	Espèces associées	Particularités
Émail	Tissu très minéralisé, faible teneur organique	<i>Streptococcus</i> <i>Actinomyces</i> , <i>Veillonella</i>	<i>Neisseria</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Rothia</i>	Bactéries acidogènes et aciduriques
Dentine (lésions superficielles)	Tissu moins minéralisé, riche en matière organique	<i>Lactobacillus</i>	<i>Prevotella</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Bifidobacterium</i>	Diversité microbienne accrue, espèces protéolytiques
Dentine (lésions profondes)	Forte activité protéolytique avec augmentation relative du pH	<i>Lactobacillus</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Fusobacterium</i>	Anaérobies stricts divers	Espèces protéolytiques et anaérobies strictes, progression tissulaire accélérée

I-2.3 Réactions tissulaires et immunitaires face au biofilm cariogène

La réponse inflammatoire pulpaire, ou pulpite : La pulpite constitue une réponse immunitaire complexe du tissu pulpaire face à une agression, qu'elle soit d'origine microbienne, mécanique, chimique ou thermique. Le plus souvent, cette inflammation est déclenchée par la progression d'une lésion carieuse, favorisant l'invasion bactérienne au sein de la chambre pulpaire. Le tissu pulpaire est dans un système clos et présente une faible compliance qui limite la possibilité d'expansion propre du processus inflammatoire.

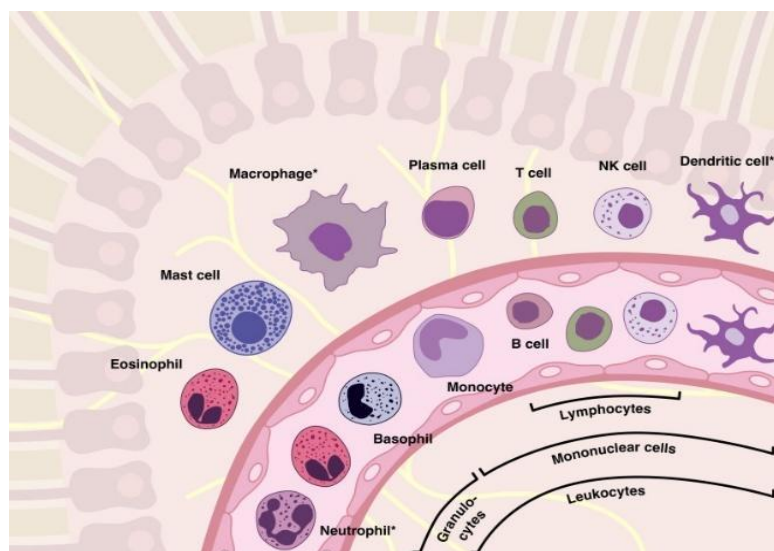


FIGURE 19: CELLULES IMMUNITAIRES DU TISSU PULPAIRE (D'APRÈS POHL ET AL., 2024)

A la base, une pulpe saine contient une grande variété de cellules immunitaires résidentes (Figure 19). Parmi celles-ci, les neutrophiles sont la population principale. On y identifie également des monocytes, des cellules dendritiques et des LT. Ces cellules immunitaires sont essentielles à l'initiation des mécanismes de défense pulpaire face aux microorganismes (Galler et al., 2021a). La réponse immunitaire innée joue un rôle fondamental dans la régulation de l'inflammation pulpaire induite par les lésions carieuses. Parmi les cellules de cette immunité innée, on peut souligner le rôle des odontoblastes, des fibroblastes et des cellules dendritiques dans la détection des PAMP et l'induction de la réponse de l'organisme face à l'atteinte carieuse.

Conformément aux mécanismes généraux de l'inflammation, la réponse inflammatoire pulpaire peut se caractériser par deux orientations possibles : l'inflammation aiguë et l'inflammation chronique. Ces deux formes décrivent différentes évolutions de la réponse immune exposée à un stimulus inflammatoire. L'inflammation aiguë constitue la réponse initiale à une blessure ou à une infection et implique des mécanismes rapides et non spécifiques, l'inflammation chronique est une réponse prolongée activant des mécanismes plus spécifiques et des composantes immunitaires innées et adaptatives.

L'inflammation aiguë fait intervenir deux grandes étapes : une première phase de modifications vasculaires et une seconde phase d'événements cellulaires. Les modifications vasculaires comprennent la dilatation des vaisseaux sanguins conduisant à augmenter la perméabilité vasculaire et accélérer le flux sanguin (Figure 20). Ces modifications sont à l'origine d'un œdème inflammatoire au sein de la chambre pulpaire. Elles ont pour but de favoriser la diapédèse leucocytaire sur le site de l'infection (Hahn & Liewehr, 2007; Pohl et al., 2024). Au niveau clinique, l'augmentation de pression secondaire à l'œdème est responsable de douleurs, souvent intenses, médiées par des stimuli chimiques ou thermiques. La réponse inflammatoire aboutit à la création d'un tissu de granulation inflammatoire composé de cellules inflammatoires (neutrophiles, macrophages, lymphocytes) et fibroblastes.

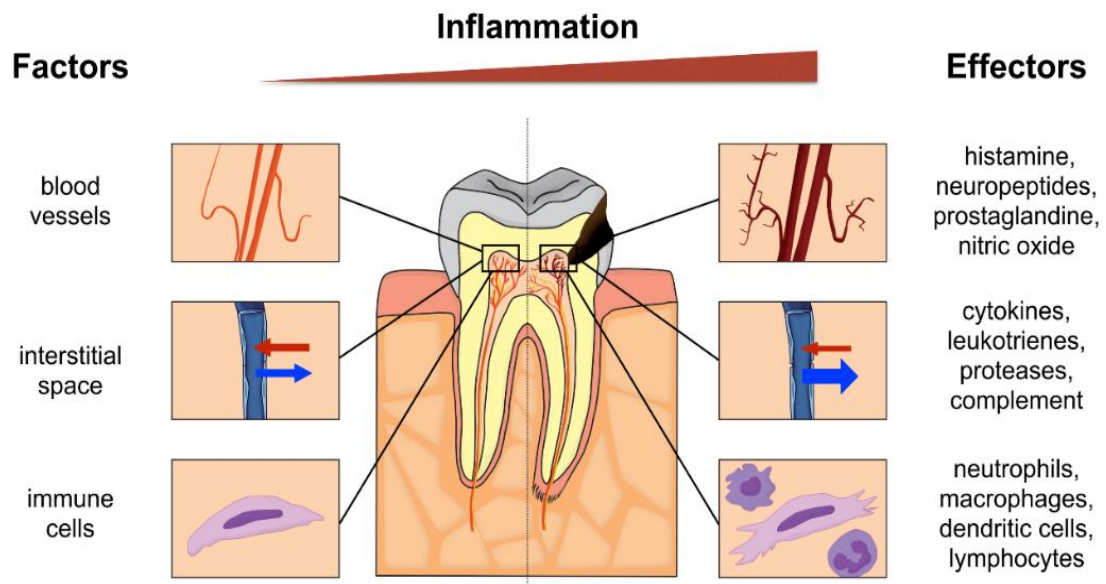


FIGURE 20 : LA REPOSE INFLAMMATOIRE PULPAIRE (RECHENBERG ET AL., 2016)
Les médiateurs, les cytokines et les cellules immunitaires induisent une vasodilatation, augmentent la perméabilité afin de permettre l'infiltration cellulaire, contribuant à la progression de l'inflammation pulpaire.

Ce tissu permet la production de nouvelles fibres de collagène et stimule l'angiogenèse pour favoriser la réparation. La phase de détersion se poursuit et l'élimination des tissus nécrosés et des agents pathogènes a pour but de favoriser la guérison du tissu. L'inflammation aiguë peut conduire à différentes évolutions. Une récupération histologique complète est possible lorsque les lésions tissulaires sont réduites et que la cause est éliminée. La guérison par cicatrisation ou fibrose est également une orientation possible de la cicatrisation. Elle entraîne une diminution de la capacité de réparation des tissus. Finalement, l'inflammation aiguë peut faire place à une inflammation chronique lorsque la réponse inflammatoire ne peut pas être résolue en raison du maintien de la cause ou d'une défaillance des mécanismes de réparation (Galler et al., 2021; Pohl et al., 2024).

L'inflammation chronique peut faire suite à une phase aiguë ou apparaître *de novo*. L'inflammation chronique se caractérise par l'infiltration dans les tissus des macrophages, des lymphocytes et des plasmocytes. Les odontoblastes, situés à l'interface pulpe-dentine, participent également à la réponse immunitaire en sécrétant des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , TNF- α) et des chimiokines qui favorisent le recrutement leucocytaire. À mesure que l'agression tissulaire se poursuit, l'accumulation locale initiale de cellules immunitaires dans la pulpe devient de plus en plus étendue. Des lésions tissulaires importantes peuvent être observées parallèlement aux processus de réparation, caractérisés par l'angiogenèse et la fibrose (Hahn & Liewehr, 2007; Pohl et al., 2024). L'inflammation chronique, si elle persiste, peut mener à la nécrose du tissu pulpaire (Galler et al., 2021).

Un des mécanismes essentiels de la défense pulpaire et de la cicatrisation pulpaire est la sclérose des tubules dentinaires et la formation de dentine tertiaire (Cooper et al., 2014; Pohl et al., 2024). Cela permet de créer une barrière minéralisée entre la pulpe et les zones d'invasion bactérienne afin de préserver la vitalité pulpaire. La formation de dentine tertiaire peut être de type réactionnelle (produite par les odontoblastes résiduels) ou de type réparatrice (synthétisée par des pseudo-odontoblastes provenant de cellules souches) (Figure 21). Ces processus de défense pulpo-dentaires visent à ralentir ou empêcher la progression de la lésion et à préserver la fonction vitale de la dent (Cooper et al., 2014; da Rosa et al., 2018).

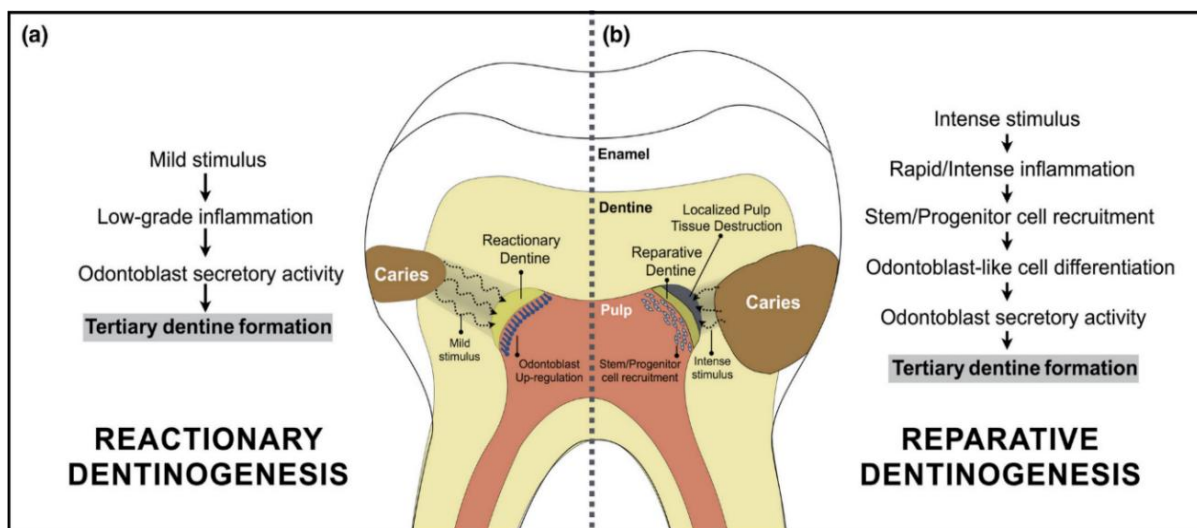


FIGURE 21 : MISE EN PLACE DE LA DENTINE TERTIAIRE, DENTINOGENÈSE RÉACTIONNELLE OU DENTINOGENÈSE RÉPARATRICE EN RÉPONSE À UNE LÉSION CARIEUSE (DA ROSA ET AL., 2018)

Les études histologiques dans ce domaine ont mis en évidence une différence d'atteinte en fonction de la localisation coronaire ou radiculaire de la pulpe. Les auteurs évoquent un phénomène inflammatoire de « compartimentalisation » (Heyeraas, 1985; Van Hassel, 1971). L'inflammation débute au niveau de la pulpe camérale et évolue progressivement vers la pulpe radiculaire par un processus de nécrose graduelle (Mjör, 2002).

I-2.4 Le diagnostic des pulpopathies et ses limites

L'inflammation pulpaire est au centre de la réponse immunitaire contre les lésions carieuses.

Diagnostic des pulpopathies : Les lésions carieuses entraînent systématiquement une réaction inflammatoire du tissu pulpaire. Elle est caractérisée par l'activation de cascades complexes traduisant la réponse immunitaire locale (Cooper et al., 2017; Karrar et al., 2025). Toutefois, établir une correspondance fiable entre le diagnostic clinique de pulpite et l'état histologique réel de la pulpe demeure difficile. De nombreuses raisons sont énoncées, dont l'accessibilité du tissu pulpaire, la subjectivité des symptômes et les limites des méthodes diagnostiques actuelles (Donnermeyer et al., 2023).

Actuellement, le diagnostic des pulpopathies se fait usuellement selon la classification de American Association of Endodontists (AAE) de 2013. Elle propose 4 catégories d'états pulpaires : (1) Pulpe normale ; (2) Pulpite réversible ; (3) Pulpite irréversible ; (4) Nécrose pulpaire.

Ces catégories sont définies selon des signes cliniques subjectifs et objectifs, tels que la réponse aux stimuli thermiques, la durée de la douleur mais leur validité reste limitée. En effet, la revue de Donnermeyer et al. conclut que l'efficacité des diagnostics cliniques des pulpopathies est faible, en raison du manque d'indicateurs fiables et reproductibles. Une limitation importante de cette classification est le décalage entre les signes cliniques et l'histopathologie. La classification est purement symptomatique et thérapeutique, sans corrélation directe avec l'état réel des tissus pulpaires observés histologiquement. Cette inadéquation est limitée dans les situations cliniques extrêmes (pulpe normale, pulpe nécrosée) mais importante pour les stades intermédiaires, notamment chez l'enfant (Dhillon et al., 2023).

En 2017, une nouvelle classification établie par Wolters et al. propose une alternative plus graduée de la classification traditionnelle. Cette classification distingue 4 stades cliniques de la pulpite, chacun associé à des symptômes spécifiques :

- La pulpite initiale qui se caractérise par une réponse au test au froid augmentée en intensité mais non en durée.
- La pulpite légère qui se caractérise par une absence de douleur spontanée mais par une douleur provoquée lors de l'exposition au froid, avec une réponse positive au test au froid dont la durée est inférieure à 20 secondes.
- La pulpite modérée qui se caractérise par de possibles douleurs spontanées qui ne sont pas présentes la nuit et une réponse positive au test au froid qui dure plus de 20 secondes.
- La pulpite sévère qui se caractérise par des douleurs spontanées récentes et surtout nocturnes.

Les données scientifiques actuellement disponibles concernant la précision et la reproductibilité des tests diagnostiques permettant d'évaluer la vitalité pulpaire sont limitées, voire insuffisantes. Les travaux de Karrar et al. en 2025 ont mis en évidence la complexité des représentations cliniques des pulpites,

rendant leur évaluation difficile sur la seule base de tests subjectifs et objectifs. À ce jour, l'établissement d'un diagnostic clinique fiable de pulpite chez des patients peu symptomatiques ou asymptomatiques apparaît encore complexe et mal compris.

Ainsi, face aux limites des classifications et des tests cliniques actuels, l'approche la plus prometteuse repose sur la combinaison d'indicateurs cliniques, symptomatiques, et aussi sans doute sur l'intégration d'outils de diagnostic moléculaire, pour constituer un « package diagnostique » des pulpopathies (Donnermeyer et al., 2023). Bien que l'intégration du diagnostic moléculaire dans les protocoles diagnostiques pulpaire de routine ne soit pas encore d'actualité, ces outils pourraient, à terme, influencer significativement la prise de décision clinique ainsi que le pronostic des traitements de conservation pulpaire. Cette perspective implique de mieux comprendre les réponses biologiques du complexe dentino-pulpaire face à l'agression carieuse, afin de pouvoir guider le développement de stratégies diagnostiques et thérapeutiques plus performantes.

Au cœur de ce processus inflammatoire, les cytokines vont jouer un rôle essentiel, non seulement en tant que médiateurs de l'inflammation, mais elles participent également à la transition entre l'inflammation réversible et irréversible et elles sont également impliquées dans le processus de réparation. L'étude des cytokines produites tout au long de la réponse à la maladie carieuse est donc cruciale pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à la physiopathologie de l'inflammation pulpaire, et au-delà, pour développer des stratégies thérapeutiques allant de la détection personnalisée à la préservation de la vitalité pulpaire.

I-2.5 Médiateurs cytokiniques et lésions carieuses

Variation des profils cytokiniques selon la sévérité de la lésion : Les profils cytokiniques varient avec la profondeur lésionnelle et la sévérité clinique. L'étude de Wu et al., sur l'étude d'exsudats pulpaire, a conclu que la variation du taux de cytokines est dépendante de la sévérité de l'inflammation. Dans une pulpe saine, seules de faibles concentrations d'IL-1 β et d'IL-8 sont détectés tandis que l'IL-6 et le TNF- α demeurent presque indétectables. Au stade de pulpite légère, une élévation des taux d'IL-1 β , d'IL-8 ainsi que d'IL-6 sont observés. Aux stades modéré et sévère, les concentrations d'IL-1 β et d'IL-8 tendent à se stabiliser, tout en demeurant supérieures à celles du stade initial, alors que l'IL-6 présente une progression significative. L'expression significativement augmentée de TNF- α , n'apparaît de manière marquée qu'aux stades avancés de l'inflammation, en particulier à proximité des zones de nécrose pulpaire. Des modèles animaux confirment l'induction très précoce de TNF- α après exposition pulpaire (Tani-Ishii et al., 1995) et son profil non linéaire au cours de l'aggravation (Pezelj-Ribaric et al., 2002). IL-17 (Th17) apparaît impliquée dans la défense muqueuse (recrutement neutrophilique, réponses épithéliales) et s'élève dans dentine carieuse, pulpe enflammée et salive de sujets à caries actives (Karched et al., 2025). Les cytokines interagissent et leurs fonctions se chevauchent, rendant leur interprétation parfois complexe.

Variation des profils cytokiniques selon le type de tissus atteint : Il a été montré que même les lésions carieuses limitées à l'émail s'accompagnent d'une production détectable de cytokines, statistiquement corrélée à la présence de ces lésions (Liu et al., 2023). Étant donné que l'émail est acellulaire et essentiellement minéralisé, il est peu probable que les cytokines proviennent directement du tissu pulpaire. Les médiateurs inflammatoires détectés dans la salive peuvent trouver leur origine dans l'environnement muqueux adjacent. En effet, le biofilm cariogène libère des acides et des produits bactériens (parois, toxines, enzymes) qui diffusent vers la salive et stimulent les cellules épithéliales, fibroblastiques, immunitaire de la muqueuse environnante. Ces dernières, par l'intermédiaire

notamment des récepteurs de reconnaissance de motifs microbiens, produisent des cytokines pro-inflammatoires telles qu'IL-1 β , IL-6, TNF- α ou IL-8 (Alarcón-Sánchez et al., 2024; Diesch et al., 2021). Ainsi, le profil immunitaire salivaire observé dès le stade amélaire semble refléter une réponse des tissus muqueux environnants face au biofilm cariogène, plutôt qu'une réaction intrinsèque aux tissus durs dentaires (Liu et al., 2023). À ce stade, la signature salivaire reste donc relativement limitée. En revanche, la dentine, tissu moins minéralisé et riche en collagène, est parcourue de tubuli qui communiquent directement avec la pulpe. Lorsque la lésion carieuse franchit la jonction amélo-dentinaire, les bactéries et leurs produits diffusent, activant les odontoblastes et les cellules immunitaires pulpaires.

Choix de l'échantillons biologiques pour l'analyse des cytokines : L'étude des cytokines au cours de la maladie carieuse peut être réalisées dans différentes matrices d'étude : l'exsudat pulpaire, le fluide gingival (GCF) et notamment la salive. L'exsudat pulpaire reflète de près la physiopathologie tissulaire et est très utile pour relier stade clinique et les médiateurs (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) (Rechenberg et al., 2016; Wu et al., 2022). Le GCF est sensible à l'inflammation marginale et des hausses d'IL-1 β /IL-8 sont fréquentes en gingivite/parodontite et peuvent contaminer la signature gingivale (Zanini et al., 2017). La salive est un liquide complexe composée à 94-99 % d'eau et de matières organiques telles que des glycoprotéines, des cytokines, des immunoglobulines, des peptides antimicrobiens, des hormones, des lipides, des acides nucléiques, des cellules exfoliées et des neutrophiles, ainsi que des bactéries (Alarcón-Sánchez et al., 2024). La salive ne possède pas de microbiote résident, mais elle sert de matrice de transport pour les microorganismes buccaux provenant des dents et de la muqueuse buccale. Comparée au prélèvement d'exsudats pulpaires, la salive présente l'avantage majeur d'un recueil non invasif, et l'analyse de ses cytokines ouvre la voie à l'identification de biomarqueurs diagnostiques.

Toutefois, la salive représente un reflet global de l'ensemble de la cavité buccale et des tissus la composant (gencive, muqueuses, dents...) (Matsuoka et al., 2025). La détection des cytokines salivaire peut donc refléter différents états inflammatoires simultanés, ce qui complique l'interprétation des résultats. Un examen clinique précis et rigoureux demeure indispensable afin de distinguer les différentes situations cliniques inflammatoires comme la parodontite, la gingivite, la carie ou encore la candidose, afin d'éviter des conclusions erronées.

Conclusion : Les cytokines IL-1 β , TNF- α , IL-6 et IL-17 représentent, les médiateurs en lien avec la maladie carieuse les plus solidement retrouvés dans la littérature. L'approche diagnostique salivaire doit reposer davantage sur l'analyse combinatoire, plutôt que l'évaluation de biomarqueurs isolés. Par ailleurs, la pertinence de son utilisation doit également reposer sur l'utilisation de technologies analytiques à très haute sensibilité, afin de garantir la fiabilité des mesures et de réduire le risque de faux négatifs. L'étude de la littérature montre que la salive se révèle particulièrement pertinente pour la détection précoce des lésions carieuses. Néanmoins, la complexité liée aux signaux confondants d'origine muqueuse et gingivale impose la réalisation d'un phénotypage clinique rigoureux, complété idéalement par des études longitudinales, afin de caractériser de manière fiable et dynamique les profils cytokiniques associés à la pathologie carieuse.

Chapitre II : Développement d'une méthode multiplexe de quantification des cytokines salivaires dans la cohorte ORASPORT

II-1. La mise en place de l'étude ORASPORT

La cavité orale est un véritable miroir de l'état de santé général. En effet, les interactions entre cavité orale et organisme sont bilatérales. Un certain nombre de pathologies systémiques (diabète, cancers, infections...) ont des manifestations orales, tandis qu'un mauvais état bucco-dentaire peut aggraver un diabète, majorer l'obésité, augmenter le risque cardio-vasculaire et chez le sportif, diminuer la performance. L'essor des approches « -omiques », sur le contenu salivaire a permis d'identifier des biomarqueurs salivaires pertinents (C.-Z. Zhang et al., 2016).

Au sein de la population des sportifs de haut niveau, nombreuses sont les données montrant un état de santé bucco-dentaire globalement détérioré caractérisé par une dégénérescence plus importante que dans la population générale concernant la maladie carieuse, les maladies parodontales, les traumatismes dentaires... (Needleman et al., 2013). Ces détériorations seraient induites par différents facteurs de risques comme l'acidification de la cavité orale due à certains apports nutritionnels (boissons énergétiques, RGO), l'érosion de l'émail, le bruxisme, la sous-hydratation, l'hygiène bucco-dentaire insuffisante. Inversement, l'état de santé orale pourrait également refléter la condition physique générale. Certaines recherches montrent en effet que les personnes atteintes de parodontite obtiennent de moins bons résultats à des tests de performance, suggérant que cette pathologie pourrait constituer un indicateur d'une condition physique diminuée (Bramantoro et al., 2020). Par ailleurs, les individus sédentaires pratiquant une activité physique insuffisante – soit plus d'un tiers des adultes en France – présentent un risque accru de mortalité, de morbidité et de développement de maladies chroniques, parmi lesquelles, la parodontite.

L'hypothèse qui sous-tend ce travail est qu'un mode de vie sédentaire, tout comme une activité physique intense, induisent un appauvrissement et/ou des modifications du microbiote buccal et de la réponse immunitaire par rapport à une pratique régulière d'une activité physique raisonnée.

Dans cette optique, le projet pilote ORASPORT s'illustre par son approche intégrative. À notre connaissance, il constitue le premier travail alliant étude de cytokines inflammatoires, de cibles microbiologiques et de paramètres cliniques oraux chez des sportifs. Ce travail original ouvre la voie à des recherches futures visant à établir des biomarqueurs oraux associés au mode de vie d'individus sains.

II-1.1 Lien entre santé orale et sport

Dans un contexte où la recherche de performance sportive est toujours plus poussée, la relation bidirectionnelle entre santé orale et performances athlétiques est de plus en plus évoquée. En 2015, une revue systématique a pointé du doigt un mauvais état bucco-dentaire chez les sportifs de haut niveau (Ashley et al., 2015). Comme dans la population générale, l'érosion dentaire, la maladie carieuse, l'inflammation gingivale et la maladie parodontale sont les pathologies fréquemment observées chez les sportifs. Cette observation est toujours d'actualité, l'étude de Júdice et al. décrit que 51,8 % des athlètes présentaient deux pathologies bucco-dentaires ou plus, qui impactait leur pratique sportive. La parodontite était présente chez 55,1 % des participants et la gingivite chez 51,8 %. Les lésions carieuses étaient détectées chez 47,4 % des sportifs. Un risque d'érosion dentaire modéré était également reporté.

L'impact du sport sur l'état bucco-dentaire est également fonction du type d'exercice. En effet, les nageurs professionnels sont fortement à risque d'érosion. La chloration des eaux de piscines engendre un risque élevé d'érosion et d'hypersensibilité dentaire chez les nageurs réguliers. Plusieurs études chez des nageurs de compétition indiquent une prévalence de l'érosion dentaire de 48,2% et de 69,6% pour l'hypersensibilité (Lanzetti et al., 2024; Rao et al., 2019). Concernant le risque carieux, l'étude systématique de la littérature de Ashley et al. a montré une proportion élevée de lésions carieuses chez les athlètes (15 à 75%).

Si l'on analyse les principales pathologies dentaires, les parodontopathies sont fréquemment retrouvées. Les études indiquent que 30 à 60% des athlètes déclarent des saignements gingivaux (Gay-Escoda et al., 2011; Merle et al., 2022). Les examens cliniques ont révélé une prévalence de 60 à 97 % pour un score d'inflammation gingivale de grade 1 à 2 (Gallagher et al., 2018; Kragt et al., 2019; Merle et al., 2022; Needleman et al., 2016); tandis que 58 à 64 % des athlètes ont présenté une gingivite avérée (Kragt et al., 2019; Merle et al., 2022; Minty et al., 2018).

Concernant la maladie carieuse, la Haute Autorité de Santé (HAS) considère dans son rapport de 2005, les sportifs comme patients à risque carieux individuel élevé. Cette vulnérabilité s'explique par plusieurs facteurs liés à leur mode de vie, tels que les habitudes alimentaires, les stratégies d'hydratation ou encore la sécheresse buccale. De nombreuses études ont évalué la prévalence de la carie dentaire chez les sportifs de haut niveau. Lors des Jeux Olympiques de Mexico en 1968, la prévalence moyenne trouvée était de 3,5 dents cariées chez les athlètes britanniques et de 4,5 chez les athlètes nord-américains (Forrest, 1969). En 2011, des footballeurs du FC Barcelone ont été suivis pendant trois saisons lors d'une étude de plus grande ampleur. Le CAOD est un indice relatif aux dents permanentes. Il désigne le nombre de dents cariées, traitées ou absentes pour cause de carie. Il en résultait un indice CAOD moyen de 5,7 sur ces footballeurs, avec un indice de 2,2 pour les caries dentaires (Gay-Escoda et al., 2011). Une étude menée lors des Jeux Olympiques de Londres en 2012 a révélé que, parmi les 278 athlètes ayant consulté le service dentaire, 55% présentaient au moins une carie et 41% avaient une atteinte de la dentine (Needleman et al., 2013). Plus récemment, en 2016, une étude a été menée sur 187 footballeurs professionnels du Royaume-Uni. L'indice CAOD moyen des footballeurs était de 4,6, et 37% des joueurs présentaient au moins une carie (Needleman et al., 2016).

De nos jours, l'impact d'une mauvaise santé bucco-dentaire sur le corps en général et l'apparition de maladies systémiques a été bien démontré. A un tel niveau de compétition, il peut alors paraître surprenant qu'un athlète puisse avoir des pathologies orales engendrant des douleurs qui peuvent interférer avec ses performances. Les conditions extrêmes du sport de haut niveau peuvent nous amener à réfléchir sur l'impact de cette activité sur la sphère orale. Quelle est la corrélation entre sport et microbiote oral ?

II-1.2 Revue systématique de la littérature : Microbiote oral et santé bucco-dentaire des sportifs

Cette revue systématique, publiée dans la revue scientifique *Cureus*, avait pour objectif de faire une synthèse des connaissances actuelles disponibles concernant le rôle du microbiote oral dans la santé bucco-dentaire des sportifs. Elle a permis d'identifier, d'analyser les données publiées sur ce sujet avant la réalisation de notre étude clinique.

Cureus
Part of SPRINGER NATURE

Open Access Review Article

Correlation Between the Oral Microbiota and Sports Practice: A Systematic Review

Margaux Dubois ^{1,2,3}, Bérandère Delcourt ², Morgane Ortis ¹, Valérie Bougault ⁴, Alain Doglio ^{1,5}, Marie-France Bertrand ^{2,3,4}

Review began 01/10/2025
Review ended 01/27/2025
Published 01/29/2025

© Copyright 2025
Dubois et al. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License CC-BY 4.0, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

DOI: 10.7759/cureus.78168

1. Laboratory of Oral Microbiology, Immunotherapy, and Health, University Côte d'Azur, Nice, FRA 2. Department of Odontology, University Côte d'Azur, Nice, FRA 3. Institute of Oral and Dental Medicine, Centre Hospitalier Universitaire de Nice (CHU de Nice), Nice, FRA 4. Laboratory of Human Motricity, Expertise, Sport, and Health (LAMHES), University Côte d'Azur, Nice, FRA 5. Institute of Cell and Gene Therapy, Centre Hospitalier Universitaire de Nice (CHU de Nice), Nice, FRA

Corresponding author: Margaux Dubois, margaux.dubois@univ-cotedazur.fr

Abstract

The impact of sports on oral health has been the subject of extensive investigation, with the majority of studies indicating a deterioration in oral health. However, the composition of the oral microbiota in athletes and its impact remains unclear. The objective of this review is to investigate the potential correlation between athletic activity and alterations in the oral microbiota. A comprehensive electronic search was conducted up to November 2024 across three different databases (PubMed, the Cochrane Library, and Scopus) with the objective of identifying studies that evaluate the association between oral microbiota and physical activity. Two independent blinding review authors were involved in study selection, data extraction, and bias assessment using the National Institutes of Health's (NIH) study quality assessment tool. A total of 147 records were screened, and five eligible studies were included. Recent studies have demonstrated that individuals who engage in regular physical activity exhibit distinctive oral microbial composition in comparison to those with sedentary lifestyles or low levels of physical activity. Three studies have demonstrated that the athlete's oral microbiota is modified, with an increase in the genera *Rothia*, *Stenotrophomonas*, and *Veillonella*, and a decrease in the genus *Gemella*. The *Streptococcus* genus is often modified in athletes according to four studies. This review provided an analysis of the scientific evidence indicating that the oral microbiota of athletes is modified. But to date, there is no scientific evidence to clearly determine the impact of sports on these variations. More homogeneous studies with the limitation of bias are needed to better understand the link between sports and oral microbiota.

Categories: Dentistry, Sports Medicine

Keywords: oral health, oral health in athletes, oral microbiota, sports, sports performance

Introduction And Background

In a context where the pursuit of athletic performance continues to intensify, the bi-directional relationship between oral health and sports practice is receiving increasing attention, insofar as oral health is closely connected to the body's general health [1]. Early research on the oral health of elite athletes dates back to the late 1960s [2], with a significant acceleration following the 2004 Athens Olympic Games. Notably, a high prevalence of oral health issues was documented at the dental clinics of both the Beijing 2008 and London 2012 Summer Olympic and Paralympic Games [3]. In 2015, a systematic review further confirmed the poor oral health of high-level athletes, revealing a frequent incidence of different oral diseases such as carious lesions, dental erosions, and irreversible periodontal diseases [4]. In accordance with these findings, Needleman et al. demonstrated an association between elite athletic status and poor oral health, comparable to the prevalence observed in socioeconomically disadvantaged non-athlete populations [5]. In particular, these authors highlighted the critical need for targeted interventions to address the specific oral health challenges faced by athletes, such as immune abnormalities associated with intense training, elevated stress levels in competitive environments, dietary practices involving supplements, the use of mouthguards, and insufficient oral hygiene [5, 6].

These factors are likely to have a disruptive effect on the complex oral ecosystem, more specifically regarding the oral microbiome, a highly complex community of microorganisms that colonize the various ecological niches within the oral cavity, including the teeth, gums, tongue, and cheeks [7]. The oral microbiota is highly diverse, with over 700 species of bacteria, but also viruses, fungi, and archaea, which interact closely with each other and with the host environment [8]. It is estimated to contain nearly 6×10^9 microorganisms, making it the second most complex microbial ecosystem in the human body after the intestinal microbiota [9]. Maintaining a healthy oral microbiota is crucial for preventing oral diseases and beyond to ensure good general health. Disruption in oral microbiota homeostasis, a condition known as dysbiosis [10], is closely associated with a wide range of oral pathologies, including periodontitis, dental caries, and systemic pathologies such as diabetes, cardiovascular diseases, and respiratory infections [11]. Such disruptions may lead to an increased susceptibility to dental and periodontal diseases, further

How to cite this article

Dubois M, Delcourt B, Ortis M, et al. (January 29, 2025) Correlation Between the Oral Microbiota and Sports Practice: A Systematic Review. *Cureus* 17(1): e78168. DOI 10.7759/cureus.78168

impacting overall well-being and athletic performance [1,12,13]. Better understanding the oral microbiota, particularly the dynamics of the oral biofilm and the role of various microbial species, is thus of critical importance for developing effective strategies to prevent oral diseases and enhance oral health [14].

While regular physical activity is generally associated with numerous health benefits, research suggests that competitive athletes often experience compromised oral health. However, the impact of sport on the oral microbiome remains a relatively underexplored area. This literature review aims to analyze the available studies on this subject and explore the potential relationship between sport and alterations in the oral microbiota.

Review

Materials and methods

Identification of the Research Question

This systematic review was conducted in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines [15]. The study was registered in the International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO) under the registration number CRD42024550542.

The review adhered to the Population, Exposure, Comparison, and Outcomes (PECO) criteria which were as follows: (1) Population: adults; (2) Exposure: athletic participation; (3) Comparison: control group, non-athletes (4) Outcomes-analyzing the variation of the oral microbiota. The formulated PECO research question was "In adults (P), what is the effect of athletic participation (E) compared with non-athletes (C) on the oral microbiota (O)? If so, what is the nature of this change?".

Eligibility Criteria

Prior to the screening process, a set of eligibility criteria was established. The inclusion criteria were as follows: (i) articles with an available abstract, (ii) articles published in English or French, and (iii) studies specifically investigating the composition of the oral microbiota and describing the relationship with sports practice. For the purposes of this study, physical activity was defined as a structured exercise involving regular training within an organized framework.

The exclusion criteria were: (i) studies focusing on populations with underlying pathologies, (ii) studies in which the analysis of the oral microbiota was insufficiently defined or inadequately described, and (iii) in vitro studies, systematic reviews, narrative reviews, and author opinion reviews.

Information Source and Search Strategy

An electronic search was carried out in November 2024 across three different databases: PubMed, the Cochrane Library, and Scopus, to identify eligible published studies. The following keywords used were "Sports (MeSH)", "Athletic", "Athletics", "Athletic Performance (MeSH)", "Microbiota (MeSH)", "Oral Microbiota", "Microbiome", "Human Microbiome", "Oral", "Oral Health (MeSH)" and "Mouth (MeSH)". These keywords were combined using Boolean operators (Table 1).

Number	Search strategy
1	Sports (MeSH)
2	Athletic
3	Athletics
4	Athletic Performance (MeSH)
5	Microbiota (MeSH)
6	Oral Microbiota
7	Microbiome
8	Human Microbiome
9	Oral
10	Oral Health (MeSH)
11	Mouth (MeSH)
12	1 OR 2 OR 3 OR 4
13	5 OR 6 OR 7 OR 8
14	9 OR 10 OR 11
15	12 AND 13 AND 14

TABLE 1: Search strategy for the systematic review

MeSH: Medical Subject Headings

The search strategy employed was as follows: ((sports) OR (Athletics) OR (Athletic) OR (Athletic Performance)) AND ((Microbiota) OR (Oral Microbiota) OR (Microbiome) OR (Human Microbiome)) AND ((Oral) OR (Oral Health) OR (Mouth)). Only articles written in English or French were included, with no restrictions on the year of publication. An additional manual search was performed in the bibliography of each included article to identify potential articles not found by the electronic search.

Selection Process

Two authors (MD and BD) independently selected the articles and extracted the relevant data. First, duplicates were manually removed. Subsequently, a pre-selection of potentially relevant studies was conducted based on the screening of titles and abstracts. The final selection of articles for inclusion was determined by reviewing the full texts, in line with the PICO framework and the established inclusion and exclusion criteria. In cases of disagreement regarding article selection, a third author (MB) was consulted, and consensus was achieved through discussion among the authors.

Data Collection Process

The two authors (MD and BD) independently reviewed the eligible papers and extracted the following information: author, year and journal of publication, study design, inclusion and exclusion criteria, protocol description, and summary of results. Given the number of articles included and the heterogeneity of the protocols, methodological analyses, and results, a meta-analysis was not performed.

Risk of Bias

The risk of bias was assessed independently by two reviewers using the National Institutes of Health's (NIH) study quality assessment tools for observational cohort and cross-sectional studies, as well as for case-control studies [16]. In cases of discrepancies between the reviewer's assessments, a consensus was reached through discussion and reassessment. If necessary, the opinion of a third member of the review team was sought to resolve any remaining disagreements.

Results

From the electronic search across the three databases, a total of 173 records were identified. Following manual screening, 26 duplicate records were identified and removed. After reviewing the titles, 135 records were excluded as they did not meet the eligibility criteria. The full-text assessment was conducted on the remaining 12 records, resulting in the exclusion of eight articles for the following reasons: inability to retrieve the full text (n=1); lack of analysis on the oral microbiota (n=1); sample not including athletes or participants with training experience (n=3); and a focus on the impact of nutrition on athlete microbiology (n=3). Additionally, one study (n=1) was identified through citation searching of relevant articles. In total, five studies were included in the final analysis (Figure 1). These consisted of one cross-sectional study [17] and four case-control studies [18-21].

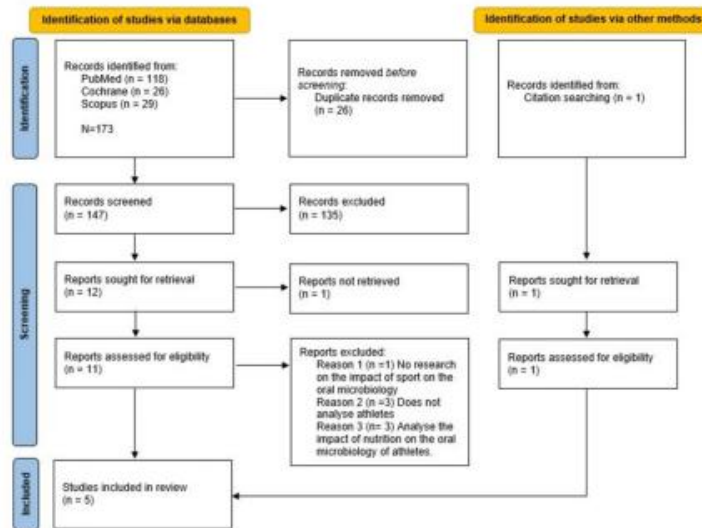


FIGURE 1: A PRISMA flowchart diagram describing the selection process

PRISMA: Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses; Cochrane: the Cochrane Library

Study Characteristics

The general characteristics of the selected studies are summarized in Table 2.

Authors and years	Type of study	Characteristics of participants	Method of analysis	Main results
Lamb et al., 2016 [18]	Case-control study	Sports group: 10 female students playing hockey during the sports season (active); Non-athlete group: nine students who played football during the off-season (inactive) at the time of the study. Characteristics: Students aged between 18 and 20 years in NCAA Division III at Chatham University, USA.	Bacterial growth on different agars was as follows: Blood agar showed non-specific growth; Mitis salivarius agar showed the growth of <i>Streptococcus salivarius</i> and <i>Streptococcus mitis</i> ; <i>Staphylococcus</i> 110 agar showed the growth of <i>Staphylococci</i> . The results were expressed in CFU/ml.	Blood agar: CFU/ml higher in athletes in season than out of season ($p=0.045$). Mitis salivarius agar: A statistically significant decrease in the number of bacteria in the in-season group ($p=0.0006$). <i>Staphylococcus</i> 110 agar: No significant difference in the number of CFU/ml between the two groups ($p = 0.506$). Sheep's blood agar: The number of total CFUs

Minty et al., 2018 [19]	Case-control study	Sports group (PRG): 24 professional rugby players from the Union Sportive Colomiers team, France; Non-athlete group (CG): 22 sedentary people from south-west France	Bacterial growth on sheep blood agar; 16s rDNA sequencing to define the salivary bacterial composition	decreased in elite rugby players. Sequencing: Increase in <i>Streptococcus</i> species ($p=0.005$) particularly those involved in caries in PRGs (<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> , and <i>Streptococcus gordonii</i>) and the <i>Rothia</i> genus ($p<0.0001$). The oral microbiota of the GC was dominated by the genera <i>Proteobacteria</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Haemophilus</i> , and <i>Fusobacterium</i> compared with the PRG.
Basak et al., 2015 [17]	Cross-sectional study	Cohort: 20 Turkish professional swimmers; 14 men and six women aged between 15 and 30 years. Samples taken before and after training	16s rDNA sequencing to define the salivary bacterial composition	The number of <i>Bacteroides</i> ($p = 0.007$) and <i>Firmicutes</i> ($p = 0.014$) phyla was reduced after training. The <i>Bacilli</i> ($p = 0.048$) and <i>Clostridia</i> ($p = 0.006$) classes were reduced after training. The orders <i>Clostridiales</i> ($p=0.004$), <i>Entomoplasmatales</i> ($p=0.009$), and <i>Bacillales</i> ($p=0.006$) were reduced after training. The bacterial family <i>Lachnospiraceae</i> ($p=0.001$) was reduced after training. The genus <i>Stenotrophomonas</i> ($p=0.013$) increased after training. The genera <i>Streptococcus</i> ($p=0.232$), <i>Pseudomonas</i> ($p=0.526$), <i>Serratia</i> ($p=1.000$), <i>Chryseobacterium</i> ($p=0.372$), and <i>Rothia</i> ($p=0.052$) were higher than the other genera detected but did not vary significantly after training.
Kalabiska et al., 2023 [20]	Case-control	Sports group: 29 water polo players; Non-athlete group: 16 sedentary people (eight men and eight women); Characteristics: participants aged between six and 20 years. Study carried out in Hungary.	16s rDNA sequencing to define the salivary bacterial composition	Men had a higher abundance of the genera <i>Atopobium</i> and <i>Prevotella_7</i> ($p < 0.05$). Men had a lower abundance of the genera <i>Fusobacterium</i> , <i>Gemella</i> , and <i>Streptococcus</i> ($p < 0.05$). Compared with the control group, water polo players had a significantly higher relative abundance of the genus <i>Vellonella</i> ($p < 0.05$, 18.3% vs. 14.6%) and a significantly lower relative abundance of the genus <i>Gemella</i> ($p < 0.05$, 3.8% vs. 4.9%).
D'ercole et al., 2015 [21]	Case-control	Sports group: 54 competitive swimmers; Non-athlete group: 69 non-competitive swimmers; Characteristics: a cohort of adolescents, two samples taken before and after training was carried out in Italy.	PCR of three species of oral streptococci: <i>Streptococcus mutans</i> ATCC31383, <i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC27607, and <i>Streptococcus sanguinis</i> 49297	Of the group, 18.64% of competitive swimmers and 32.2% of control swimmers had <i>Streptococcus mutans</i> in their saliva ($p > 0.05$). <i>Streptococcus sobrinus</i> was present in 22.03% of competitive swimmers and 91.6% of non-competitive swimmers ($p < 0.05$). On the other hand, <i>Streptococcus sanguinis</i> was only detected in the saliva sample of competitive swimmers. There was no difference between the pre- and post-training samples.

TABLE 2: Characteristics of the selected studies

NCAA: National Collegiate Athletic Association; PRG: professional rugby players; CG: control group; CFU/ml: colony-forming units per milliliter; PCR: polymerase chain reaction; ATCC: American Type Culture Collection

The included studies were published between 2015 and 2023, indicating a relatively recent body of research. These studies were conducted in various countries, including the United States [18], France [19], Türkiye [17], Hungary [20], and Italy [21].

Two studies focused on team sports, specifically rugby, hockey, and football, while three studies examined water sports, such as swimming and water polo. The populations studied varied across the research. In the case-control studies, two studies compared groups of athletes to sedentary individuals, one study analyzed differences between active and inactive athletes, and one study compared competitive athletes with non-competitive athletes. The cross-sectional study assessed changes within a single group of athletes before and after training.

A total of 332 participants aged between six and 32 years were included in the studies. Among them, 137 were active athletes in the test group, while 116 were sedentary or inactive individuals in the control group.

All studies analyzed saliva samples. Specifically, two studies examined stimulated saliva using a paraffin block, one study analyzed unstimulated saliva, and two studies did not specify the type of saliva analyzed. All studies focused on bacterial detection within the salivary microbiota. Among the methodologies employed, one study used polymerase chain reaction (PCR) [21] for microbiota detection, two studies used agar culture methods [18, 19], and three studies used 16s rRNA sequencing techniques [17,19,20].

The criteria for dental assessments included the Decayed, Missing, and Filled Teeth (DMF) Index [17, 19, 21], Significant Caries Index (SiC) [17], Bleeding on probing (BOP) [17], Plaque Index (Pi) [17,19], Loe-Silness Index (LSI) [19], Loe Silness Gingival Index [19], as well as evaluations for dental stains, erosions, trauma, aphthae, anomalies [21], fluoride intake [21], and Saliva pH [19]. Notably, no dental check-up was conducted in the study of Lamb et al. [18] and Kalabiska et al. [20].

To reduce potential biases, the studies collected data on dietary habits and supplementation [19, 21], general oral quality of life [19], dental visit history [19], oral hygiene practices and health behaviors [19, 21], and stress [18,19]. Additionally, height, body weight [17-19], and body mass index (BMI) were analyzed [18,19].

According to fitness classification, only one study assessed maximal oxygen consumption (VO₂ max) to discriminate between in-season and off-season participants. Furthermore, two studies investigated salivary IgA levels [18, 21], and one study investigated cortisol levels [18] in addition to oral microbiota detection.

Bias and Quality of the Included Studies

Based on the criteria outlined in the NIH study quality assessment tools for case-control and cross-sectional studies, three out of the five studies were qualified as having a low risk of bias [18,19,21], while two studies [17,20] were classified as having a medium risk of bias. The quality assessment results for each selected study are detailed in Table 3 and Table 4.

NIH quality assessment for case-control studies	Research question	Study population	Sample size justification	Groups recruited from the same population	Inclusion and exclusion criteria specified and applied uniformly	Case and control definitions	Random selection of study participants	Concurrent controls	Exposure assessed prior to outcome measurement	Exposure measures and assessment	Blinding of exposure assessors	Statistical analysis
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Lamb et al., 2016 [18]	Y	Y	N	Y	Y	Y	NA	Y	Y	N	N	N
Mirly et al., 2018 [19]	Y	Y	N	Y	Y	Y	NA	Y	Y	N	N	Y
Kalabiska et al., 2023 [20]	Y	Y	N	Y	Y	N	NA	Y	Y	N	N	N
O'Enne et al., 2015 [21]	Y	Y	N	Y	Y	Y	NA	Y	Y	Y	N	Y

TABLE 3: The NIH quality assessment tool for case-control studies

NIH: National Institutes of Health; Y: yes; N: No; NA: not applicable

NIH quality assessment for cross-sectional studies	Research question	Study population	Study population	Groups recruited from the same population	Sample size justification	Exposure assessed prior to outcome measurement	Sufficient timeframe to see an effect	Different levels of exposure of interest	Exposure measures and assessment	Repeated exposure assessment	Outcome measures	Blinding of outcome assessors	Follow-up rate	Statistical analysis
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Basak et al., 2015 [17]	Y	Y	NA	Y	N	N	N	N	Y	N	Y	NR	NA	N

TABLE 4: The NIH quality assessment tool for cross-sectional studies

NIH: National Institutes of Health; Y: yes; N: No; NA: not applicable

The Oral Microbiota in Relation to Aquatic Sports Setting

The key results obtained from the studies are presented in Table 5.

Study name	Main results
Basak et al., 2015 [17]	The study identified <i>Streptococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> , and other genera at relatively high levels in competitive swimmers. Post training, <i>Stenotrophomonas</i> increased in some, but not in all athletes.
Lamb et al., 2016 [18]	Levels of <i>Streptococcus</i> , particularly <i>Streptococcus mitis</i> and <i>Streptococcus salivarius</i> , were found to be lower in the group of active female hockey players.
Minty et al., 2018 [19]	Rugby players exhibited increased levels of <i>Streptococcus</i> species, including <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> , and <i>Streptococcus gordonii</i> . Additionally, the abundance of <i>Rothia</i> was higher in rugby players. No significant differences were observed in <i>Staphylococcus</i> levels.
Kalabiska et al., 2023 [20]	Water polo players showed increased <i>Veillonella</i> and decreased <i>Gemella</i> compared to non-athletes.
D'Ercol et al., 2015 [21]	Non-competitive swimmers had a significantly higher prevalence of <i>Streptococcus sobrinus</i> and <i>Streptococcus mutans</i> was similar in both groups, while <i>Streptococcus sanguinis</i> was only found in competitive swimmers.

TABLE 5: Principal outcomes of the selected studies

In the three studies examining water sports, salivary samples were used to analyze the oral microbiota. Basak et al. [17] and Kalabiska et al. [20] utilized sequencing techniques, while D'Ercol et al. used PCR methods [21].

The findings across these studies were heterogeneous, particularly regarding bacterial genus. In the study by Basak et al. on competitive swimmers, the genera *Streptococcus* (p=0.232), *Pseudomonas* (p=0.526), *Serratia* (p=1.000), *Chryseobacterium* (p=0.372), and *Rothia* (p=0.052) were observed at relatively high levels compared to other genera [17]. No significant variations were observed post-training, except for *Stenotrophomonas* (p=0.013), which showed a notable increase, though this was not consistent across all athletes and was reduced in some participants.

Kalabiska et al. revealed an increase in the *Veillonella* genus and a decrease in the *Gemella* genus in water polo players compared with sedentary players (p < 0.05) [20].

The study by D'Ercol et al., focusing on competitive and non-competitive swimmers, specifically examined the *Streptococcus* genus and the species *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, and *Streptococcus sanguinis* [21]. They found that *Streptococcus mutans* was present in 18.64% of competitive swimmers and

32.2% of non-competitive swimmers, although this difference was not significant ($p > 0.05$). The only significant finding was for *Streptococcus sobrinus*, which appeared in 22.03% of competitive swimmers and 91.6% of non-competitive swimmers ($p < 0.05$); both *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* were linked to dental caries development. Additionally, *Streptococcus sanguinis*, a bacteria associated with dental health, was exclusively detected in competitive swimmers. Basak et al. [17] noted variations at the species level post training, but none were statistically significant.

Only Basak et al. assessed bacterial diversity, finding no significant differences before and after training for the Shannon Index ($p = 0.54$), Simpson Index ($p = 0.784$), and the Inverse Simpson Index ($p = 0.747$) [17].

The Oral Microbiota in Relation to Team Sport Setting

In the two studies focusing on team sports, salivary samples were used to analyze the oral microbiota. Both Lamb et al. [18] and Minty et al. [19] used cultured bacteria on agar. Minty et al. also performed a sequencing method to further characterize the salivary microbiota. Notable variations in oral microbiota composition were observed between female hockey players and professional rugby players [19].

Lamb et al. [18] reported an increase in the overall bacterial count in female hockey players, while Minty et al. observed a decrease in this parameter among professional rugby players [19]. Specifically, Lamb et al. found a reduction in the *Streptococcus* genus, particularly in *Streptococcus mitis* and *Streptococcus salivarius*, in female hockey players compared to their off-season counterparts [18]. In contrast, Minty et al. identified an increase in *Streptococcus* in rugby players, notably *Streptococcus mutans*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus sobrinus*, and *Streptococcus gordonii*, all of which are associated with dental caries [19]. Additionally, rugby players exhibited a higher abundance of *Rothia* genus compared with sedentary players. No differences were observed between the two groups in the presence of *Staphylococcus*.

Finally, the overall bacterial diversity was found to be lower in professional rugby players than in non-professional athletes [19].

Discussion

Understanding the Modifications in the Oral Microbiota Associated With Sports Practice

This review synthesizes recent findings on the association between oral microbiota composition and physical activity. Current evidence suggests that individuals engaged in regular physical activity demonstrate distinct oral microbiota composition profiles compared to sedentary or non-active controls. The genus *Streptococcus* is frequently modified in athletes [18-21] (Table 2). *Streptococcus* species play a major role in the early stages of dental plaque formation, comprising about 60% to 90% of initial supragingival biofilm within the first 24 hours of colonization [22]. *Streptococcus mitis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguinis* are primary colonizers on tooth surfaces, whereas *Streptococcus thermophilus*, a lactic-acid-producing bacterium, can thus participate in the development of caries by the acidification of the environment [23,24]. Cariogenic species, such as *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*, play central roles in dental caries pathogenesis, while *Streptococcus salivarius* exhibits the potential to inhibit *Streptococcus mutans* biofilm growth [25].

D'Ercole et al.'s study [21] suggests that sports practice may confer beneficial effects on the oral microbiota composition by reducing bacteria linked to periodontal diseases and caries, such as *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mitis*, and *Streptococcus salivarius*, and by increasing caries-protective species like *Streptococcus sanguinis*. In contrast, other studies indicate that athletic activity could promote the proliferation of cariogenic bacteria, including *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus gordonii*, and *Streptococcus thermophilus* [19,20], especially athletes with a high-carbohydrate diet and insufficient oral hygiene practices may be particularly susceptible. The oral microbiome of athletes revealed a significant increase in the genera *Rothia* [19], *Stenotrophomonas* [17], *Veillonella* [20], and a decrease in the genus *Gemella* [20].

In addition, dietary nitrates (NO_3^-), when ingested, are partly redistributed to saliva and serve as substrates for oral microbial metabolism. This metabolic process reduces NO_3^- to nitrites (NO_2^-), involving bacteria capable of nitrate reduction, such as *Veillonella*, *Actinomyces*, *Rothia*, *Neisseria*, *Haemophilus*, and *Streptococcus* [26]. Burleigh et al. found that the rate of nitrate-to-nitrite reduction correlates with the abundance of nitrate-reducing oral bacteria via the nitrate reductase enzyme [27]. Other studies indicate that physical training, such as swimming, can elevate nitrate-reducing bacteria, including *Veillonella*, *Rothia*, and *Staphylococcus*, within the oral microbiota of athletes [28]. These findings suggest that the oral bacteria may play a significant role in catalyzing nitrate reduction, possibly contributing to an increase in nitrite levels following training.

While studies predominantly focus on the impact of exercise on the gut microbiota, the established bidirectional interaction between the oral and gut microbiota suggests parallel influences of physical activity on both microbial communities. For instance, Sabater et al. found a slight increase in *Veillonella*

species, including *Veillonella atypica* in the gut microbiota of endurance athletes (marathon runners and rowers), which may be associated with reduced muscular fatigue [29]. Additionally, recent evidence indicates a rise in short-chain fatty acid (SCFA)-producing bacteria, such as *Akkermansia*, *Faecalibacterium*, *Veillonella*, and *Roseburia*, among physically active individuals and those undergoing exercise interventions [30].

The heterogeneity of study methodologies and participant characteristics poses challenges for direct comparisons. For instance, the physical demands and training hours differ between professional rugby players [19] and amateur female hockey players [18]. Future research could benefit from the establishment of objective fitness indicators (e.g., VO₂ max) to enhance study comparability. Evidence suggests that moderate physical activity promotes protective microbial diversity and oral health, whereas intense training may induce physiological stress that could lead to the alteration of the oral microbiota composition. Athletes, usually considered healthier than the normal population, are in fact more prone to infections of the respiratory tract in the time frames subsequent to heavy sports sessions [31]. This period of vulnerability has been theorized as the 'open window' theory characterized by a short-term decreased immune function following endurance training [32,33].

This immune alteration might contribute to oral dysbiosis. Additional factors potentially impacting the oral microbiota include dietary changes, shifts in oral pH due to increased respiration, and dehydration associated with intense training [34].

While current findings indicate the oral microbiota of athletes is distinct, more research is needed to elucidate the specific impacts of physical activity. Moreover, many confounding factors, such as diet and hydration status, which are known to influence athletes' oral health, remain underexplored in existing studies.

Limitations of the present studies

The studies reviewed have several limitations that affect the reliability and generalizability of their findings. One major constraint lies in the small sample sizes across the studies, which limits their statistical power and increases the possibility of false associations. For example, Lamb et al. [18] studied only 10 athletes with nine non-athletes, while Basak et al. [17] analyzed the microbiota in 20 Turkish professional swimmers, and Minty et al. [19] included 24 athletes with 22 non-athletes. Kalabiska et al. [20] had a larger sample size, with 124 participants, but for financial reasons, only 29 athletes and 16 non-athletes were analyzed for salivary microbiological composition. Only the study by D'Ercole et al. involved a sample size sufficient to draw stronger conclusions, with 123 participants, including 54 athletes and 69 non-athletes [20]. Despite this, the limited cohorts across studies reduce the scope of conclusions and limit the generalizability of results to broader populations.

In addition to sample size, the diversity of participant characteristics introduces complexity. Significant variability exists across studies regarding gender and age. For example, Lamb et al. [18] recruited only female athletes who participated in different sports (hockey vs. football) in different seasons of the year (in-season vs. off-season). Whereas Minty et al. [19] focused solely on male rugby players, making gender a confounding factor that complicates cross-study comparisons. The oral microbiota differs greatly between men and women, making it impossible to compare studies with exclusively male and female cohorts [35]. This variability is further compounded by the considerable range of ages among participants, from six to 32 years old, from children and adolescents to young adults, as seen in D'Ercole et al. [21] (ages six to 15), Lamb et al. [18] (ages 18 to 20), Kalabiska et al. [20] (ages 16 to 20), and Minty et al. [19] (ages 15 to 32). The oral microbiota undergoes continuous changes during childhood and adolescence due to various physiological factors (permanent teeth, puberty, hormonal changes, etc), making it challenging to directly compare the microbiota of children, adolescents, and adults [36].

Moreover, differences in the sports studied further complicate comparisons. The reviewed studies investigated team sports, such as rugby, hockey, and football, as well as individual water sports like swimming and water polo. Each sport's physical and environmental demands can significantly affect the oral microbiota composition. For instance, the physiological and energy demands of a professional rugby player may differ greatly from those of a student hockey player or swimmer. Furthermore, water sports, where athletes train extensively in chlorinated environments (e.g., water polo, swimmers). Consequently, the differences in sports types make it difficult to isolate sport-specific impacts on oral microbiota across studies.

Another significant limitation is the inconsistent consideration of confounding factors such as diet, stress, and lifestyle, which are known to influence oral health and oral microbiota composition. Only some studies, such as those by Minty et al. [19] and D'Ercole et al. [21], analyzed the diet of athletes using a questionnaire (quantity and frequency of food intake and the type of food), while others, like Lamb et al. [18], Basak et al., and Kalabiska et al. [20], did not include dietary assessment, which introduces potential confounding variables into the analysis. Similarly, Lamb et al. [18] and Minty et al. [19] assessed the stress levels of athletes, which can impact oral health, through the use of a stress score on a 10-point scale or the Generalized Anxiety Disorder scale (GAD-7), other studies omitted this factor. Such variability in controlling

for confounding factors complicates efforts to accurately attribute observed microbiota differences to athletic activity alone.

The reliability of the studies' methods also varies. Only Minty et al. [19] specified that investigators were calibrated and qualified dentists, adding rigor to the dental assessments. However, even in this study, measurement bias may have been introduced since the investigators were unable to be blinded to participants' athletic identities due to the physical appearance of rugby players during the oral and dental check-ups. In other studies, such as those by Basak et al. [17], Kalabiska et al. [20], D'Ercole et al. [21], and Lamb et al. [18], it remains unclear whether investigators were calibrated, potentially reducing reliability and increasing the risk of observer bias in oral microbiota assessments.

Finally, the differences in microbiota analysis methods across studies limit the ability to compare findings. While Lamb et al. [18] relied solely on agar culture, Minty et al. [19] combined culture with sequencing, and others, such as Basak et al. [17] and Kalabiska et al. [20], used sequencing alone. D'Ercole et al. utilized PCR [21]. Sequencing offers a more comprehensive and accurate view of bacterial diversity compared to the agar culture and PCR. Furthermore, all studies focused exclusively on bacterial populations, obscuring other oral microbiota components, such as fungi and viruses, which also play roles in maintaining oral health and disease dynamics. Saliva was the biological sample analyzed in all studies. However, variations in the sample collection methods were observed, with some studies using stimulated saliva [19,21] and others using unstimulated saliva [17,18,20].

Future research should prioritize larger, more diverse sample sizes and employ more consistent methodologies for the assessment of sports parameters and the application of microbiological techniques across studies. Comprehensive and standardized microbiota analyses that expand beyond bacteria would also provide a fuller understanding of how sports impact oral health.

Conclusions

In conclusion, although the available evidence is limited, current literature suggests an association between physical activity and alterations in the oral microbiota composition. However, it remains uncertain whether these modifications are beneficial or detrimental to oral health, as no clinical evidence yet confirms a clear direction of these changes. The considerable heterogeneity across studies stemming from differences in methods, participant groups, and covariate considerations makes direct comparisons challenging. Future studies would benefit from standardized methods and more homogeneous participant groups to improve comparability.

Significant biases also persist, including variability in sample sizes, inconsistencies in covariate selection, and a lack of investigator calibration. The predominance of case-control studies limits the strength of the evidence, as this design would benefit from well-designed cohort studies or randomized controlled trials, which would provide more robust data on the influence of physical activity on oral microbiota. By addressing these methodological issues, future research could clarify whether a direct and reliable link exists between the practice of sport and modifications in the oral microbiota, ultimately leading to better-informed recommendations for athletes' oral health management.

Additional Information

Author Contributions

All authors have reviewed the final version to be published and agreed to be accountable for all aspects of the work.

Concept and design: Margaux Dubois, Morgane Ortis, Marie-France Bertrand, Alain Doglio, Valérie Bougault, Bérangère Delcourt

Acquisition, analysis, or interpretation of data: Margaux Dubois, Morgane Ortis, Bérangère Delcourt

Drafting of the manuscript: Margaux Dubois, Morgane Ortis, Bérangère Delcourt

Critical review of the manuscript for important intellectual content: Margaux Dubois, Morgane Ortis, Marie-France Bertrand, Alain Doglio, Valérie Bougault, Bérangère Delcourt

Supervision: Marie-France Bertrand

Disclosures

Conflicts of interest: In compliance with the ICMJE uniform disclosure form, all authors declare the following: **Payment/services info:** All authors have declared that no financial support was received from any organization for the submitted work. **Financial relationships:** All authors have declared that they have no financial relationships at present or within the previous three years with any organizations that might

have an interest in the submitted work. **Other relationships:** All authors have declared that there are no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.

References

- Gallagher J, Ashley P, Petrie A, Needleman I: Oral health and performance impacts in elite and professional athletes. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2018, 46:563-8. [10.1111/cdoe.12392](https://doi.org/10.1111/cdoe.12392)
- Piccinini PM, Fasel R: Sports dentistry and the olympic games. *J Calif Dent Assoc.* 2005, 33:471-83.
- Yang XJ, Schamach P, Dai JP, et al.: Dental service in 2008 Summer Olympic Games. *Br J Sports Med.* 2011, 45:270-4. [10.1136/bjism.2010.075283](https://doi.org/10.1136/bjism.2010.075283)
- Ashley P, Di Iorio A, Cole E, Tanday A, Needleman I: Oral health of elite athletes and association with performance: a systematic review. *Br J Sports Med.* 2015, 49:14-9. [10.1136/bjsports-2014-093617](https://doi.org/10.1136/bjsports-2014-093617)
- Needleman I, Ashley P, Fine P, et al.: Consensus statement: oral health and elite sport performance. *Br Dent J.* 2014, 217:587-90. [10.1058/sj.bdj.2014.1000](https://doi.org/10.1058/sj.bdj.2014.1000)
- Merle CL, Wuestenfeld JC, Fenke F, Wolfarth B, Haak R, Schmalz G, Ziebolz D: The significance of oral inflammation in elite sports: a narrative review. *Sports Med Int Open.* 2022, 6:E69-79. [10.1055/a-1964-8538](https://doi.org/10.1055/a-1964-8538)
- Dewhirst FE, Chen T, Izard J, et al.: The human oral microbiome. *J Bacteriol.* 2010, 192:5002-17. [10.1128/JB.00542-10](https://doi.org/10.1128/JB.00542-10)
- Baker JL, Mark Welch JL, Kauffman KM, McLean JS, He X: The oral microbiome: diversity, biogeography and human health. *Nat Rev Microbiol.* 2024, 22:89-104. [10.1038/s41579-023-00963-6](https://doi.org/10.1038/s41579-023-00963-6)
- Sedghi L, Di Massa V, Harrington A, Lynch SV, Kapila YL: The oral microbiome: role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontol 2000.* 2021, 87:107-31. [10.1111/prd.12393](https://doi.org/10.1111/prd.12393)
- Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G: The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol.* 2018, 16:745-59. [10.1038/s41579-018-0089-x](https://doi.org/10.1038/s41579-018-0089-x)
- Zhang Y, Wang X, Li H, Ni C, Du Z, Yan F: Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomed Pharmacother.* 2018, 99:883-93. [10.1016/j.biopha.2018.01.146](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.146)
- Paudel D, Uehara O, Giri S, et al.: Effect of psychological stress on the oral-gut microbiota and the potential oral-gut-brain axis. *Ip Dent Sci Rev.* 2022, 58:365-75. [10.1016/j.jdsr.2022.11.003](https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2022.11.003)
- Rice SM, Gwyther K, Santesteban-Echarri O, et al.: Determinants of anxiety in elite athletes: a systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med.* 2019, 53:722-30. [10.1136/bjsports-2019-100620](https://doi.org/10.1136/bjsports-2019-100620)
- Cho I, Blaser MJ: The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet.* 2012, 13:260-70. [10.1038/nrg3182](https://doi.org/10.1038/nrg3182)
- Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, et al.: The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *Syst Rev.* 2021, 10:89. [10.1186/s13645-021-01626-4](https://doi.org/10.1186/s13645-021-01626-4)
- Study quality assessment tools. (2021). Accessed: April, 2025: <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/study-quality-assessment-tools>.
- Eken BF, Akkoç O, Yücesir I, Akmansoy ŞC, Kadir T, Ulucan K: The alteration of oral microbiota before and after training in swimmers. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 2023, 69:92-102. [10.14715/cmb/2023.69.11.15](https://doi.org/10.14715/cmb/2023.69.11.15)
- Lamb AI, Hess DE, Edenborn S, Ubinger E, Carrillo AE, Appasamy PM: Elevated salivary IgA, decreased anxiety, and an altered oral microbiota are associated with active participation on an undergraduate athletic team. *Physiol Behav.* 2017, 169:169-77. [10.1016/j.physbeh.2016.12.004](https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.12.004)
- Minty M, Canceill T, Lé S, et al.: Oral health and microbiota status in professional rugby players: a case-control study. *J Dent.* 2018, 79:53-60. [10.1016/j.jdent.2018.10.001](https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.10.001)
- Kalabiska I, Annar D, Keki Z, Borbas Z, Bhattoa HP, Zsakai A: The oral microbiome profile of water polo players aged 16-20. *Sports (Basel).* 2023, 11:216. [10.3390/sports11110216](https://doi.org/10.3390/sports11110216)
- D'Ercole S, Tieri M, Martignoli D, Tripodi D: The effect of swimming on oral health status: competitive versus non-competitive athletes. *J Appl Oral Sci.* 2016, 24:107-13. [10.1590/1678-775720150324](https://doi.org/10.1590/1678-775720150324)
- Abranches J, Zeng L, Kafaz JK, et al.: Biology of oral streptococci. *Microbiol Spectr.* 2018, 6:10.1128/microbiolspec.GPP5-0042-2018
- Azad A, Ranjbaran A, Zareshahrabadi Z, Mehrabani D, Zahed Zahedani M, Talebanpour A, Zomorodian K: Protective effects of the probiotic bacterium *Streptococcus thermophilus* on *Candida albicans* morphogenesis and a murine model of oral candidiasis. *Iran J Med Sci.* 2021, 46:207-17. [10.30476/ijms.2020.82080.0](https://doi.org/10.30476/ijms.2020.82080.0)
- Ogawa A, Furukawa S, Fujita S, et al.: Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by *Streptococcus salivarius* FruA. *Appl Environ Microbiol.* 2011, 77:1572-80. [10.1128/AEM.02066-10](https://doi.org/10.1128/AEM.02066-10)
- Bloch S, Hager-Mair FF, Andrukhov O, Schäffer C: Oral streptococci: modulators of health and disease. *Front Cell Infect Microbiol.* 2024, 14:1357631. [10.3389/fcimb.2024.1357631](https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1357631)
- Walters CL, Smith PL: The effect of water-borne nitrate on salivary nitrite. *Food Cosmet Toxicol.* 1981, 19:297-302. [10.1016/0015-6264\(81\)90388-6](https://doi.org/10.1016/0015-6264(81)90388-6)
- Burleigh MC, Liddle I, Monaghan C, et al.: Salivary nitrite production is elevated in individuals with a higher abundance of oral nitrate-reducing bacteria. *Free Radic Biol Med.* 2018, 120:80-8. [10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.025](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.025)
- Rowland SN, Chessor R, French G, Robinson GP, O'Donnell E, James LJ, Bailey SJ: Oral nitrate reduction is not impaired after training in chlorinated swimming pool water in elite swimmers. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2021, 46:86-9. [10.1159/apnm-2020-0357](https://doi.org/10.1159/apnm-2020-0357)
- Sabater C, Iglesias-Gutiérrez E, Ruiz L, Margolis A: Next-generation sequencing of the athletic gut microbiota: a systematic review. *Microbiome Res Rep.* 2023, 2:5. [10.20517/mrr.2022.16](https://doi.org/10.20517/mrr.2022.16)
- Pérez-Prieto I, Plaza-Florido A, Ubago-Guisado E, Ortega FB, Altmäe S: Physical activity, sedentary behavior and microbiome: a systematic review and meta-analysis. *J Sci Med Sport.* 2024, 27:795-804. [10.1016/j.jsams.2024.07.003](https://doi.org/10.1016/j.jsams.2024.07.003)
- Cicchella A, Stefanelli C, Massaro M: Upper respiratory tract infections in sport and the immune system response: A review. *Biology (Basel).* 2021, 10:362. [10.3390/biology10050362](https://doi.org/10.3390/biology10050362)
- Pedersen BK, Toft AD: Effects of exercise on lymphocytes and cytokines. *Br J Sports Med.* 2000, 34:246-51. [10.1136/bjism.34.4.246](https://doi.org/10.1136/bjism.34.4.246)
- Kakanis MW, Peake J, Brenu EW, Simmonds M, Gray B, Hooper SL, Marshall-Gradsnik SM: The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes. *Exerc Immunol Rev.* 2010, 16:119-37.
- Schulze A, Busse M: Sports diet and oral health in athletes: a comprehensive review. *Medicina (Kaunas).* 2024, 60:319. [10.3390/medicina60020319](https://doi.org/10.3390/medicina60020319)
- Liu X, Tong X, Jie Z, et al.: Sex differences in the oral microbiome, host traits, and their causal relationships. *iScience.* 2023, 26:105839. [10.1016/j.isci.2022.105839](https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105839)
- Ren Y, Chen M, Wang Z, Han JJ: Oral microbiota in aging and diseases. *Life Med.* 2024, 3:1nae024. [10.1093/lifemed/lnae024](https://doi.org/10.1093/lifemed/lnae024)

II-2. Approche méthodologique de l'étude

II-2.1 La détection multiplexée de cytokines selon la technologie MSD®

Le processus de quantification mis au point par la société Meso Scale Discovery® (MSD) est basé sur la technologie MULTI-ARRAY®. Il s'agit d'une détection multiplexée par électrochimiluminescence. Cette technique de quantification permet d'obtenir une très bonne sensibilité, ainsi qu'une large plage dynamique de détection.

Les microplaques de 96 puits sont tapissées d'électrodes en carbone à haute liaison qui permettent une fixation facile et puissante des réactifs biologiques. Les anticorps de détection sont conjugués à des marqueurs électrochimiluminescents appelés SULFO-TAG qui permettent une détection ultra-sensible des réactifs (Figure 22). L'électricité est appliquée aux électrodes de la plaque conduisant à l'émission de lumière par les étiquettes SULFO-TAG en entraînant une réaction d'oxydo-réduction. L'intensité lumineuse est ensuite mesurée pour quantifier les analytes dans l'échantillon (Figure 22).

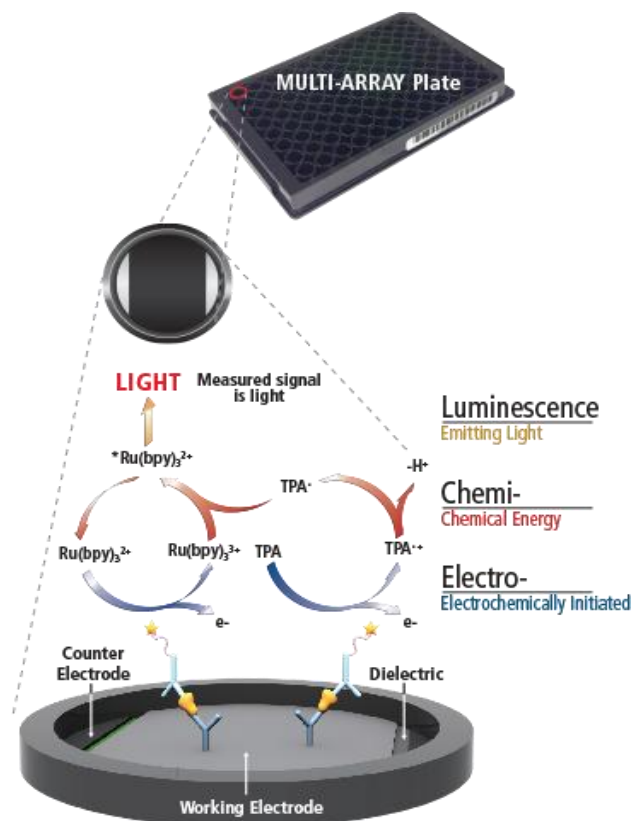


FIGURE 22 : MÉCANISME DE LA TECHNOLOGIE MULTI-ARRAY®

Les anticorps de capture sont fixés sur des électrodes au fond des puits. Après la liaison des analytes et des anticorps de détection marqués au ruthénium, l'application d'un courant électrique déclenche une réaction d'électrochimiluminescence. Le co-réactif TPA (tripropylamine) est oxydé à l'électrode et transfère son énergie au complexe ruthénium, générant une forme excitée (Ru²⁺) qui émet de la lumière lors de son retour à l'état basal. L'intensité lumineuse, proportionnelle à la quantité d'analyte, est mesurée de façon sensible et multiplexée.

Cela permet de diminuer les signaux de fond car le mécanisme de stimulation (électricité) est découplé du signal (lumière). Les multiples cycles d'excitation de chaque marqueur amplifient le signal afin d'augmenter les niveaux de lumière et d'améliorer la sensibilité.

MSD commercialise des plaques « MULTI-SPOT » permettant la détection et la quantification simultanée de plusieurs analytes dans un même échantillon. Ce dispositif autorise, par exemple, le dosage simultané de neuf molécules à partir de 25 μL d'échantillon, avec une sensibilité de l'ordre du femtogramme par millilitre (fg/mL). L'analyse d'une plaque nécessite environ cinq heures, et la technique présente plusieurs avantages pratiques : absence de recours à des lasers, absence d'étapes de nettoyage ou d'étalonnage, et simplicité de mise en œuvre. Dans mon étude, j'ai comparé les concentrations de neuf cytokines salivaires (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IFN- γ , TNF- α) mesurés avec le kit S-PLEX[®] Proinflammatory Panel 1 (humain) (Figure 23).

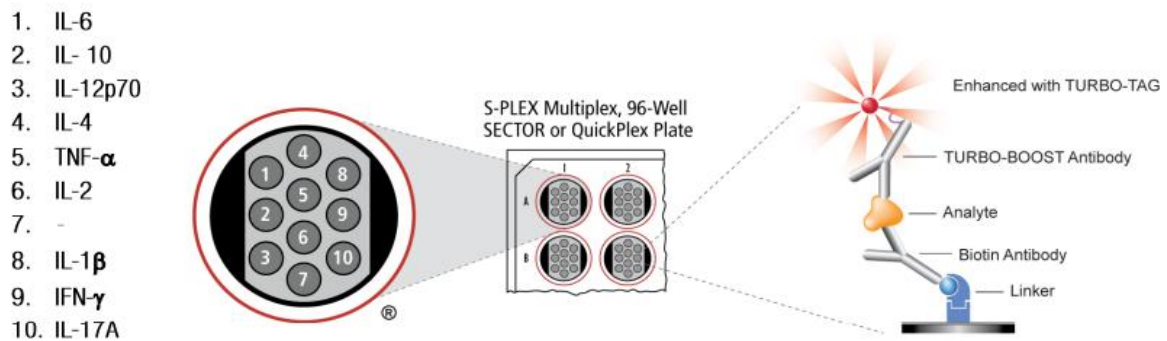


FIGURE 23 : DESCRIPTION DU KIT S-PLEX[®] PROINFLAMMATORY PANEL 1

La section suivante propose une présentation synthétique du protocole du kit S-PLEX[®] Proinflammatory Panel 1 (humain) et du kit « Pierce BSA Protein KitTM » de la société Thermo Scientific.

1.2.2 Le protocole du Kit « S-PLEX® Proinflammatory Panel 1 »

Préparation de la solution de revêtement

- **Mélanger :**
 - 4 500 µL Diluant 100
 - 1 500 µL solution de revêtement
- **Laver :** la plaque 3x avec 150 µL PBS-T
- **Ajouter :** 50 µL/puits
- **Sceller et incuber :** 1 h à RT sous agitation (~700 rpm)

Préparation blocage, échantillons & gamme étalon

- **Mélanger :**
 - 430 µL Diluant 58
 - 35 µL Blocker Solution 1 (100X)
 - 35 µL Blocker Solution 2 (100X)
- **Préparer les calibreurs** (Figure 24) :
 - Calibreur 0 = Diluant 58
 - Calibreur 1 = reconstitution dans 1000 µL Diluant 58
 - Séries de dilutions successives (8 points)
- **Préparer les échantillons :**
 - Décongélation
 - Centrifugation 2000 g, 3 min
- **Laver :** la plaque 3x avec 150 µL PBS-T
- **Ajouter** 25 µL/puits de solution de blocage + 25 µL/puits d'échantillon ou de calibreur
- **Sceller et incuber :** 1 h 30 à RT sous agitation (~700 rpm)

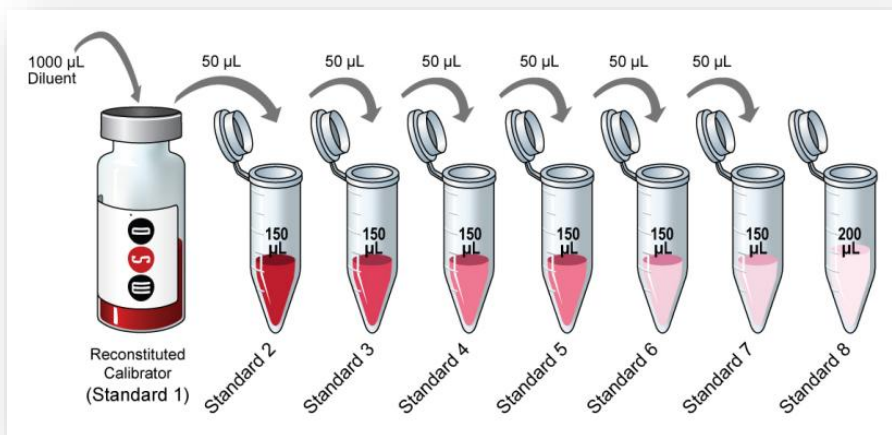


FIGURE 24 : SOLUTION DE CALIBRAGE DU KIT S-PLEX®

Préparation anticorps de détection (TURBO-BOOST)

- **Mélanger :**
 - 5 730 μL Diluant 59
 - 30 μL de chaque anticorps (IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, TNF- α)
- **Laver :** la plaque 3x avec 150 μL PBS-T
- **Ajouter :** 50 μL /puits
- **Sceller et incuber :** 1 h à RT sous agitation (~700 rpm)

Préparation Enhance solution

- **Mélanger :**
 - 970 μL H₂O qualité biologie moléculaire
 - 1 500 μL Enhance E1 (4X)
 - 1 500 μL Enhance E2 (4X)
 - 30 μL Enhance E3 (200X)
- **Laver :** la plaque 3x avec 150 μL PBS-T
- **Ajouter :** 50 μL /puit
- **Sceller et incuber :** 30 min à RT sous agitation (~700 rpm)

Préparation solution de détection (TURBO-TAG)

- **Mélanger :**
 - 4 470 μL H₂O qualité biologie moléculaire
 - 1 500 μL Detect D1 (4X)
 - 30 μL Detect D2 (200X)
- **Laver :** la plaque 3x avec 150 μL PBS-T
- **Ajouter :** 50 μL /puit
- **Sceller et incuber :** 1 h à 27 °C, agitation (~700 rpm)

Lecture de la plaque

- **Laver :** la plaque 3x avec 150 μL PBS-T
- **Ajouter :** 150 μL /puits **MSD GOLD Read Buffer**
- **Lire :** la plaque sur le **lecteur MSD** (Figure 25)



FIGURE 25 : MISE EN PLACE DE LA TECHNOLOGIE AU LABORATOIRE MICORALIS

II-2.2 Le dosage des protéines salivaires

La question de la standardisation des résultats est cruciale. En effet, il s'agit de comparer des échantillons entre eux, pour cela il est donc nécessaire de normaliser les échantillons à l'aide d'une référence commune. Traditionnellement, le dosage des cytokines salivaires est réalisé par unité de volume salivaire (femtogramme par mL de salive). La majorité des résultats de notre étude ont été exprimé sous cette forme. Toutefois, afin d'avoir une référence complémentaire, de permettre une normalisation des résultats et d'assurer la comparabilité de nos données, nous avons également décidé de standardiser les quantités de cytokine par la quantité totale de protéines salivaires présentes dans l'échantillon.

Pour cela, la quantification des protéines salivaires totales a été réalisé à l'aide du kit « Pierce BSA Protein Kit™ » de la société Thermo Scientific (Figure 26). Les concentrations de cytokines salivaires ont ainsi pu être rapportées à la quantité totale de protéines (μg), offrant une expression des données relative à la masse protéique et non plus au volume de salive analysé. Cette normalisation a pour but de réduire la variabilité inter-échantillons et d'améliorer la comparabilité des résultats.

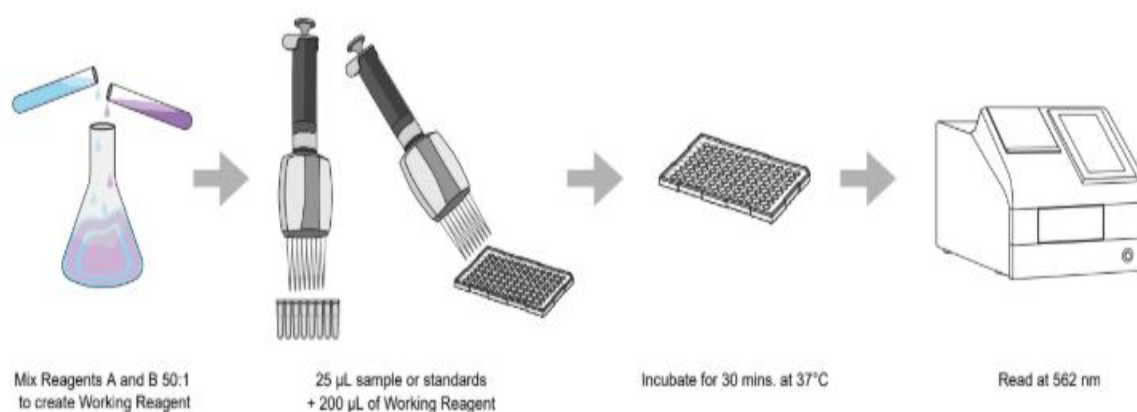


FIGURE 26 : RÉSUMÉ DU PROTOCOLE DU KIT PIERCE BSA PROTEIN KIT™ DE THERMO SCIENTIFIC POUR LA DÉTECTION COLORIMÉTRIQUE ET LA QUANTIFICATION DES PROTÉINES TOTALES.

TABLEAU 2 : PRÉPARATION DE LA GAMME ÉTALON SELON LE KIT PIERCE BSA PROTEIN KIT™

Puits	Volume de diluant	Volume de BSA	Concentration finale de BSA
A	0 μL	300 μL de stock	2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$
B	125 μL	375 μL de stock	1,500 $\mu\text{g}/\text{mL}$
C	325 μL	325 μL de stock	1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$
D	175 μL	175 μL du puits B	750 $\mu\text{g}/\text{mL}$
E	325 μL	325 μL du puits C	500 $\mu\text{g}/\text{mL}$
F	325 μL	325 μL du puits E	250 $\mu\text{g}/\text{mL}$
G	325 μL	325 μL du puits F	125 $\mu\text{g}/\text{mL}$
H	400 μL	325 μL du puits G	25 $\mu\text{g}/\text{mL}$
I	400 μL	0	0 = Blank

Préparation de la gamme et des échantillons

- Dilution des échantillons au 1/5 avec H₂O
- Préparation de la gamme selon les recommandations du fabricant (Tableau 2)
- Gamme standard en 9 points en duplicats
- Équation : $y = 0.0012x + 0.0723$
- $R^2 = 0.9953$

Préparation de la WR solution (Working Reagent)

- Volume = (#standards + #unknown) × 2 × 200 µL
- Ratio 50:1 (Réactif A:B)

Préparation de la plaque

- Ajouter 25 µL standards/échantillons (duplicats)
- Ajouter 200 µL WR/puits

Incubation

- Agiter 30 sec
- Incuber 30 min à 37 °C
- Équilibrer à température ambiante

Lecture spectrophotométrique

- Absorbance $\lambda = 540\text{--}590$ nm - lecture à 562 nm
- 3 manipulations indépendantes
- Analyse en duplicats (Figure 27)



FIGURE 27 : MISE EN PLACE DU PROTOCOLE DE QUANTIFICATION DES PROTÉINES TOTALES PAR DÉTECTION COLORIMÉTRIQUE AU LABORATOIRE MICORALIS

II-2.3 Le protocole de l'étude ORASPORT

Ces données bibliographiques nous ont amenées à vouloir investiguer le lien entre microbiote oral, réponse inflammatoire et sport d'endurance. L'hypothèse qui sous-tend ce travail est qu'un mode de vie sédentaire, tout comme une activité physique intense, induisent un appauvrissement et/ou des modifications du microbiote buccal et de la réponse immunitaire par rapport à une pratique régulière d'une activité physique raisonnée. Dans ce contexte, nous avons choisi de développer une étude transversale ORASPORT dont l'objectif est d'analyser les modifications microbiologiques et immunitaires orales en fonction du niveau d'activité physique.

Les participants ont été recrutés auprès des départements des sports et de médecine dentaire de l'université Côte d'Azur (France) et lors de compétitions sportives locales. Les critères d'inclusion et d'exclusion étaient ceux correspondant à l'étude ORASPORT : (i) être âgé de 18 à 30 ans, (ii) être de sexe masculin ou féminin, et (iii) si le participant pratique un sport physique, son activité principale doit être un sport d'endurance (cyclisme ou course à pied). Les critères d'exclusion étaient : (i) pratiquer plus de 3 heures de natation par semaine, (ii) utiliser des anti-inflammatoires dans les 48 heures précédant l'étude, et (iii) utiliser des antibiotiques et/ou des probiotiques dans les 3 semaines précédant l'étude.

Tous les participants éligibles ont reçu des informations verbales et écrites sur l'étude. Un consentement éclairé écrit a été obtenu avant l'inclusion.

En début de consultation dentaire, les participants ont rempli un questionnaire comprenant de nombreuses informations relatives à leurs habitudes alimentaires et leur activité physique, ainsi que sur leur état de santé général et bucco-dentaire. L'évaluation de la santé bucco-dentaire de chaque patient a été réalisée par le seul dentiste associé à l'étude (MD).

De nombreux critères sont recueillis lors de l'examen bucco-dentaire, chacun se rapportant à une classification validée (Figure 28). Les lésions carieuses ont été diagnostiquées à l'aide de l'indice CAOD, conformément aux critères de la 5e édition de l'OMS et à l'aide du système ICDAS. L'état gingival est évalué à l'aide de l'indice de Loe et Silness (LSI) et de l'indice de plaque (PI). De plus, la présence d'usure dentaire et de récession gingivale selon la classification de Miller a été enregistrée. La présence d'appareils orthodontiques, de restaurations prothétiques, de tartre et de diverses maladies dentaires a également été identifiée.

Les échantillons de salive non stimulée ont été prélevés après l'examen bucco-dentaire. Avant les prélèvements de salives, les participants ont dû s'abstenir de manger, de boire ou de fumer pendant au moins 30 minutes afin de garantir des conditions standardisées.

Tous les échantillons ont été immédiatement transportés au laboratoire MICORALIS pour y être conservés. Les prélèvements ont été conservés avec un inhibiteur de protéase à -80 °C jusqu'à ce que les immunoessais soient effectués à l'aide de la technologie MSD.

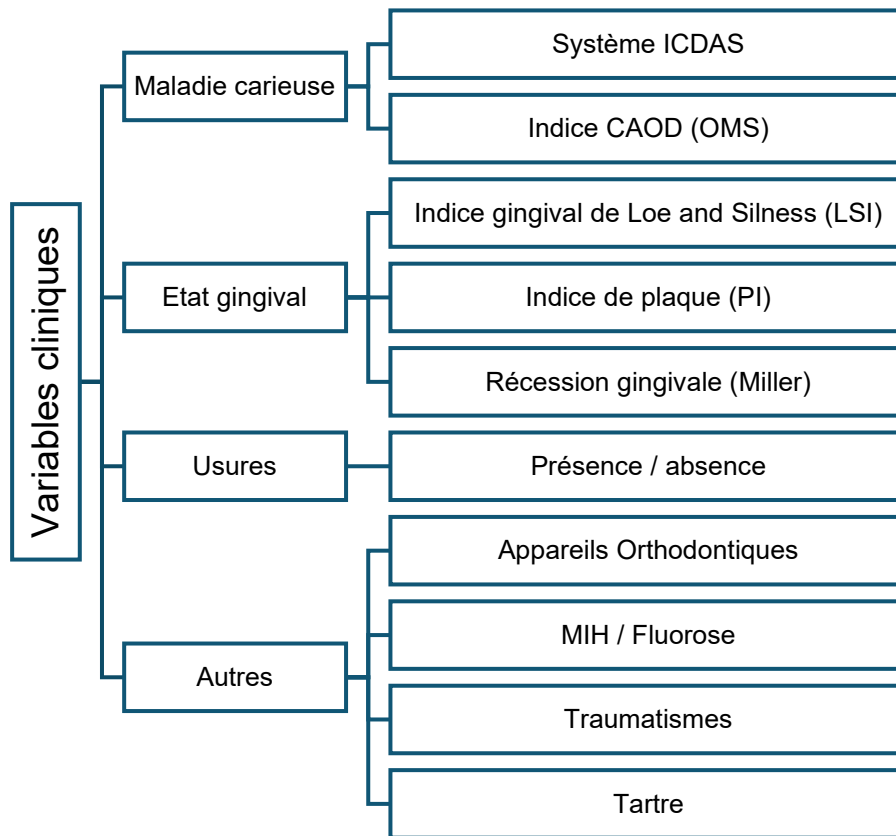


FIGURE 28 : ENSEMBLE DES INDICES ET VARIABLES CLINIQUES ÉVALUÉES DANS L'ÉTUDE ORASPORT

Durant ma première année de thèse, j'ai activement travaillé à la mise en place de cette étude clinique. L'article présenté ci-après correspond au protocole de l'étude ORASPORT, récemment soumis et en cours de publication dans *Frontiers in Oral Health*. Cet article décrit la méthodologie employée tel que l'évaluation clinique bucco-dentaire, recueil standardisé de salive et d'écouvillons gingivaux, analyse microbiologique à haut débit (Biomark HD™) et quantification multiplex de cytokines par la technologie Meso Scale Discovery®. Elle évoque également les principaux attendus de ce protocole, qui sont l'identification de signatures microbiennes et immunologiques associées aux différents niveaux de pratique sportive, ainsi que la mise en évidence de biomarqueurs non invasifs de santé orale associée au sport.

ORASPORT Study Protocol: A Prospective Observational Study on the Impact of Endurance Physical Activity on Oral Microbiology and Immunology

Ortis Morgane^{1,2*}, Dubois Margaux^{1,2*}, Bougault Valérie³, Legueult Kevin⁴, Fassy Julien⁵, Mari Bernard⁵, Bertrand Marie-France^{1,2}, Lupi Laurence^{1,2}, Doglio Alain^{1,6}

1. Laboratoire MICORALIS, Faculté de Chirurgie Dentaire, Université Côte d'Azur, 06300 Nice, France
2. Institut de médecine bucco-dentaire, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, Pôle Odontologie, 06300 Nice, France
3. Laboratoire LAMHESS, Campus Science du sport, Université Côte d'Azur, 06205 Nice, France
4. Département de Santé Publique, Université Côte d'Azur, Centre Hospitalier Universitaire de l'Archet, 06202 Nice, France
5. Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire (IPMC), Centre National de la Recherche Scientifique, CNRS, UMR 7275, Sophia Antipolis, 06560 Valbonne, France
6. Unité de Thérapie Cellulaire et Génique (UTCG), Centre Hospitalier Universitaire de Nice, 06003 Nice, France

*** Co-author**

Corresponding author: Morgane Ortis, Laboratoire MICORALIS, 5 rue du 22ème BCA 06300 Nice, France

morgane.ortis@univ-cotedazur.fr

Key-words: oral health; oral microbiota; cytokines; endurance sports; protocol

Words account: 3915

ABSTRACT

INTRODUCTION: The oral cavity offers a non-invasive window into systemic health. Elite athletes often present with poor oral health, potentially linked to high physiological stress, psychological strain, and specific dietary habits. This study explores the relationship between physical activity and oral health, with a particular focus on identifying key changes in the oral microbiota and salivary immune profiles. The main objective is to compare the composition of oral microbiota and the levels of salivary cytokines among young healthy individuals with varying levels of endurance physical activity.

METHODS AND ANALYSIS: The ORASPORT study is a prospective cross-sectional non-interventional study involving 200 participants recruited in a single center. The participants are healthy young individuals aged 18–30, with or without regular endurance physical activity (cycling and running). They will be divided into three groups according to their physical activity level, following international guidelines set by the World Health Organization (WHO). For each consenting participant, a standardized oral health assessment will be conducted by a dentist to establish a comprehensive oral health profile. Participants will also complete a detailed questionnaire to document individual data on physical activity, dietary habits, and overall health status.

Additionally, oral biological samples, including saliva and gingival smears, will be collected for microbiological analysis and cytokine detection. Microbiological analysis of all oral samples will be performed using high-throughput qPCR with Biomark HD™ technology, to simultaneously detect 40 oral bacterial species, selected to represent both commensal and pathogenic oral flora, as well as the presence of 8 Human Herpesviruses (HHVs). Concurrently, the salivary concentrations of 9

inflammatory cytokines will be quantified using Meso Scale Discovery® multiplex immunoassays. Statistical analysis will include both univariate and multivariate models to identify correlations between physical activity, oral health parameters, and microbial-immune profiles. This study protocol integrates clinical, microbiological, and immunological analysis to identify non-invasive biomarkers of oral health and physical performance.

ETHICS AND DISSEMINATION: This study complies with French bioethics regulations (Jardé Law) and with data protection under European GDPR requirements. It received French ethical approval from the Committee for the Protection of Persons in February 2023. Findings will be shared through publications in peer-reviewed journals and presentations at international conferences.

TRIAL REGISTRATION NUMBER: RCB 2022-A01682-41

Article Summary

Strengths and limitations of the study

- This study adopts an integrative and holistic approach, combining assessments of individual lifestyle factors, clinical oral health evaluations, high-throughput analyses of bacterial and viral components, and immunological profiling to investigate the interplay between physical endurance activity and oral health.
- By focusing on young, healthy individuals engaged in endurance sports, the research minimizes confounding factors related to age, systemic diseases, and variations in physical activity. Moreover, as a cross-sectional study, it does not require longitudinal follow-up.
- The study ensures participant comfort and compliance by employing non-invasive sampling methods such as saliva collection and gingival smears. The use of cutting-edge technologies, including high-throughput qPCR (e.g., Biomark HD™) for microbiota analysis and multiplex immunoassays (e.g., Meso Scale Discovery®) for cytokine quantification, enhances the precision and reproducibility of the findings.
- A potential limitation of this pilot study is the uncertainty as to whether the sample size will provide sufficient statistical power. Nevertheless, the findings will serve to inform the design of larger-scale studies.
- Given the high number of variables and the presence of multiple potential confounding factors influencing the associations between oral health, oral microbiota, and physical activity levels, robust and well-structured statistical analyses are essential.

Introduction

The oral cavity reflects systemic health, serving as a mirror of both wellness and disease. As an easily accessible and non-invasive site, it offers unique opportunities for investigating systemic conditions (1). A bidirectional relationship exists between oral health and overall health: oral manifestations can indicate underlying systemic diseases (e.g., diabetes, cancer, infections), while poor oral health can, in turn, exacerbate systemic conditions such as diabetes, obesity, and cardiovascular diseases (2), (3), (4), (5). Physical activity is essential for maintaining good health throughout life. However, recent data highlight a significant public health concern: in France, only 5% of adults achieve the recommended levels of physical activity, and more than one-third report a combination of sedentary behavior and low physical activity (*from the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES)*) (6). Sedentary behavior is a major risk factor for numerous non-communicable diseases, including cardiovascular diseases, diabetes, and certain cancers (7). Moreover, recent studies have also linked insufficient physical activity to an increased risk of periodontal disease, underscoring the systemic impact of lifestyle factors on oral health (8). However, despite their high levels of physical

activity, elite athletes often experience compromised oral health, characterized by a high prevalence of dental caries, periodontitis, trauma, and xerostomia (9), (10). Although research on this issue remains limited, several contributing factors have been suggested, including the frequent consumption of acidic energy drinks, gastroesophageal reflux, bruxism due to psychological stress, dehydration, and inadequate oral hygiene. Additionally, the use of mouthguards in contact sports has been shown to affect the oral microbiome, thus causally leading to microbial dysbiosis (11). A bidirectional relationship between oral health and physical performance has also been observed. Periodontitis, for example, has been associated with lower physical performance scores, suggesting that periodontal disease may serve as an indicator of impaired physical fitness (12). Interestingly, intense physical exertion and stress can depress salivary immune function, making elite athletes more susceptible to minor infections, particularly following severe exercise (13). Several studies have described associations between high-intensity sports and immune dysregulation (14), (15). At the oral level, these alterations manifest as changes in salivary protein composition and the expression of antimicrobial chemokines (15), (16).

Oral health is closely associated with the composition and balance of the oral microbiota. This complex microbial ecosystem has emerged as a promising field of research, providing valuable insight into various health states (17). The oral cavity is a reservoir of a dense and diverse microbiota composed of thousands of bacterial, viral, and fungal species (18), (19). Under healthy conditions and with good oral hygiene, this microbial community maintains a stable composition that supports oral and systemic health. However, numerous factors that encompass oral hygiene practices, diet, psychological stress, systemic diseases, and smoking may disturb this fragile microbial balance. Similarly, to the gut microbiota dysbiosis, which has been associated with intestinal disorders (20), (21), autism (22), viral infections (23), and dietary changes (24), (25), alterations in the oral microbiome have been implicated in the onset of local conditions such as dental caries, candidosis, and periodontal diseases (26). Moreover, a growing body of evidence links oral dysbiosis to systemic diseases, including diabetes (27), Alzheimer's disease (28), Rheumatoid Arthritis (29), (30). In addition, the role of oral microbiota in carcinogenesis has gained attention, with studies highlighting its potential involvement in various cancers, including oral cancer (31), (32).

Previous studies have demonstrated that significant microbiological differences can be detected even with small sample sizes (33). Most investigates in this field involve approximately 20 participants, and the study conducted by Lamb et al. demonstrates statistically significant differences with as few as 10 participants per group (34). While the impact of physical exercise on the gut microbiota has been increasingly studied, its effects on the oral microbiota remain poorly understood (35). This study aims to explore the relationship between oral microbiota, immune profiles, and endurance training by examining immune markers and microbial signatures from oral samples. The primary objective of this cross-sectional study is to assess the oral microbiota and inflammatory status of healthy individuals engaged in varying levels of physical activity. Ultimately, this research seeks to identify specific microbiological and immunological signatures associated with both sedentary behavior and physical activity.

METHODS AND ANALYSIS

Outcomes

This cross-sectional study explores the relationship between oral microbiota composition, immune function, and physical activity levels in young, healthy individuals. The primary objective is to identify microbial and immunological oral signatures associated with varying levels of endurance activity. The

microbial targets include a panel of commensal and pathogenic bacterial species, as well as human herpesviruses. By profiling the oral microbiota and salivary immune markers across a spectrum of physical activity, from sedentary to highly active individuals, we seek to identify potential microbial and immunological biomarkers associated with physical activity levels. All targeted microorganisms, cytokines, and recorded parameters are summarized in Table 1.

The study's secondary objective is to assess and compare the dental health of participants across the different activity groups. Clinical oral health assessments will include the evaluation of dental caries, tooth wear, periodontal status, and other relevant clinical indicators. To reduce potential confounding biases, data will also be collected through structured questionnaires on diet, supplement use, general and oral quality of life (OHIP-14), socio-demographic characteristics, medication intake, lifestyle habits, healthcare (medical and dental), and oral hygiene practices.

Study design and study population characteristics

ORASPORT is a single-center, cross-sectional, prospective pilot study. A total of 200 participants aged 18 to 30 years will be enrolled over a 30-month period.

Participants will be primarily recruited from the Sports and Dental Departments of Côte d'Azur University (France), as well as through local sports competitions. Additional recruitments will take place through researcher networks, university posters, and social media platforms. The inclusion criteria are: (i) age between 18 and 30 years old, (ii) male or female, and (iii) if practicing a physical activity, the primary sport must be an endurance activity (i.e., cycling or running).

Participants (n= 200) will be classified into three groups according to their physical activity levels: (i) Group 1 (n= 50): participants who do not meet the WHO recommendations, (ii) Group 2 (n= 100): participants who meet the WHO recommendations, defined as engaging in 150 to 300 minutes per week of moderate-intensity physical activity, or 75 to 150 minutes per week of vigorous-intensity physical activity, and (iii) Group 3 (n= 50): participants who exceeded the WHO recommendations. The larger size of Group 2 is intended to account for potential heterogeneity in this intermediate group.

The non-inclusion criteria of the study are: (i) practicing more than 3 hours of swimming per week, (ii) use of anti-inflammatory drugs within 48 hours prior to participation, and (iii) use of antibiotics and/or probiotics within 3 weeks prior to participation. Participants may also be excluded if they withdraw their consent or oppose the use of their data or biological samples (i.e., withdrawal of non-opposition).

All eligible participants will receive both verbal and written information about the study. Written informed consent will be obtained before enrollment.

Figure 1 provides an overview of the study design and procedures.

Visit procedure

Each participant will attend a single study visit that includes the completion of a personal questionnaire, a comprehensive oral health examination, and the collection of oral biological samples.

- Personal questionnaire

Participants will complete a questionnaire designed to gather information across several domains linked to the study objectives. The questionnaire includes both validated tools and custom-designed sections and will be administered in paper format. It collects demographic data (age, sex, height, weight), medical

and medication history, smoking status, and nutritional habits. In the nutritional habits section, the participants will be asked to report any specific dietary practices (e.g., vegetarian, vegan, gluten-free, lactose-free, flexitarian). To provide an overview of dietary behaviors, participants will be asked to self-identify the type(s) of diet they follow daily by selecting from a list of common dietary models (e.g., Mediterranean, Western, ketogenic, high-protein, high-carbohydrate, low-calorie). They will also be asked to estimate the relative frequency of adherence to each model, expressed as a percentage (totaling 100%). Additional items focus on sport-specific dietary habits, including the consumption of isotonic drinks (electrolyte-rich) drinks, energy drinks, energy gels, or energy bars. Participants will be asked to indicate the frequency, duration of use, and brand names where applicable.

Physical activity levels will be assessed using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ), which estimates overall activity in MET-minutes/week. Further details on sports-specific habits will also be recorded, including type, frequency, intensity, and duration of physical activities, as well as competition level and professional status. Participants will also report on their oral health status and behaviors, including the history of oral trauma, frequency of dental visits, and use of oral hygiene devices. Psychological and physiological stress levels will be assessed using Likert scales. Finally, the 14-item validated Oral Health Impact Profile (OHIP-14) will be employed to evaluate oral health-related quality of life.

The collected responses will help identify confounding factors and support subgroup classifications within the study cohort. All the data will be entered, centralized, and organized in a secure database for subsequent statistical analysis using the RedCap™ platform. Data entry will be performed by one of the two study investigators (MD or MO) on a password-protected computer in the MICORALIS laboratory, with access restricted and monitored. Examiners will be available during the questionnaire session to assist participants and answer any questions as needed.

- Oral health examination

Each participant's oral health will be assessed by the study's designated dentist (MD). Caries status will be diagnosed using both the Decayed, Missing, and Filled (DMF) index, following the WHO's 5th edition criteria, and the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) criteria (36), (37). Gingival status will be evaluated using the Löe and Silness Index (LSI) and the Plaque Index (PI) (38). Tooth wear and gingival recession will also be recorded, using Miller's classification system (39). Additional clinical observations will include the presence of orthodontic retainer, prosthetic restorations, tartar, and any other relevant dental conditions.

- Oral Sampling

Saliva samples will be collected following the oral health examination. An unstimulated whole saliva sample will be obtained via passive drooling (spit method). Additionally, a mucosal smear will be collected by swabbing the junction between the tooth and gingiva in the mandibular region. To ensure standardized conditions, participants will be instructed to refrain from eating, drinking, or smoking for at least 30 minutes before sample collection.

All biological samples will be transported to the MICORALIS Laboratory for processing and storage. Gingival swabs will be stored at 4°C for a maximum of 24 hours or directly frozen at -20°C. Whole saliva samples intended for microbiological analysis will be stored at room temperature in a virus-inactivating buffer until DNA extraction and subsequent high-throughput quantitative PCR analysis using the BiomarkHD™ system. Saliva samples intended for immunological analysis will be preserved with protease inhibitors (Pierce™ Protease Inhibitor Tablets, Thermo Scientific™) at stored -80°C until

cytokine quantification is performed using Meso Scale Discovery® (MSD) multiplex immunoassay technology.

Table 1: Study outcomes

Principal study endpoints			
Commensal Bacteria	Pathogenic Bacteria	Human Herpes Viruses	Inflammatory Cytokines
<i>Streptococcus oralis</i> <i>Streptococcus gordonii</i> <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus sanguinis</i> , <i>Gemella haemolysans</i> , <i>Capnocytophaga gingivalis</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Rothia mucilaginosa</i> , <i>Actinomyces naeslundii</i> , <i>Granulicatella adiacens</i> , <i>Veillonella parvula</i> , <i>Eikenella corrodens</i> , <i>Actinomyces massiliensis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , <i>Corynebacterium matruchotii</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Tannerella forsythia</i> , <i>Dialister pneumosintes</i> , <i>Filifactor alocis</i> , <i>Treponema denticola</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Prevotella denticola</i> , <i>Prevotella melaninogenica</i> , <i>Prevotella nigrescens</i> , <i>Centipeda periodontii</i> , <i>Campylobacter rectus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Selenomonas sputigena</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Haemophilus parainfluenzae</i> , <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> , <i>Eubacterium nodatum</i> , <i>Propionibacterium propionicum</i> , <i>Parvimonas micra</i> , <i>Megasphaera micronuciformis</i> , <i>Porphyromonas endodontalis</i>	HSV-1, HSV-2, EBV, CMV, VZV, HHV-6a, HHV-6b, HHV-7, HHV-8	IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, TNF- α
Secondary study endpoints			
Caries	Gingival status	Tooth wear	Extra
<ul style="list-style-type: none"> DMF index (WHO criteria) ICDAS system 	<ul style="list-style-type: none"> Loe and Silness Index (LSI) Plaque Index (PI) Gingival recession (Miller) 	<ul style="list-style-type: none"> Presence Absence 	<ul style="list-style-type: none"> Orthodontic retainer MIH Fluorosis Trauma Tartar

Other study parameters
<ul style="list-style-type: none"> ● Socio-demographic factors ● Salivary flow ● Sport habits ● Diet ● General health status ● Oral health status ● Oral Health Impact Profile-14 (OHIP-14)

Cytokines quantification

Cytokines levels will be measured using Meso Scale Discovery[®] MULTI-ARRAY[®] technology, an electrochemiluminescence-based patterned array system, offering high sensitivity, broad dynamic range, and multiplexing capability. The S-PLEX[®] kit was selected for its ability to simultaneously quantify 9 cytokines per sample with detection limits in the femtogram per milliliter (fg/mL) range. The procedure begins with washing the plate 3 times with 150 μ L of PBS-T. Then, 50 μ L of coating solution is dispensed into each well and incubated with shaking for one hour at room temperature. The plate is then washed, and 25 μ L of blocking solution per well is added, followed by 25 μ L of calibrator or sample. The plate is incubated at room temperature with shaking for 1.5 hours. After this incubation, the plate is washed again, and 50 μ L of TURBO-BOOST[™] antibody solution per well is added, followed by another 1 hour incubation at room temperature with shaking. The second step, referred to as enhancement, involves adding 50 μ L of enhancement solution to each well and incubating the plate at room temperature with shaking for 30 minutes. This is pursued by the addition of 50 μ L of TURBO-TAG[™] detection solution and a further 1 hour incubation at 27°C with shaking. The final step, reading, consists of 3 additional washes with PBS-T and the addition of 150 μ L of MSD GOLD Read Buffer to each well. The plate is then read immediately on an MSD instrument without further incubation.

Microbiological analysis

DNA will be extracted from unstimulated saliva samples using the QIAamp DNA Blood Midi kit[®] (Qiagen, Cat. No.: 51185) and from swab samples using the QIAamp DNA Mini Kit[®] (Qiagen, Cat. No.: 51304), following the manufacturer's protocols. DNA quantification will be carried out using a microvolume spectrophotometer (Nanodrop Lite Plus[™]), and concentrations will be normalized to 10 ng/ μ L for saliva samples and to 1 ng/ μ L for swab samples.

Detection and quantification of the various oral microbiological species (see Table 1 for details) will be performed using the Biomark HD[™] technology. This high-throughput technology allows the simultaneous detection of dozens of microbial targets across a large number of samples (40). All experiments performed with the Biomark HD[™] system will be conducted using 96.96 IFC plates, following the manufacturer's instructions and reagent kits (Standard Biotools. No.: BMKM10-96.96-EG) supplied by Standard Biotools. We adhered to the protocol "Pre-amplification of cDNA for Gene Expression with Delta Gene assays". Pre-amplification was performed under the following cycling conditions: 95°C for 2 minutes, followed by 12 cycles of 95°C for 15 seconds and 60°C for 2 minutes. After Exonuclease I digestion, samples will be diluted 1:20 and processed following the protocol "Gene expression with the 96.96 IFC using Delta Gene assays on pre-amplified samples", using the AX SsoFast[™] EvaGreen[®] Supemix with low ROX (Bio-Rad, 172-5211). Quantitative amplification was

conducted on the Biomark HD™ system using a microfluidic real-time PCR protocol optimized for microbial detection. The reaction workflow began with a UNG (Uracil-N-Glycosylase) treatment at 50°C for 2 minutes to eliminate potential carryover contamination, followed by a hot start activation phase at 95°C for 10 minutes. PCR amplification comprised 40 cycles of denaturation at 95°C for 15 seconds and annealing/extension at 60°C for 60 seconds, with fluorescence data acquisition at each annealing step.

Each sample will be analyzed in duplicate, including both primer and sample replicates, using 1.25 µL of template DNA, corresponding to 12.5 ng of DNA for saliva samples and 1.25 ng for swab samples. The data were analyzed with Real-Time PCR Analysis Software using automatically defined thresholds. Negative samples were defined as those with Cq values ≥ 35 for each species. Final results will be normalized using standard curves and expressed as copy numbers per microgram (µg) of DNA.

Data visualization and analysis

The results generated in this study will be primarily quantitative. They will include: i) the measurement of the abundance of each microorganism in the samples, ii) the quantification of salivary inflammatory markers, iii) oral health parameters related to participants (e.g., number of teeth, caries index, plaque index, gingival index, periodontal index), and iv) parameters derived from a graded scoring system used to interpret data from health questionnaires. Data will be analyzed individually and compared across the three participant groups, classified according to their level of physical activity. The methodology is based on the development of an account matrix and the implementation of a relational database management system (RedCap™). Univariate analysis will be conducted using standard statistical tests appropriate to the nature of each variable. Statistical significance will be assessed using conventional tests, including the Chi-square test, correlation analysis, regression analysis, and concordance tests. Subgroup comparisons, based on qualitative criteria from the self-reported questionnaires (e.g., dietary habits, smoking status), may also be considered. Multivariate complementary analyses will then be conducted to explore complex relationships, such as microbial diversity patterns and associations between oral health, oral microbiota composition, and physical activity levels or clinical profiles. The selection and implementation of multivariate models will be guided by the findings of the univariate analyses.

PATIENT AND PUBLIC INVOLVEMENT

The protocol for this pilot study was developed and coordinated by the principal investigators (MO, MD), with specific contributions from researchers at Université Côte d'Azur representing four complementary entities: MICORALIS, LAMHESS, IPMC, and the University Hospital of Nice (CHU). This transdisciplinary consortium brings together methodological expertise from odontology, microbiology, sports science, biology, and public health.

MICORALIS (UPR UCA 7354) specializes in the study of the etiopathogenesis of oral diseases and the relationships between oral microbiology and systemic health, supported by advanced technical platforms. LAMHESS (UPR6312 UCA) focuses on health-related and performance-oriented physical activity. IPMC (UMR UCA/CNRS 7275) is internationally recognized for its expertise in high-throughput molecular analysis of nucleic acids. The Odontology Department of the CHU de Nice, as the regional dental care provider, contributes to the oral health monitoring of study participants.

The study sponsor is the Clinical Research and Innovation Delegation of the Nice University Hospital. Any publication or communication must acknowledge this sponsorship and adhere to the institution's scientific authorship charter. Investigators are therefore required to submit any communications and/or manuscripts to the Research and Innovation Delegation for approval before dissemination.

ETHICS AND DISSEMINATION

Data collection and management

Free and informed non-opposition will be documented following article L-1122-1 of the French Public Health Code. Participants will be fully informed of their rights, including the right to refuse or withdraw from the study at any time, without justification. Before enrollment, a comprehensive explanation of the study protocol and its implications will be provided by the investigator or designated physician. Participants will also be informed of their entitlement to access aggregate results from the study. The non-opposition form is designed to ensure clarity and accessibility to individuals across varying levels of health literacy. A reflection period may be implemented between the dissemination of information and the collection of non-opposition. The investigator will present the non-opposition form in duplicate, retaining the original and providing a signed copy to the participant. Both the information leaflet and the non-opposition form are included in the study protocol appendices.

To ensure participant anonymity, all biological samples will be processed using a unique identifier, with tubes labeled with a numerical code corresponding to the participant's inclusion number and an alphabetical code designating the sample type.

Safety considerations

All personnel involved in the study are bound by medical and professional strict confidentiality. All documents and data related to the study will be stored in a secured, access-controlled environment.

Ethical considerations and dissemination

The study will be conducted in full compliance with French bioethics laws and all applicable legislative and regulatory provisions. This project is classified as a Category 3 human research study under the French Public Health Code (Law No. 2012-300 of March 5, 2012), as amended by Ordinance No. 2016-800 of June 16, 2016, and by the implementing decrees of the Jardé Law on Research Involving the Human Subjects (Decree No. 2016-1537 of November 16, 2016).

Ethical approval for this study was obtained from the Committee for the Protection of Persons (CPP) in February 2023. The approved protocol ensures both scientific rigor and adherence to ethical standards. Any substantial amendments to the study protocol will require prior approval from the CPP. Minor amendments will be communicated to all investigators and will require their agreement, as authorized by the principal investigator. The trial is registered in the national database managed by the French National Agency for the Safety of Medicines and Health Products (ANSM), under reference number RCB: 2022-A01682-41-22-PP-11.

This research complies with the amended French Data Protection Act (no. 78-17, January 6, 1978) and the European General Data Protection Regulation (GDPR, 2016/679). Data processing is registered with the Nice University Hospital and, in accordance with CNIL deliberation No. 2018-154 (MR-003), will

follow the referenced methodology for health research that does not require explicit consent. Data collected before participant withdrawal will be retained and processed as described in the study protocol and in compliance with Articles 17.3.c and 17.3.d of the GDPR.

Status and timeline

Participant inclusion began on February 7, 2023, and is expected to be completed on April 15, 2026.

Discussion

This study is based on the premise that oral health reflects overall systemic health. It specifically hypothesized that regular physical activity, widely recognized for its profound effects on physiological functions, may lead to measurable changes in the balance of the oral ecosystem. While the impact of physical activity on both oral health and athletic performance are well documented (41), (42), (43), the influence of exercise on the oral microbiota remains poorly characterized (34). To our knowledge, this study is the first to explore, in a systematic manner, the effects of physical activity on oral health, oral microbiota, and immune response.

The lack of robust and validated biomarkers is particularly striking within the broader context of predictive genomics and personalized medicine. Biomarkers are measurable biological parameters associated with physiological or pathological processes (44). This study offers several notable strengths. It employs cutting-edge high-throughput molecular technologies to investigate both the oral microbiome and the immune system. A major technological innovation lies in the use of high-throughput microfluidic real-time PCR (Biomark HD™ system), which enables the simultaneous detection and quantification of up to 9,216 qPCR reactions in a single run. This platform allows parallel analysis of 96 biological samples across 48 microbiological targets in duplicate, combining high analytical efficiency with an optimized cost-to-performance ratio. Additionally, the characterization of salivary cytokines and immunoglobulins is performed using a multiplex electrochemiluminescence immunoassay (Meso Scale Discovery®, MSD), which enables the simultaneous quantification of up to 9 immune markers, in duplicate, across 40 samples per run. This system provides excellent sensitivity in the femtogram range and a wide dynamic detection range.

This study also provides a unique opportunity to investigate the impact of physical activity on oral health in young adults with no underlying medical conditions. To our knowledge, it is the first to systematically examine how different levels of physical activity influence key oral health parameters, through the comparison of distinct groups within a large, well-defined cohort.

Several confounding factors, including dietary habits, oral hygiene practices, and psychological stress, are considered in the study to minimize bias in the observed associations. The questionnaire used represents a key strength, as it captures a wide range of lifestyle variables, including assessments of diet, sports-related nutritional supplementation, stress levels, and oral health behaviors. The questionnaire's structure, which combines self-administered validated items, reinforces the reliability and validity of the collected data. Overall, the methodological rigor and scientific relevance of the approach contribute to the robustness and interpretability of the findings. However, this pilot study also presents several limitations. As an exploratory investigation involving a relatively small sample size, its findings must be interpreted with caution. Due to the absence of prior studies on this specific research question, a robust sample size calculation was not feasible at the study's outset. Follow-up studies will therefore be

required to establish reproducible, standardized assays and to validate candidate biomarkers in larger, prospective cohorts. Another limitation concerns the narrow age range of participants (18-30 years), which was intentionally selected to reduce age-related variability in oral microbiota composition. Furthermore, the study is limited to endurance sports. Other types of physical activity may exert distinct influences on the oral microbiota. For instance, the use of mouthguards in contact sports, such as boxing, or exposure to chlorinated water in aquatic disciplines, could introduce confounding variables affecting microbial profiles (45), (46), (47).

Ultimately, the identification of reliable biomarkers could significantly improve individualized health monitoring in both athletic and sedentary populations, enabling earlier detection of physiological disturbances and enabling the implementation of targeted, personalized health recommendations.

Author contributions:

M. Ortis and M. Dubois equally to this work and should be considered co-first authors. M. Ortis and M. Dubois contributed to conception, design, data acquisition, and interpretation, drafted and critically revised the manuscript. A. Doglio contributed to conception, design, drafted and critically revised the manuscript. J. Fassy contributed to data acquisition. B. Mari contributed to conception. V. Bougault and M-F. Bertrand contributed to conception and design. K. Legueult and L. Lupi contributed to data interpretation. All authors have read and approved to the published version of the manuscript.

Funding: This research did not receive any funding.

Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.

FIGURE 1: Schematic representation of the different stages of the ORASPORT pilot study.

This figure outlines the complete recruitment process for participants in the ORASPORT study. Men and women aged 18 to 30 who express interest in participating will receive an information letter, a consent form, and a questionnaire to complete. The questionnaire includes items related to physical activity, diet, general health, and oral health. It is designed to collect essential baseline data and to classify individuals according to their physical activity level, based on World Health Organization (WHO) guidelines. All participants will undergo a standardized oral health assessment conducted by Dr. Margaux Dubois. During this clinical examination, two types of saliva samples will be collected: an unstimulated whole saliva and a swab from the mandibular region between gingiva and tooth. Depending on the sample type, they will be stored at either -20°C or -80°C in the laboratory until analysis. Genomic DNA will be extracted from the samples using Qiagen kits (see Materials and Methods) for the subsequent identification of bacterial and viral content using the Biomark™ HD system (Standard Biotoools). Cytokines analysis will be performed directly on whole saliva samples without prior DNA extraction. Finally, statistical analyses will be conducted to explore correlations between oral bacterial profiles, human herpesvirus presence, cytokine levels, and participant characteristics according to their physical activity levels.

Bibliography

1. Yamashita Y, Takeshita T. The oral microbiome and human health. *J Oral Sci.* 2017;59(2):201–6.
2. Azzolino D, Felicetti A, Santacroce L, Lucchi T, Garcia-Godoy F, Passarelli PC. The emerging role of oral microbiota: A key driver of oral and systemic health. *Am J Dent.* 2025 Jun;38(3):111–6.
3. Păunică I, Giurgiu M, Dumitriu AS, Păunică S, Pantea Stoian AM, Martu MA, et al. The Bidirectional Relationship between Periodontal Disease and Diabetes Mellitus—A Review. *Diagnostics (Basel).* 2023 Feb 11;13(4):681.
4. Salhi L, Al Taep Y, Salmon E, Van Hede D, Lambert F. How Periodontitis or Periodontal Bacteria Can Influence Alzheimer’s Disease Features? A Systematic Review of Pre-Clinical Studies. *J Alzheimers Dis.* 2023;96(3):979–1010.
5. Murray PE, Coffman JA, Garcia-Godoy F. Oral Pathogens’ Substantial Burden on Cancer, Cardiovascular Diseases, Alzheimer’s, Diabetes, and Other Systemic Diseases: A Public Health Crisis—A Comprehensive Review. *Pathogens.* 2024 Dec 9;13(12):1084.
6. Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l’alimentation, de l’environnement et du travail [Internet]. 2022 [cited 2025 Jul 15]. Manque d’activité physique et excès de sédentarité : une priorité de santé publique. Available from: <https://www.anses.fr/fr/content/manque-d%E2%80%99activit%C3%A9-physique-et-exc%C3%A8s-de-s%C3%A9dentarit%C3%A9-une-priorit%C3%A9-de-sant%C3%A9-publique>
7. Owen N, Healy GN, Dempsey PC, Salmon J, Timperio A, Clark BK, et al. Sedentary Behavior and Public Health: Integrating the Evidence and Identifying Potential Solutions. *Annual Review of Public Health.* 2020 Apr 1;41(Volume 41, 2020):265–87.
8. Almohamad M, Krall Kaye E, Mofleh D, Spartano NL. The association of sedentary behaviour and physical activity with periodontal disease in NHANES 2011-2012. *J Clin Periodontol.* 2022 Aug;49(8):758–67.
9. Ashley P, Di Iorio A, Cole E, Tanday A, Needleman I. Oral health of elite athletes and association with performance: a systematic review. *Br J Sports Med.* 2015 Jan;49(1):14–9.
10. Needleman I, Ashley P, Petrie A, Fortune F, Turner W, Jones J, et al. Oral health and impact on performance of athletes participating in the London 2012 Olympic Games: a cross-sectional study. *Br J Sports Med.* 2013 Nov;47(16):1054–8.
11. Minty M, Canceill T, Lê S, Dubois P, Amestoy O, Loubieres P, et al. Oral health and microbiota status in professional rugby players: A case-control study. *Journal of Dentistry.* 2018 Dec 1;79:53–60.
12. Bramantoro T, Hariyani N, Setyowati D, Purwanto B, Zulfiana AA, Irmalia WR. The impact of oral health on physical fitness: A systematic review. *Heliyon.* 2020 Apr;6(4):e03774.
13. Gleeson M. Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol (1985).* 2007 Aug;103(2):693–9.
14. Gill SK, Teixeira AM, Rosado F, Hankey J, Wright A, Marczak S, et al. The impact of a 24-h ultra-marathon on salivary antimicrobial protein responses. *Int J Sports Med.* 2014 Oct;35(11):966–71.
15. Fahlman MM, Engels HJ. Mucosal IgA and URTI in American college football players: a year longitudinal study. *Med Sci Sports Exerc.* 2005 Mar;37(3):374–80.
16. Tiernan C, Lyons M, Comyns T, Nevill AM, Warrington G. Salivary IgA as a Predictor of Upper Respiratory Tract Infections and Relationship to Training Load in Elite Rugby Union Players. *J Strength Cond Res.* 2020 Mar;34(3):782–90.
17. Scherz V, Greub G, Bertelli C. Building up a clinical microbiota profiling: a quality framework proposal. *Crit Rev Microbiol.* 2022 May;48(3):356–75.
18. Zhang Y, Wang X, Li H, Ni C, Du Z, Yan F. Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomed Pharmacother.* 2018 Mar;99:883–93.
19. Li X, Liu Y, Yang X, Li C, Song Z. The Oral Microbiota: Community Composition, Influencing Factors, Pathogenesis, and Interventions. *Front Microbiol.* 2022 Apr 29;13:895537.
20. Guo X, Hu Z, Rong S, Xie G, Nie G, Liu X, et al. Integrative analysis of metabolome and gut microbiota in Patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Cancer.* 2022 Mar 6;13(5):1555–64.
21. Veziat J, Villéger R, Barnich N, Bonnet M. Gut Microbiota as Potential Biomarker and/or Therapeutic Target to Improve the Management of Cancer: Focus on Colibactin-Producing *Escherichia coli* in Colorectal Cancer. *Cancers (Basel).* 2021 May 5;13(9):2215.

22. Wan Y, Zuo T. Interplays between drugs and the gut microbiome. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. 2022;10:goac009.
23. Borgognone A, Noguera-Julian M, Oriol B, Noël-Romas L, Ruiz-Riol M, Guillén Y, et al. Gut microbiome signatures linked to HIV-1 reservoir size and viremia control. *Microbiome*. 2022 Apr 11;10(1):59.
24. Daniel H. Diet and Gut Microbiome and the “Chicken or Egg” Problem. *Front Nutr*. 2022 Feb 1;8:828630.
25. Metwaly A, Reitmeier S, Haller D. Microbiome risk profiles as biomarkers for inflammatory and metabolic disorders. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2022 Jun;19(6):383–97.
26. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res*. 2013 Mar;69(1):137–43.
27. Xiao E, Mattos M, Vieira GHA, Chen S, Corrêa JD, Wu Y, et al. Diabetes Enhances IL-17 Expression and Alters the Oral Microbiome to Increase Its Pathogenicity. *Cell Host Microbe*. 2017 Jul 12;22(1):120-128.e4.
28. Sureda A, Daglia M, Argüelles Castilla S, Sanadgol N, Fazel Nabavi S, Khan H, et al. Oral microbiota and Alzheimer’s disease: Do all roads lead to Rome? *Pharmacol Res*. 2020 Jan;151:104582.
29. Chang Y, Chung MK, Park JH, Song TJ. Association of Oral Health with Risk of Rheumatoid Arthritis: A Nationwide Cohort Study. *J Pers Med*. 2023 Feb 15;13(2):340.
30. Araújo VMA, Melo IM, Lima V. Relationship between Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: Review of the Literature. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:259074.
31. Stasiewicz M, Karpiński TM. The oral microbiota and its role in carcinogenesis. *Semin Cancer Biol*. 2022 Nov;86(Pt 3):633–42.
32. Wu Z, Peng Q, Ren Z, Xu X, Jiang X, Yang W, et al. Causal association between oral microbiota and oral cancer: a mendelian randomization study. *Sci Rep*. 2025 Jun 5;15(1):19797.
33. Dubois M, Ortis M, Doglio A, Bougault V. Microbiote orale et santé bucco-dentaire des sportifs : revue narrative. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 2024 Aug 1;59(4):233–42.
34. Dubois M, Delcourt B, Ortis M, Bougault V, Doglio A, Bertrand MF, et al. Correlation Between the Oral Microbiota and Sports Practice: A Systematic Review. *Cureus [Internet]*. 2025 Jan 29 [cited 2025 Jan 31];17. Available from: <https://www.cureus.com/articles/325329-correlation-between-the-oral-microbiota-and-sports-practice-a-systematic-review#!/>
35. Ortiz-Alvarez L, Xu H, Martinez-Tellez B. Influence of Exercise on the Human Gut Microbiota of Healthy Adults: A Systematic Review. *Clin Transl Gastroenterol*. 2020 Feb;11(2):e00126.
36. Ismail AI, Sohn W, Tellez M, Amaya A, Sen A, Hasson H, et al. The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*. 2007;35(3):170–8.
37. Bhoopathi RH, Patil PU, Kamath BV, Gopal D, Kumar S, Kulkarni G. Caries Detection with ICDAS and the WHO Criteria: A Comparative Study. *JCDR [Internet]*. 2017 [cited 2025 Apr 15]; Available from: http://jcd.net/article_fulltext.asp?issn=0973-709x&year=2017&volume=11&issue=12&page=ZC09&issn=0973-709x&id=10929
38. Holde GE, Oscarson N, Trovik TA, Tillberg A, Jönsson B. Periodontitis Prevalence and Severity in Adults: A Cross-Sectional Study in Norwegian Circumpolar Communities. *J Periodontol*. 2017 Oct;88(10):1012–22.
39. Jain S, Kaur H, Aggarwal R. Classification Systems of Gingival Recession: An Update. *Indian Journal of Dental Sciences*. 2017 Mar;9(1):52.
40. Olwagen CP, Adrian PV, Madhi SA. Performance of the Biomark HD real-time qPCR System (Fluidigm) for the detection of nasopharyngeal bacterial pathogens and *Streptococcus pneumoniae* typing. *Sci Rep*. 2019 Apr 24;9(1):6494.
41. Tripodi D, Cosi A, Fulco D, D’Ercole S. The Impact of Sport Training on Oral Health in Athletes. *Dent J (Basel)*. 2021 May 3;9(5):51.
42. Piccininni PM, Fasel R. Sports dentistry and the olympic games. *J Calif Dent Assoc*. 2005 Jun;33(6):471–83.
43. Yang XJ, Schamach P, Dai JP, Zhen XZ, Yi B, Liu H, et al. Dental service in 2008 Summer Olympic Games. *Br J Sports Med*. 2011 Apr;45(4):270–4.
44. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001 Mar;69(3):89–95.

45. Glass RT, Wood CR, Bullard JW, Conrad RS. Possible disease transmission by contaminated mouthguards in two young football players. *Gen Dent.* 2007;55(5):436–40.
46. D'ercole S, Tieri M, Martinelli D, Tripodi D. The effect of swimming on oral health status: competitive versus non-competitive athletes. *J Appl Oral Sci.* 2016;24(2):107–13.
47. Gleeson M, McDonald WA, Cripps AW, Pyne DB, Clancy RL, Fricker PA. The effect on immunity of long-term intensive training in elite swimmers. *Clin Exp Immunol.* 1995 Oct;102(1):210–6.



FIGURE 1: Schematic representation of the different stages of the ORASPORT pilot study.

This figure outlines the complete recruitment process for participants in the ORASPORT study. Men and women aged 18 to 30 who express interest in participating will receive an information letter, a consent form, and a questionnaire to complete. The questionnaire includes items related to physical activity, diet, general health, and oral health. It is designed to collect essential baseline data and to classify individuals according to their physical activity level, based on World Health Organization (WHO) guidelines. All participants will undergo a standardized oral health assessment conducted by Dr. Margaux Dubois. During this clinical examination, two types of saliva samples will be collected: an unstimulated whole saliva and a swab from the mandibular region between gingiva and tooth. Depending on the sample type, they will be stored at either -20°C or -80°C in the laboratory until analysis. Genomic DNA will be extracted from the samples using Qiagen kits (see Materials and Methods) for the subsequent identification of bacterial and viral content using the Biomark™ HD system (Standard Biotools). Cytokines analysis will be performed directly on whole saliva samples without prior DNA extraction. Finally, statistical analyses will be conducted to explore correlations between oral bacterial profiles, human herpesvirus presence, cytokine levels, and participant characteristics according to their physical activity levels.

II-3. Résultats

Les résultats de l'analyse des profils cytokiniques ci-dessous, ont été réalisés sur les 80 premiers patients de la cohorte ORASPORT. Les concentrations de 9 cytokines ont mesurées à l'aide du kit S-PLEX® Proinflammatory Panel 1. Elles ont été comparées entre les 3 groupes d'individus ayant des niveaux différents d'activité sportives (voir article ci-dessus). À ce jour, l'étude ORASPORT n'a pas encore fait l'objet d'une publication originale. Ces résultats doivent être encore confrontés avec les données cliniques et microbiologiques des participants.

3.1 Méthode d'analyse statistiques

Les comparaisons entre les groupes d'individus ont été réalisées à l'aide de tests non paramétriques, en raison de la distribution non-normale des cytokines. Dans un premier temps, les concentrations de cytokine mesurées (fg/ml) ont été transformées en $\log_{10}(x+1)$ et normalisées en z-score (valeur de l'écart d'une donnée à la moyenne divisée par l'écart-type des données) avant analyse. Cette normalisation, effectuée en prenant le groupe des sédentaires comme référence, exprime chaque valeur relativement à la moyenne et à la variabilité de ce groupe. Elle permet ainsi de mettre en évidence les écarts par rapport à une condition physiologique de base, tout en atténuant les différences liées aux valeurs absolues entre cytokines. Cette approche est particulièrement adaptée à l'analyse de combinaisons de plusieurs cytokines (sommes de Z-scores). Un test global de Kruskal-Wallis a été ensuite appliqué pour chaque cytokines. En cas de résultat significatif, des comparaisons par paires ont été effectuées à l'aide du test de Mann-Whitney. Les valeurs de p obtenues lors de ces comparaisons multiples ont ensuite été ajustées selon la procédure de Benjamini-Krieger-Yekutieli (BKY), afin de contrôler le taux de fausses découvertes. Une valeur de p ajustée inférieure à 0,05 a été considérée comme statistiquement significative. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism (V.10.6.0).

RESULTATS

La comparaison des cytokines considérées à un niveau individuel (comparaison une à une) a mis en évidence des différences entre les groupes, particulièrement entre le groupe de sédentaires et les groupes de sportifs (Figure 29). Parmi l'ensemble des cytokines évalués, IL-17 apparaît être la cytokine la plus discriminante. En effet, des différences significatives sont observées entre les sédentaires et les sportifs intenses ainsi qu'entre les sédentaires et les sportifs moyens. D'autres cytokines, telles qu'IL-6, IL-4 et IL-2, montrent des tendances similaires (p brutes $< 0,05$) (Figure 29, Tableau 3).

L'analyse des combinaisons de plusieurs cytokines suggère des profils synergiques. Ainsi, l'association IL-17 + IL-6 met en avant une différence marquée entre sédentaires et sportifs moyens et sportifs intenses. Tandis qu'IL-12p70 + IL-6, IFN- γ + IL-6 et IL-10 + IL-17 révèlent également des écarts entre les sédentaires et sportifs ($p < 0,05$). Ces résultats soulignent un rôle potentiel central des axes IL-6 et IL-17 dans les adaptations immunitaires liées à la pratique sportive d'endurance (Figure 30, Tableau 3).

Les combinaisons de trois cytokines confirment ces observations. Les profils IL-17 + IL-6 + TNF- α , IL-17 + IL-4 + IL-6, IFN- γ + IL-12p70 + IL-17 ainsi qu'IL-12p70 + IL-17 + TNF- α (** $p < 0,01$ sédentaires vs sportifs) montrent des tendances fortes. L'association IL-17 + IL-1 β + IL-6 (** $p < 0,01$) apparaît également comme un profil très discriminant entre sédentaires et sportifs intenses (Figure 31, Tableau 3).

L'absence de différence significative entre les groupes de sportifs modérés (Groupe 2) et intensifs (Groupe 3) doit être interprétée selon le choix de normalisation par Z-score. Dans cette approche, les

valeurs ont été transformées relativement à la moyenne et à la variabilité du groupe des sédentaires (Groupe 1), défini comme « contrôle ». Ce procédé présente un réel intérêt puisqu'il permet d'harmoniser les données et de mettre en évidence les écarts par rapport à une condition physiologique de base, représentée ici par les sédentaires. Cette standardisation rend ainsi possible la comparaison de combinaisons de plusieurs cytokines (sommées de Z-scores) et facilite l'interprétation globale des profils inflammatoires.

Toutefois, le choix des sédentaires comme référence peut masquer des différences entre les groupes de sportifs et soulève la question de la pertinence du choix du contrôle. Il convient de compléter l'analyse par des comparaisons directes entre les trois groupes, afin de limiter le biais potentiel du groupe de référence et d'affiner l'interprétation des différences entre les différents niveaux de pratique sportive.

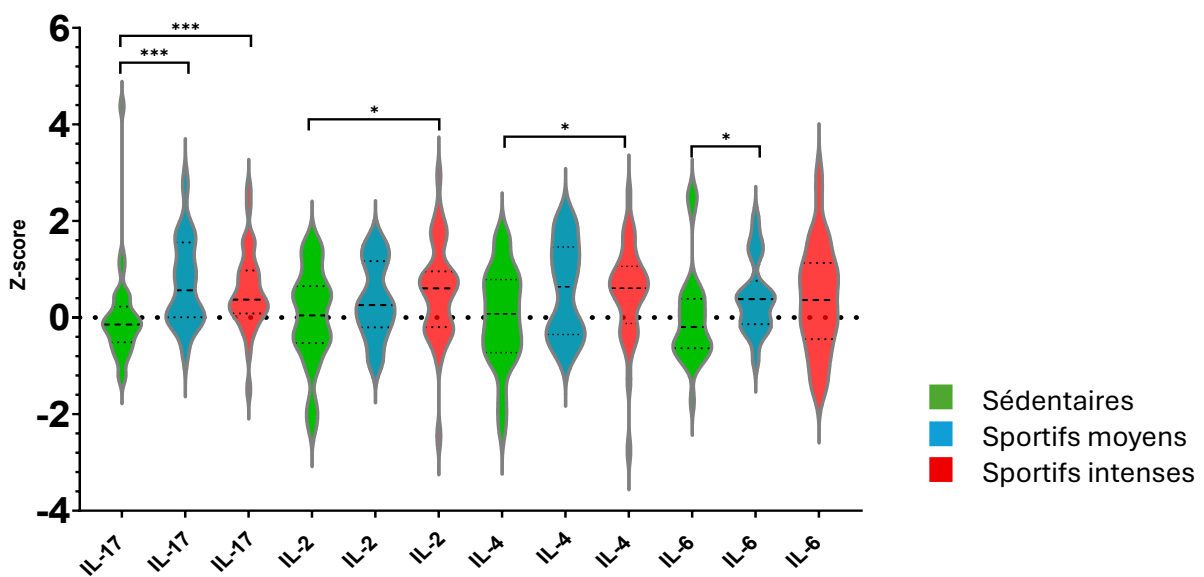


FIGURE 29 : REPRÉSENTATION EN VIOLON DES CYTOKINES SIGNIFICATIVES SELON LES GROUPES, EXPRIMÉES EN Z-SCORES

La ligne en pointillés indique la médiane. Les barres de comparaison avec les astérisques indiquent les différences significatives entre les groupes ($p < 0,05$; *** $p < 0,001$).*

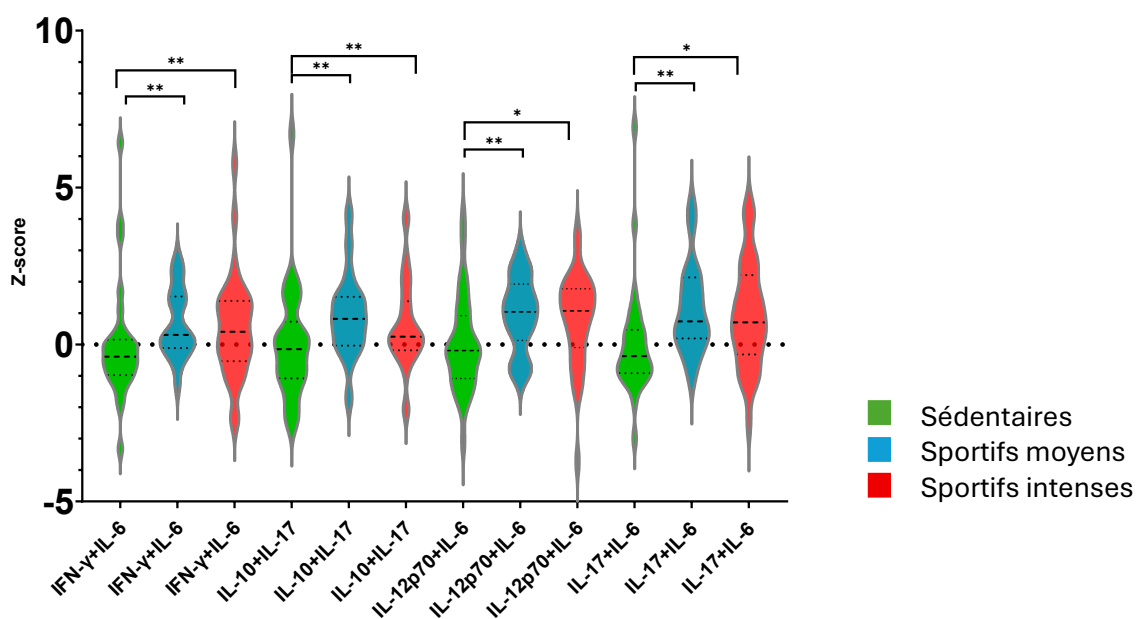


FIGURE 30 : REPRÉSENTATION EN VIOLON DES COMBINAISONS DE BI-CYTOKINES SIGNIFICATIVES SELON LES GROUPES, EXPRIMÉES EN Z-SCORES
 La ligne en pointillés indique la médiane. Les barres de comparaison avec les astérisques indiquent les différences significatives entre les groupes (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

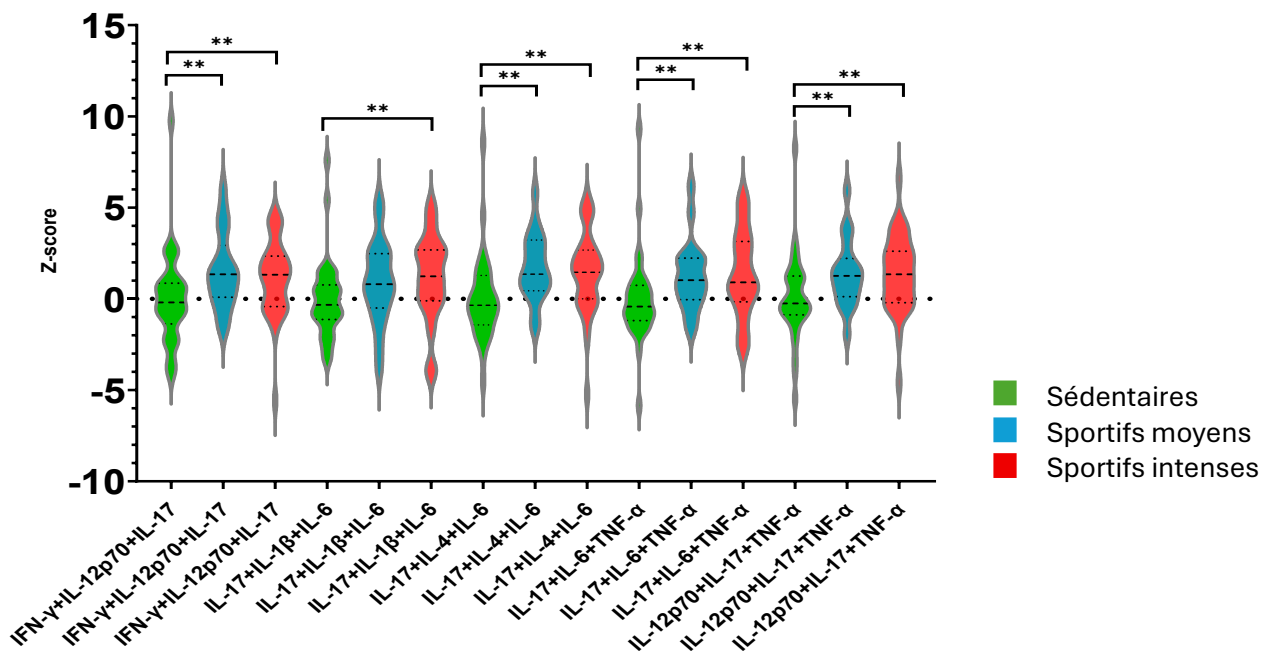


FIGURE 31 : REPRÉSENTATION EN VIOLON DES COMBINAISONS DE TRI-CYTOKINES SIGNIFICATIVES SELON LES GROUPES, EXPRIMÉES EN Z-SCORES.
 La ligne en pointillés indique la médiane. Les barres de comparaison avec les astérisques indiquent les différences significatives entre les groupes (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$).

Les sportifs moyens et intenses présentent des profils similaires ce qui pourrait expliquer que leurs distributions de Z-scores apparaissent proches et ne conduisent pas à des différences statistiquement significatives. Cette observation suggère que les principales variations cytokiniques, selon l'exploitation des résultats, permettent de distinguer avant tout les variations entre sportifs et non-sportifs, plutôt que selon le degré d'intensité de la pratique sportive.

Les résultats montrent que l'IL-17 est le biomarqueur le plus sensible à la fois de manière isolée et en association avec d'autres cytokines pro-inflammatoires telles qu'IL-6 et TNF- α . Ces combinaisons mettent en évidence des axes inflammatoires suggérant une modulation du profil immunitaire oral en fonction de l'intensité de la pratique sportive.

TABLEAU 3: CONCENTRATIONS DES CYTOKINES (FG/ML) ENTRE LES TROIS GROUPES.

Cytokines	Sédentaires v.s Sportifs moyens		Sédentaires v.s Sportifs intenses		Sportifs moyens v.s Sportifs intenses	
	<i>p-value</i>	<i>p-value</i>	<i>p-value</i>	<i>p-value</i>	<i>p-value</i>	<i>p-value</i>
	brute	ajustée	brute	ajustée	brute	ajustée
IL-17	0,0005	0,0008	0,0016	0,0008	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>
IL-2	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	0,0412	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>
IL-4	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	0,0398	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>
IL-6	0,0434	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>
IL-17 + IL-6	0,0016	0,0024	0,0064	0,0024	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>
L-12p70 + IL-6	0,0146	0,0090	0,0108	0,0090	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>
IL-10 + IL-17	0,0106	0,0144	0,0442	0,0586	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>
IFN- γ + IL-6	0,0099	0,0329	0,0506	0,0414	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>
IL-17 + IL-6 + TNF- α	0,0121	0,0106	0,0091	0,0070	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>
IFN- γ + IL-12p70 + IL-17	0,0146	0,0073	0,0122	0,0073	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>
IL-17 + IL-1 β + IL-6	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	0,0108	0,0189	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>
IL-12p70 + IL-17 + TNF- α	0,0137	0,0087	0,0035	0,0035	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>
IL-17 + IL-4 + IL-6	0,002	0,0015	0,0015	0,0015	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>

Les *p-values* brutes et ajustées sont indiquées pour chaque comparaison

Les valeurs en gras correspondent aux différences significatives ($p < 0,05$) ; *n.s* = non significatif.

3.2 Interprétation des résultats

Les comparaisons mettent en évidence un rôle central de l'IL-17, qui apparaît significativement augmentée chez les sportifs, qu'ils respectent les recommandations de l'OMS (Groupe 2) ou qu'ils les dépassent (Groupe 3), par rapport aux sédentaires (Groupe 1). Cette cytokine pro-inflammatoire, impliquée dans la réponse immunitaire muqueuse et dans le recrutement des neutrophiles, semblerait être un marqueur important dans le lien entre santé orale et activité physique d'endurance. Plusieurs études soutiennent l'idée qu'une pratique d'endurance, à travers le stress mécanique, le débit salivaire, le microbiote ect., puisse s'accompagner de modification cytokinique (Borchers et al., 2022).

D'autres cytokines montrent des tendances similaires. L'IL-6 est significativement différente entre sédentaires et sportifs moyens (p -value brute = 0,043, non significatif après correction FDR). De même, l'IL-4 et l'IL-2 présentent des différences en p -value brutes avec les sportifs intenses, suggérant une modulation de l'équilibre Th1/Th2, mais sans confirmation après correction par FDR. Ces résultats traduisent probablement une orientation générale de la réponse immune, plutôt qu'un effet isolé de chaque médiateur.

Les analyses combinées renforcent la puissance des résultats statistiques. Ainsi, les combinaisons IL-17 + IL-6, IL-12p70 + IL-6, ou encore IL-10 + IL-17, mettent en avant des différences notables entre sédentaires et sportifs (p -value brute < 0,02), bien que ces associations perdent la significativité après ajustement FDR. De même, les combinaisons de trio de cytokines, tels qu'IL-17 + IL-6 + TNF- α ou IL-17 + IL-1 β + IL-6, confirment une synergie autour de l'axe IL-17 + IL-6 + TNF- α (Figure 32).

Les combinaisons impliquantes IL-6 (souvent avec IL-17 et/ou TNF- α) ressortent parmi les profils significatifs. L'IL-6 est une myokine produite par le muscle en contraction, et libérée de manière marquée lors de l'exercice d'endurance. Elle orchestre une cascade métabolique et anti-inflammatoire (stimulation d'IL-10, IL-1ra, etc.). Des hausses aiguës d'IL-6 (parfois combinées avec TNF- α) ont été documentées après des efforts prolongés de type marathon, et des efforts d'ultra-endurance (Waskiewicz et al., 2025).

Enfin, il est important de noter qu'aucune différence significative n'est retrouvée entre les sportifs moyens et intenses. Ceci pourrait suggérer que les modifications cytokiniques surviennent dès le respect des recommandations de l'OMS (Groupe 2) et que l'intensification de la pratique au-delà de ces recommandations (Groupe 3) n'amplifie pas les réponses inflammatoires mesurées. Ces observations sont cohérentes avec l'idée qu'un certain seuil d'activité physique est suffisant pour induire des adaptations immuno-inflammatoires, sans qu'un surcroît de charge d'entraînement ne modifie significativement le profil salivaire. Par ailleurs, comme dit précédemment, l'absence de différence peut aussi s'expliquer par le choix de la normalisation des données en Z-scores, avec le groupe sédentaire comme référence. Cette approche met efficacement en évidence les écarts par rapport à la condition « des sédentaires », mais limite la détection de différences entre les deux groupes de sportifs, dont les profils apparaissent similaires face à ce référentiel.

Le choix de la salive comme matrice est également cohérent avec la littérature. Plusieurs recherches montrent que les cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α ...) sont mesurables dans la salive lors d'efforts soutenus (Borchers et al., 2022). Certains marqueurs salivaires sont le reflet de processus inflammatoires en lien avec la pratique d'une activité physique. L'usage de la salive pour le monitoring non-invasif en contexte sportif est donc cohérent (Borchers et al., 2022).



FIGURE 32 : INTERACTIONS CYTOKINIQUES AUTOUR DE L'AXE TH17 LORS D'UN EFFORT D'ENDURANCE

Chapitre III : Caractérisation de profils cytokiniques salivaires centrés sur la maladie carieuse

III-1. Contextualisation

Comme présenté dans le chapitre 2, le dosage des cytokines salivaires a permis de mettre en évidence des profils cytokiniques susceptibles d'être associés à pratique sportive. Bien que l'exploitation des données de ORASPORT nécessite encore du travail, notamment concernant des analyses statistiques plus approfondies considérant la totalité de la cohorte disponible et l'influence possible de facteurs confondants (mode de vie, santé, ...), les expériences réalisées valident complètement l'approche basée sur l'utilisation d'un kit multiplexé et ultrasensible de dosage des cytokines salivaires pour comparer les profils « inflammatoires » salivaires entre groupes d'individus.

Dans ce contexte, nous avons voulu appliquer la même stratégie pour analyser les profils de cytokines salivaires dans des groupes de patients affectés par une pathologie orale, en l'occurrence la maladie carieuse, thématique propre de recherche liée à ma discipline hospitalo-universitaire.

L'identification de biomarqueurs permettant de mieux comprendre sa pathogenèse et de prédire le développement de lésions pourrait représenter une véritable innovation en odontologie. La mise en évidence de cytokines salivaires prédictives de la maladie pourrait alors avoir un impact direct sur la pratique clinique, tant pour le diagnostic que pour l'orientation thérapeutique. La détection précoce de la maladie carieuse avant l'apparition de lésions cavitaires à l'aide de tests salivaires offrirait la possibilité d'une prise en charge anticipée et personnalisée, adaptée au profil de risque spécifique de chaque patient. Comme vu dans le chapitre 1, la prise en charge actuelle de la maladie carieuse vise à intégrer une approche diagnostique et thérapeutique individualisée, basée sur une compréhension approfondie des mécanismes physiopathologiques de la maladie. Les moyens diagnostiques sont toutefois limités, notamment pour détecter les premiers stades de la maladie. La disponibilité de marqueurs biologiques, tels que les cytokines salivaires, pourrait ainsi contribuer à affiner le diagnostic, à évaluer le risque de progression carieuse et à orienter les choix thérapeutiques.

III-2. L'étude ancillaire

III-2.1 La population

L'analyse des profils cytokiniques salivaires en lien avec la maladie carieuse a donc été initiée par notre équipe, comme une étude exploratoire ancillaire prenant appui sur la cohorte ORASPORT ; cette population, bien caractérisée sur le plan clinique et biologique, offrait un cadre idéal pour étudier les liens entre les profils cytokiniques salivaires et la maladie carieuse.

Dans le cadre de cette étude ancillaire, nous avons inclus 79 individus âgés de 18 à 30 ans. Les patients ont été divisés en 4 groupes en fonction de leur état de santé bucco-dentaire : ceux présentant des lésions carieuses uniquement (CL, n = 17) ; les témoins sains sans inflammation buccale ni pathologie (H, n = 31), un groupe possédant une inflammation gingivale sans autres lésions (GI, n = 17) et un groupe sans lésion carieuse, résultant de la combinaison du groupe sain et du groupe inflammation gingivale (n=48). Quatorze personnes présentant plusieurs pathologies buccales, principalement une combinaison de caries et d'inflammation gingivale, ont été exclues des analyses des cytokines (Figure 33).

Ce nouvel objectif de recherche (étude ancillaire à la cohorte ORASPORT) a fait l'objet d'une demande de modifications auprès du Comité de Protection des Personnes (CPP) qui a autorisé ces modifications au protocole initial déposé (22.02856.000121 le 10-02-2025).

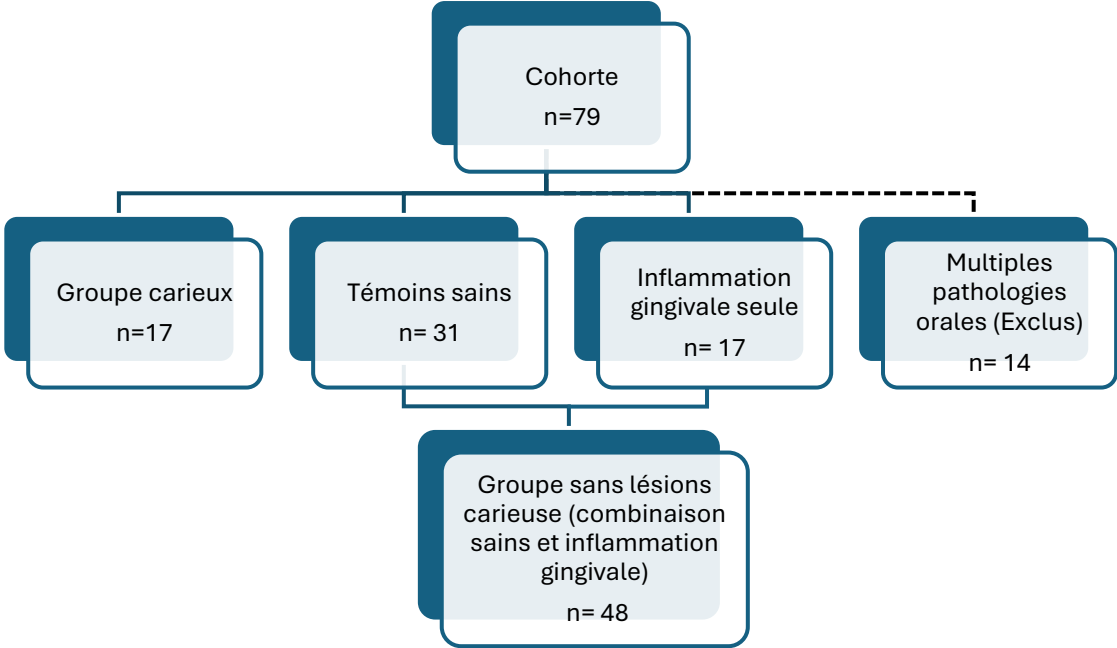


FIGURE 33 : ORGANISATION DE LA COHORTE EN FONCTION DES PATHOLOGIES ORALES

III-2.2. Résultats

L'ensemble de ce travail a été soumis pour publication et il est actuellement dans une phase de review process dans la revue « JDR Clinical & Translational Research ». Les principaux éléments relatifs à cette étude sont donc présentés de manière complète dans le manuscrit de l'article présenté ci-dessous. De façon résumé, nous montrons qu'il est possible d'identifier des combinaisons de cytokines salivaires susceptibles de caractériser la salive d'individus atteints de caries. La différenciation entre caries et bouche saine semble facile à documenter (Mahmood et al., 2025; Rinderknecht et al., 2022), mais également la possibilité de voir apparaître des profils inflammatoires salivaires différents dans les situations d'inflammations gingivales (Azami et al., s. d.; Relvas et al., 2024) et de caries semblent aujourd'hui atteignables. Bien que cette étude porte sur un nombre encore très réduit de cas et de contrôles et que la population étudiée soit jeune et assez homogène en santé, ce travail ouvre vers la réalisation de ce type d'étude portée à de larges cohortes d'individus avec la perspective de documenter et de valider la notion de signatures cytokiniques salivaires pour la carie, avec un intérêt tout particulier pour détecter les caries débutantes encore peu accessibles au niveau clinique.

1 **Ultrasensitive Multiplex Salivary Cytokine Profiling for Dental Caries Detection**

2 Margaux Dubois^{1,2}, Morgane Ortis¹, Lilit Tonoyan¹, Emma Dubois², Marie-France Bertrand^{1,2},
3 Alain Doglio^{1,3}

4 ¹ MICORALIS, Faculté de Chirurgie Dentaire, Université Côte D'Azur, France.

5 ² Institut de Médecine Bucco-Dentaire, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, Nice, France.

6 ³ Unité de Thérapie Cellulaire et Génique, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, Nice, France.

7 Corresponding author: Margaux Dubois, margaux.dubois@univ-cotedazur.fr, +33489152240, Fax:
8 0492001263.

9

10 **ABSTRACT**

11 **OBJECTIVES:** This case-control study aimed to evaluate the analytical performance of an ultra-
12 sensitive electrochemiluminescence multiplex assay (MSD S-PLEX®) for salivary cytokines and
13 to assess whether combined cytokine profiles can discriminate dental caries lesions (CL) from
14 healthy (H) and non-carious gingival inflammation (GI).

15 **METHODS:** Unstimulated whole saliva from 79 individuals (H, CL, GI) was analyzed using the
16 S-PLEX® assay to quantify nine salivary cytokines (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-4, IL-10, IL-12p70,
17 IFN- γ , IL-17, and IL-2). Group comparisons were performed using Mann-Whitney tests, and
18 diagnostic performance was assessed by logistic regression and the area under the receiver
19 operating characteristic (ROC) curve (AUC).

20 **RESULTS:** The assay showed high sensitivity and reproducibility. Cytokine profiling revealed
21 selective elevation of certain cytokines in saliva from CL. Among the models tested, TNF- α + IL-
22 17 provided the best discrimination between CL and H (AUC = 0.901, $p < 0.001$) and between CL
23 and H + GI (AUC = 0.795, $p = 0.0003$). Adding further cytokines did not improve performance.
24 While TNF- α + IL-17 poorly distinguished CL from GI, IL-1 β + IL-17 achieved a lower but still
25 significant discrimination (AUC = 0.737, $p = 0.004$).

26 **CONCLUSION:** This pilot study provides proof-of-concept evidence that ultrasensitive
27 multiplex salivary cytokine profiling can identify caries-associated inflammatory salivary cytokine

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

28 profiling can reveal caries-associated inflammatory patterns. TNF- α + IL-17 emerges as a
29 promising non-invasive biomarker for CL versus H, while IL-1 β + IL-17 may help differentiate CL
30 from GI. These findings highlight the translational potential of salivary cytokine panels, paving the
31 way for non-invasive diagnostic tools for caries and supporting personalized prevention in oral
32 healthcare.

33 **Knowledge Transfer Statement:** This study demonstrates that ultra-sensitive salivary cytokine
34 profiling can distinguish individuals with dental caries from healthy controls and those with
35 gingival inflammation. The findings reinforce saliva's value as a non-invasive diagnostic fluid and
36 highlight cytokine panels as promising tools for earlier detection, targeted prevention, and
37 personalized management of caries in both clinical practice and public health settings. Adoption of
38 such tools could enhance clinical decision-making, reduce diagnostic delays, and improve patient
39 outcomes in dentistry.

40 **KEYWORDS:** Oral Health; Dental Caries; Cytokines; Multiplex Analysis; Saliva; Immunoassay.

41 **Abstract:** 260 words

42 **Total word count:** 2875 words

43 **Total number of tables/figures:** 2 tables and 3 figures

44 **References number:** 30 references

45 INTRODUCTION

46 Dental caries is one of the most prevalent chronic diseases worldwide, with significant impact on
47 quality of life and healthcare costs (Giacaman et al. 2022). Dental caries is a multifactorial disease
48 driven by dynamic interactions between the host, oral microbiota, and environment (Spatafora et
49 al. 2024), and is now recognized as a consequence of microbial dysbiosis, favoring acidogenic and
50 aciduric bacteria that disrupt oral homeostasis and promote tooth demineralization (Ev et al. 2023;
51 Spatafora et al. 2024). The progression of carious lesions (CL) allows bacterial invasion of the
52 dentin and pulp, triggering inflammation.

53 The dental pulp hosts various immune cells, including neutrophils, monocytes, dendritic cells, and
54 lymphocytes, while odontoblasts and other resident pulp cells constitute a first line of defense by
55 sensing microbial patterns and releasing pro-inflammatory cytokines and chemokines (Jang et al.
56 2015; Galler et al. 2021). Mediators such as IL-1 β , IL-6, IL-8, and TNF- α drive pulp disease
57 progression (Wu et al. 2022), while IL-17 has emerged as a contributor to mucosal defense and
58 local inflammation (Khalaf et al. 2025). Elevated cytokines have been detected in pulpal fluids,
59 gingival crevicular fluid, and dentinal exudates, supporting their potential as biomarkers of pulpal
60 pathology (Goldberg et al. 2008; Rechenberg et al. 2016). However, in saliva, a readily accessible,
61 non-invasive fluid, evidence remains limited. Biofilm dysbiosis and *Streptococcus mutans* products
62 are known to induce proinflammatory cytokines such as TNF- α , IL-1 β and IL-6 (Bloch et al. 2024).
63 Clinical studies further link IL-1 β , IL-8, and IL-6 with pulpitis severity and oral inflammation
64 (Rechenberg et al. 2016; Wu et al. 2022). More recently, combinatorial immune profiles have been
65 proposed as discriminators of oral conditions, including oral cancer and periodontitis (Chiamulera
66 et al. 2021), with pilot data suggesting their potential to distinguish deep carious lesions from
67 gingivitis and health (Paqué et al. 2021).

68 As personalized medicine advances, identifying salivary immune signatures holds promise for
69 improving the diagnosis and management of oral diseases (Zanini et al. 2017; Paqué et al. 2021).
70 Traditional approaches such as enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) and bead-based

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

71 multiplex assays provide reliable measurements but often lack the sensitivity needed to reliably
72 detect low-abundance cytokines in saliva (Chang et al. 2011; Prasad and McCullough 2013; Diesch
73 et al. 2021; Forszt et al. 2025). The S-PLEX® ultra-sensitive immunoassay technology, developed
74 by Meso Scale Discovery (MSD), achieves femtogram-per-mL detection limits while maintaining
75 a broad dynamic range and high specificity, an advantage in oral and dental research where analyte
76 concentrations are frequently low. Its multiplexing capability and high reproducibility permit the
77 simultaneous quantification of multiple cytokines, supporting more comprehensive
78 immunoprofiling and enhancing the translational potential of salivary biomarker studies. Despite
79 these advantages, the application of S-PLEX® technology to unstimulated whole saliva has not yet
80 been validated (Poorbaugh et al. 2019; McKinski et al. 2025). This study aimed to validate this
81 technology for salivary cytokine profiling among healthy individuals (H), patients with CL, and
82 those with gingival inflammation (GI). Specifically, we tested the MSD S-PLEX® Proinflammatory
83 panel 1 (human) kit, which enables detection of nine cytokines representing key immune pathways:
84 innate immunity (IL-1 β , TNF- α), Th1 (IL-12p70, IFN- γ), Th2 (IL-4), Th17 (IL-17), regulatory
85 responses (IL-10), and general T-cell activation (IL-2).

87 MATERIALS AND METHODS

88 Study design and participants

89 This case-control ancillary study was conducted within the ORASPORT cohort, a registered
90 clinical trial (NCT05765422), at Université Côte D'Azur, Nice, France. Seventy-nine healthy
91 young adults were recruited from university campuses, the dental department of CHU Nice, and
92 local sports events. Inclusion criteria were age 18–30 years, documented written informed consent,
93 and completion of a standardized questionnaire covering medical, dental, and lifestyle history.
94 Exclusion criteria were use of anti-inflammatory medication within 48 hours, or antibiotic/probiotic
95 treatment within three weeks prior to sampling.

1
2
3 96 Demographic characteristics (age, sex, BMI) were recorded, and psychological stress levels were
4
5 97 assessed using the standardized Likert scale. These factors were accounted for as potential
6
7 98 confounders and possible sources of bias in the analysis. The study was approved by the Committee
8
9 99 for the Protection of Persons (CPP; approval ID-RCB 2022-A01682-41, February 2023) and
10
11 100 registered under RCB: 2022-A01682-41-22-PP-11. All procedures complied with the Declaration
12
13 101 of Helsinki.
14
15
16 102

18 103 **Clinical examination**

19
20 104 Oral health assessments were conducted on the recruitment day, before saliva collection, by a single
21
22 105 calibrated dental examiner (MD). Caries status was recorded using the Decayed, Missing, and
23
24 106 Filled Teeth (DMFT) index following the World Health Organization (WHO) 5th edition criteria
25
26 107 and International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) guidelines (Ismail et al. 2007;
27
28 108 Praveen Bhoopathi et al. 2017). Gingival status was evaluated using the Loe and Silness Gingival
29
30 109 Index (LSI) and Plaque Index (PI) (Holde et al. 2017). Additional assessment included tooth wear
31
32 110 and gingival recession, according to the Miller system (Aggarwal et al. 2017).

33
34
35 111 Participants were classified into three groups: healthy controls without oral inflammation or
36
37 112 pathology (H, n = 31), carious lesions (CL, n = 17), and gingival inflammation (GI, n = 17). GI
38
39 113 status was determined for patients with LSI > 0 and without concomitant oral lesions. Fourteen
40
41 114 individuals presenting multiple conditions, mainly CL + GI, were excluded from cytokine analyses
42
43 115 to ensure clear discrimination between groups.
44

45 116

47 117 **Saliva sampling and salivary cytokine quantification**

48
49 118 Samples were processed within 2 hours of collection, supplemented with protease inhibitors
50
51 119 (Pierce™ Protease Inhibitor Tablets, Thermo Fisher Scientific™), and stored at -80 °C at the
52
53 120 MICORALIS Laboratory.
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

121 Cytokines were quantified using the ultrasensitive S-PLEX® Proinflammatory Panel 1 (MSD),
122 which detects nine cytokines at femtogram-per-mL sensitivity (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-
123 12p70, IL-17, IFN- γ , and TNF- α). Assays were performed in duplicate according to the
124 manufacturer's instructions and measured on a MESO® QuickPlex SQ 120. Analytical validation
125 included assessments of sensitivity, linearity, reproducibility, and matrix effect. Calibration curves
126 (8 points) were fitted using a 4-parameter logistic (4PL) model with Discovery Workbench 4.0
127 analysis software. All assays were performed using the same reagent lot to ensure consistency.
128 Cytokine concentrations were expressed as fg/mL of whole saliva. An additional dataset
129 normalized to total salivary protein (fg/ μ g) was also generated for comparison. Main analyses were
130 conducted using the fg/mL dataset.

131

132 **Data management and statistical analysis**

133 Cytokine concentrations were log₁₀-transformed and standardized as z-scores prior to analysis.
134 Outlier filtering was applied only to the healthy group using the Tukey's method (values < Q1 –
135 1.5 \times IQR or > Q3 + 1.5 \times IQR), based on the assumption that extreme values in H more likely
136 reflected technical noise or random variation rather than pathology (Ozarda 2016; Taylor et al.
137 2024). In total, 23 values (8.2% of 279 data points) were classified as outliers and set to missing
138 (NaN), while retaining all patients in the analysis. Group comparisons were performed using the
139 Kruskal–Wallis test for overall effects, followed by pairwise comparisons using either Student's t-
140 test or the Mann–Whitney U test, depending on data distribution as assessed with Shapiro–Wilk
141 test. The significance of single-, double, and triple-cytokine combinations between groups was
142 assessed with Mann–Whitney U tests, and p-values were adjusted using the Benjamini–Krieger–
143 Yekutieli procedure for CL vs H, CL vs GI, and CL vs H + GI (combined controls).
144 Diagnostic performance of single-, bi-, and tri-cytokine models was evaluated using receiver
145 operating characteristic (ROC). For each biomarker (or predefined composite score), ROC curves
146 were generated and the area under the curve (AUC) was calculated together with 95% confidence

1
2
3 147 intervals. When relevant, AUC values were statistically compared between groups to assess
4
5 148 differences in diagnostic performance. Statistical analyses were conducted using GraphPad Prism
6
7 149 V10.5.
8
9 150

10

11 151 **RESULTS**

12 152 **Characteristics of the cohort**

13
14
15 153 A total of 79 participants were included and classified as H (n = 31), CL (n = 17), GI (n = 17), or
16
17 154 multiple oral pathologies (n = 14). Demographic variables (age, sex, BMI, and stress scores) were
18
19 155 comparable across groups (Table 1). In contrast, clinical indices confirmed distinct disease profiles.
20
21 156 The DMFT index was significantly higher in the CL group (4.59 ± 3.71) compared to GI ($0.76 \pm$
22
23 157 $1.64, p < 0.0001$) and H ($0.84 \pm 1.53, p < 0.0001$). PI was significantly higher in the GI group (0.88
24
25 158 ± 0.69) relative to H ($0.19 \pm 0.59, p = 0.0002$). LSI was markedly higher in GI (1.29 ± 0.59)
26
27 159 compared to CL ($0 \pm 0, p < 0.0001$) and H ($0.09 \pm 0.53, p < 0.0001$). Erosion scores did not differ
28
29 160 significantly between groups.
30
31 161

32

33 162 **Validation of ultrasensitive multiplex cytokine detection in saliva**

34
35 163 To ensure the reliability of cytokine quantification in unstimulated saliva, we validated the
36
37 164 performance of the S-PLEX® Proinflammatory Panel 1. Standard curves for all nine cytokines,
38
39 165 generated from serial dilutions of recombinant standards, showed excellent 4-parameter logistic
40
41 166 (4PL) fits, with R^2 values ranging from 0.998 to 0.999 (Appendix Table 1). The assay covered a
42
43 167 broad dynamic range ($> 4 \log_{10}$) without signal saturation or hook effect at high concentrations.
44
45 168 The limits of detection and quantification confirmed fg-level sensitivity.

46
47
48 169 In all saliva samples (n = 79) cytokine distributions on a \log_{10} scale (Figure 1) demonstrated robust
49
50 170 assay performance. Intra-assay reproducibility was high, with coefficients of variation (CV) $< 10\%$
51
52 171 across all concentration ranges (Appendix Figure 1). All nine cytokines were detected in $> 97\%$ of
53
54 172 samples; eight were consistently detected in 100% of samples, while IL-12p70 reached 97.7%.

55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

173 Median concentrations typically ranged between 10 and 1000 fg/mL, indicating both physiological
174 relevance and technical robustness. Notably IL-1 β reached very high levels, with two samples
175 exceeding the upper detection limit ($> 1.70 \times 10^5$ fg/mL).

176 Together, these results confirm the high analytical sensitivity, reproducibility, and suitability of the
177 S-PLEX $\text{\textcircled{R}}$ Proinflammatory Panel 1 multiplex immunoassay for comprehensive non-invasive
178 profiling of salivary cytokines.

179

180 **Salivary cytokine combinations show distinct patterns in health, caries, and gingival** 181 **inflammation**

182 To identify immune biomarkers distinguishing caries from other oral conditions, we compared
183 salivary cytokine distributions in patients with caries (CL) vs healthy controls (H), non-carious
184 gingival inflammation (GI), and combined controls (H + GI) (Figure 3, Table 2). The discriminative
185 performance of cytokine patterns was first assessed for individual cytokines and pairwise
186 combinations (bi-cytokine models), followed by tri-cytokine models obtained by adding a third
187 marker to the best-performing pairs.

188 Among single cytokines, TNF- α was the most robust marker, showing significant elevation in CL
189 vs H ($p < 0.001$) and CL vs H + GI ($p = 0.0003$), but it failed to discriminate CL from GI ($p > 0.05$).
190 IL-6 was significantly higher in CL compared with H ($p = 0.01$), whereas IL-1 β alone was not
191 significant (data not shown). Bi-cytokine models improved discrimination. The IL-1 β + TNF- α
192 combination showed the strongest significance for CL vs H ($p < 0.0001$) and remained highly
193 significant for CL vs H + GI ($p = 0.0005$). Similarly, IL-17 + TNF- α was significantly higher in
194 CL compared with both H and H + GI ($p < 0.001$ and $p = 0.0002$, respectively), with a clear
195 rightward shift in CL compared with H and minimal overlap between groups, supporting its
196 specificity as a marker of caries-associated inflammation. Interestingly, the IL-1 β + IL-17 pair also
197 discriminated CL from other conditions, including GI ($p = 0.0162$). Tri-cytokine combinations
198 further enhanced discriminative performance. Adding IL-1 β to the IL-17 + TNF- α pair yielded the

1
2
3
4 199 strongest significance for CL vs H ($p < 0.0001$) and CL vs H + GI ($p = 0.0004$). The IL-12p70 +
5
6 200 IL-17 + TNF- α combination also remained significant for CL vs H ($p = 0.0012$) and CL vs H + GI
7
8 201 ($p = 0.007$). Taken together, these findings support the involvement of both innate immune
9
10 202 responses (TNF- α) and Th17-mediated mucosal immune pathways (IL-17) in the
11
12 203 immunopathology of carious lesions (Figure 2).
13
14 204 Diagnostic performance was then assessed using ROC analysis. The best performances to
15
16 205 discriminate between groups were as follows: the IL-17 + TNF- α combination yielded the highest
17
18 206 accuracy for CL vs H (AUC = 0.901, $p < 0.0001$), while IL-17 + IL-1 β showed good accuracy for
19
20 207 CL vs H + GI (AUC = 0.795, $p = 0.016$). The tri-cytokine combination IL-17 + TNF- α + IL-1 β
21
22 208 also showed good accuracy in discriminating CL from combined controls (AUC = 0.798, $p =$
23
24 209 0.007). These results indicate that IL-17 combined with TNF- α and/or IL-1 β may serve as valuable
25
26 210 markers for discriminating CL from different oral conditions.
27
28
29
30

31 212 **Discussion**

32
33 213 The present study demonstrates the feasibility and robustness of the S-PLEX®
34
35 214 electrochemiluminescence platform for ultrasensitive multiplex quantification of nine key
36
37 215 cytokines involved in proinflammatory and regulatory immune responses in whole saliva.
38
39 216 Analytical validation confirmed excellent assay performance, with femtogram-per-mL sensitivity,
40
41 217 high reproducibility, and minimal matrix interference. ELISA and bead-based multiplex systems
42
43 218 remain widely implemented in salivary biomarker research; however, their analytical performance
44
45 219 is limited by methodological constraints, particularly their insufficient sensitivity for detecting low-
46
47 220 abundance cytokines commonly found in saliva. Bead-based multiplex assays also face issues of
48
49 221 cross-reactivity and reduced accuracy at the lower end of the dynamic range, further compromising
50
51 222 quantitative reliability. The S-PLEX® platform overcomes many of these limitations, making it
52
53 223 highly suitable for profiling mucosal immune responses in oral diseases. However, as with any new
54
55 224 analytical approach, potential drawbacks warrant consideration. The specialized instrumentation
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

225 and reagents required may limit accessibility, and validation across diverse sample types and
226 clinical contexts is still ongoing. Lastly, although S-PLEX® offers significant methodological
227 advantages, the S-PLEX® Proinflammatory Panel 1 targets a predefined set of nine cytokines, it
228 lacks flexibility and does not cover some clinically relevant markers, such as IL-8. Nonetheless,
229 this limitation can be overcome by using customized panels tailored to specific research questions.
230 The scope of this pilot study is further constrained by several considerations. The modest sample
231 size, the narrow demographic of young adults, and the cross-sectional design inevitably restrict
232 generalizability and preclude both causal inference and assessment of temporal dynamics.
233 Consequently, our findings should be interpreted as indicative of cytokine profiles associated with
234 dental caries, rather than definitive diagnostic signatures. Furthermore, the absence of radiographic
235 and periodontal probing data in the GI group limited the precision of characterizing non-carious
236 inflammation; this subgroup was therefore retained primarily as a comparator to evaluate the
237 specificity of caries-associated cytokine patterns. Moreover, saliva itself is a complex and variable
238 biological fluid, with flow rate, circadian rhythm, and systemic conditions potentially influencing
239 cytokine levels, introducing variability into biomarker studies. Finally, budgetary constraints
240 restricted the number of assays that could be performed, limiting broader validation across
241 additional markers. Despite these limitations, our findings highlight the diagnostic potential of
242 salivary immune profiling for caries detection.
243 Among the cytokines assessed, TNF- α consistently emerged as the most discriminative single
244 marker of caries-associated inflammation compared with health. TNF- α is a central mediator of
245 pulpal disease, driving leukocyte invasion, vascular and prostaglandin cascades, matrix
246 degradation, and nociceptor sensitization (Pohl et al. 2024). Consistently, animal studies confirm
247 that TNF- α may serve as a marker of early pulpal inflammation: its concentrations are elevated in
248 symptomatic pulpitis but decline as irreversible inflammation progresses (Pezelj-Ribaric et al.
249 2002), and its expression is rapidly induced after pulp exposure in animal models (Tani-Ishii et al.
250 1995). More recently, TNF- α has been proposed as a potential diagnostic biomarker for pulp status;

1
2
3
4 251 for instance, the combination of IL-8 + TNF- α effectively discriminated reversible and irreversible
5
6 252 pulpitis from normal pulp tissue (Nawal et al. 2024). In our dataset, the combination of TNF- α +
7
8 253 IL-1 β , and to a lesser extent TNF- α + IL-17, was strongly associated with caries status, whereas
9
10 254 the addition of a third cytokine did not significantly increase discriminatory power.
11
12 255 Interestingly, IL-1 β was not discriminatory on its own, but the bi-cytokine combination (IL-1 β +
13
14 256 IL-17) and the tri-cytokine combination (IL-1 β + IL-17 + IFN- γ) successfully distinguished CL
15
16 257 from other oral conditions, including GI (LSI > 0). This observation is particularly relevant, as IL-
17
18 258 1 β , a prototypical member of the IL-1 cytokine family, is widely implicated in pulpal and periapical
19
20 259 inflammation. Elevated IL-1 β expression has been consistently reported in carious dentin, pulp
21
22 260 tissue, and gingival crevicular fluid of patients with caries (Nawal et al. 2024; Karched et al. 2025).
23
24 261 It plays a pivotal role in amplifying local immune responses by promoting cytokine and chemokine
25
26 262 release, osteoclastogenesis, and matrix metalloproteinase activation, thereby linking microbial
27
28 263 invasion to tissue destruction. In our cohort, the ability of salivary IL-1 β -containing combinations
29
30 264 to discriminate CL from GI suggests that its elevation may reflect tissue-invasive inflammation
31
32 265 rather than superficial gingival changes.
33
34 266 IL-17, produced by Th17 cells, contributes to mucosal defense through neutrophil recruitment and
35
36 267 epithelial activation. Elevated IL-17 has been reported in carious dentin, inflamed pulp, and saliva
37
38 268 of adolescents with active caries (Karched et al. 2025), reinforcing its biological relevance as a
39
40 269 marker of cariogenic inflammation. Together, these findings support the clinical potential of the
41
42 270 IL-1 β + IL-17 pair for distinguishing carious from non-carious oral inflammatory conditions.
43
44 271 From a translational perspective, exploratory testing of tri-cytokine panels indicated that the IL-1 β
45
46 272 + TNF- α + IL-17 combination retained statistical significance against both H and GI groups but
47
48 273 did not substantially improve performance over bi-cytokine combinations. This highlights the
49
50 274 potential value of focused biomarker panels that remain both biologically meaningful and
51
52 275 technically feasible.
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

276 Taken together, our findings demonstrate that focused cytokine profiles can distinguish caries-
277 associated inflammation from both health and non-carious inflammation, offering considerable
278 diagnostic promise. However, future studies will need to demonstrate whether these profiles
279 provide added diagnostic value beyond established clinical indices. Large-scale and longitudinal
280 investigations should also be conducted to capture temporal dynamics and validate reproducibility
281 across diverse populations. Moreover, integrating immune, microbial, and metabolomic markers
282 could further refine salivary diagnostic models. Ultimately, such efforts could enable the
283 development of non-invasive, rapid, and multiplexable assays for early caries detection and risk
284 stratification.

285 **Acknowledgments**

286 The authors thank Ms. Agnès Loubat, Ms. Faudrin Samantha, and Prof. Robert Marsault for their
287 assistance with cytokine quantifications, and Prof. Laurence Lupi for her continuous and valuable
288 support.

289 **Author contributions**

290 Margaux Dubois: Contributed to conception, design, data acquisition, analysis and interpretation,
291 drafted and critically revised the manuscript. Morgane Ortis: Contributed to data acquisition,
292 analysis and critically revised the manuscript. Lilit Tonoyan: Contributed to data acquisition,
293 analysis and critically revised the manuscript. Emma Dubois: Contributed to data acquisition and
294 critically revised the manuscript. Marie-France Bertrand: Contributed to design, data interpretation
295 and critically revised the manuscript. Alain Doglio: Contributed to conception, design, data
296 interpretation, drafted and critically revised the manuscript.

297 All authors gave their final approval and agree to be accountable for all aspects of the work.

298

299

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

300 **Funding**

301 The authors declare that no funds, grants, or other support were received during the preparation of
302 this manuscript.

303 **Conflicts of interest**

304 The authors declare no conflicts of interest

305 **Ethical approval**

306 The study protocol was approved by the Human Research Ethics Committee for the Protection of
307 Persons (CPP, ID-RCB 2022-A01682-41, February 2023). The study was conducted in accordance
308 with the Declaration of Helsinki, and written informed consent was obtained from all participants
309 prior to enrollment.

310 **Data availability**

311 All data generated or analyzed during this study are included in this published article and its
312 supplementary information files.

313 **Use of AI tools**

314 The authors used ChatGPT (OpenAI, San Francisco, CA, USA) to improve language clarity and
315 consistency. The authors reviewed and take full responsibility for the content.

316 **References:**

- 317 Aggarwal R, Jain S, Kaur H. 2017. Classification systems of gingival recession: An update. *Indian*
318 *J Dent Sci.* 9(1):52. doi:10.4103/0976-4003.201632.
- 319 Bloch S, Hager-Mair FF, Andrukhov O, Schäffer C. 2024. Oral streptococci: modulators of health
320 and disease. *Front Cell Infect Microbiol.* 14:1357631. doi:10.3389/fcimb.2024.1357631.
- 321 Chang K-P, Chang Y-T, Liao C-T, Yen T-C, Chen I-H, Chang Y-L, Liu Y-L, Chang Y-S, Yu J-S,
322 Wu C-C. 2011. Prognostic cytokine markers in peripheral blood for oral cavity squamous cell

- 1
2
3 323 carcinoma identified by multiplexed immunobead-based profiling. *Clin Chim Acta.* 412(11–
4 324 12):980–987. doi:10.1016/j.cca.2011.02.002.
5
6 325 Chiamulera MMA, Zancan CB, Remor AP, Cordeiro MF, Gleber-Netto FO, Baptistella AR. 2021.
7 326 Salivary cytokines as biomarkers of oral cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMC*
8 327 *Cancer.* 21(1):205. doi:10.1186/s12885-021-07932-3.
9
10 328 Diesch T, Filippi C, Fritschi N, Filippi A, Ritz N. 2021. Cytokines in saliva as biomarkers of oral
11 329 and systemic oncological or infectious diseases: A systematic review. *Cytokine.* 143:155506.
12 330 doi:10.1016/j.cyto.2021.155506.
13
14 331 Ev LD, Poloni JF, Damé-Teixeira N, Arthur RA, Corralo DJ, Henz SL, Do T, Maltz M, Parolo
15 332 CCF. 2023. Biofilm dysbiosis and caries activity: a surface or an individual issue? *J Appl Oral Sci.*
16 333 31:e20230214. doi:10.1590/1678-7757-2023-0214.
17
18 334 Forszt D, Gerreth K, Kopczyński J, Zalewska A, Hojan K, Marchewka R, Bielas M, Maciejczyk
19 335 M. 2025. The screening assessment of pro-inflammatory, anti-inflammatory, Th1, Th2 and Th17
20 336 cytokines in saliva of patients with ischemic stroke. *Int J Med Sci.* 22(11):2686–2699.
21 337 doi:10.7150/ijms.110452.
22
23 338 Galler KM, Weber M, Korkmaz Y, Widbiller M, Feuerer M. 2021. Inflammatory Response
24 339 Mechanisms of the Dentine–Pulp Complex and the Periapical Tissues. *International Journal of*
25 340 *Molecular Sciences.* 22(3):1480. doi:10.3390/ijms22031480.
26
27 341 Giacaman RA, Fernández CE, Muñoz-Sandoval C, León S, García-Manríquez N, Echeverría C,
28 342 Valdés S, Castro RJ, Gambetta-Tessini K. 2022. Understanding dental caries as a non-
29 343 communicable and behavioral disease: Management implications. *Front Oral Health.* 3:764479.
30 344 doi:10.3389/froh.2022.764479.
31
32 345 Goldberg M, Farges J-C, Lacerda-Pinheiro S, Six N, Jegat N, Decup F, Septier D, Carrouel F,
33 346 Durand S, Chaussain-Miller C, et al. 2008. Inflammatory and immunological aspects of dental pulp
34 347 repair. *Pharmacol Res.* 58(2):137–147. doi:10.1016/j.phrs.2008.05.013.
35
36 348 Holde GE, Oscarson N, Trovik TA, Tillberg A, Jönsson B. 2017. Periodontitis Prevalence and
37 349 Severity in Adults: A Cross-Sectional Study in Norwegian Circumpolar Communities. *J*
38 350 *Periodontol.* 88(10):1012–1022. doi:10.1902/jop.2017.170164.
39
40 351 Ismail AI, Sohn W, Tellez M, Amaya A, Sen A, Hasson H, Pitts NB. 2007. The International Caries
41 352 Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries.
42 353 *Community Dent Oral Epidemiol.* 35(3):170–178. doi:10.1111/j.1600-0528.2007.00347.x.
43
44 354 Jang J-H, Shin HW, Lee JM, Lee H-W, Kim E-C, Park SH. 2015. An Overview of Pathogen
45 355 Recognition Receptors for Innate Immunity in Dental Pulp. *Mediators Inflamm.* 2015:794143.
46 356 doi:10.1155/2015/794143.
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3 357 Karched M, Alyahya A, Khalaf ME, Bhardwaj RG, Al-Sane M, Qudeimat MA. 2025. Comparative
4 358 analysis of salivary cytokine profiles and oral microbial composition in caries-active and caries-
5 359 free children. *J Dent.* 154:105611. doi:10.1016/j.jdent.2025.105611.
- 7
8 360 Khalaf AM, Al-obaidi NS, Muhabes MH. 2025. Caries experience and salivary interleukin-17 level
9 361 in pre and postmenopausal women. *Journal Port Science Research.* 8(1):8–12.
10 362 doi:10.36371/port.2025.1.2.
- 12
13 363 McKinski K, Tang H, Wang K, Birchler M, Wright M. 2025. Comparison of highly sensitive,
14 364 multiplex immunoassay platforms for streamlined clinical cytokine quantification. *Bioanalysis.*
15 365 17(1):17–29. doi:10.1080/17576180.2024.2442190.
- 17
18 366 Nawal RR, Yadav S, Duncan HF, Talwar S, Kaushik A, Singh VK, Koner BC. 2024.
19 367 Discriminatory performance of the pulpal inflammatory biomarkers; Interleukin-8 and TNF- α in
20 368 patients with symptoms indicative of reversible and irreversible pulpitis: A diagnostic accuracy
21 369 study. *International Endodontic Journal.* 57(9):1200–1211. doi:10.1111/iej.14078.
- 23
24 370 Ozarda Y. 2016. Reference intervals: current status, recent developments and future considerations.
25 371 *Biochem Med (Zagreb).* 26(1):5–11. doi:10.11613/BM.2016.001.
- 26
27 372 Paqué PN, Herz C, Wiedemeier DB, Mitsakakis K, Attin T, Bao K, Belibasakis GN, Hays JP,
28 373 Jenzer JS, Kaman WE, et al. 2021. Salivary Biomarkers for Dental Caries Detection and
29 374 Personalized Monitoring. *J Pers Med.* 11(3):235. doi:10.3390/jpm11030235.
- 31
32 375 Pezelj-Ribaric S, Anic I, Brekalo I, Miletic I, Hasan M, Simunovic-Soskic M. 2002. Detection of
33 376 Tumor Necrosis Factor α in Normal and Inflamed Human Dental Pulp. *Archives of Medical*
34 377 *Research.* 33(5):482–484. doi:10.1016/S0188-4409(02)00396-X.
- 35
36 378 Pohl S, Akamp T, Smeda M, Uderhardt S, Besold D, Krastl G, Galler KM, Buchalla W, Widbillier
37 379 M. 2024. Understanding dental pulp inflammation: from signaling to structure. *Front Immunol.*
38 380 15:1474466. doi:10.3389/fimmu.2024.1474466.
- 39
40 381 Poorbaugh J, Samanta T, Bright SW, Sissons SE, Chang C-Y, Oberoi P, MacDonald AJ, Martin
41 382 AP, Cox KL, Benschop RJ. 2019. Measurement of IL-21 in human serum and plasma using
42 383 ultrasensitive MSD S-PLEX® and Quanterix SiMoA methodologies. *Journal of Immunological*
43 384 *Methods.* 466:9–16. doi:10.1016/j.jim.2018.12.005.
- 45
46 385 Prasad G, McCullough M. 2013. Chemokines and cytokines as salivary biomarkers for the early
47 386 diagnosis of oral cancer. *Int J Dent.* 2013:813756. doi:10.1155/2013/813756.
- 49
50 387 Praveen Bhoopathi, Pavan Uday Patil, Vinayak Kamath, Deepika Gopal, Sai Kumar, Ganesh
51 388 Kulkarni. 2017. Caries Detection with ICDAS and the WHO Criteria: A Comparative Study.
52 389 December 2017. 11(12):ZC09-ZC12. doi:10.7860/JCDR/2017/29017.10929.
- 53
54 390 Rechenberg D-K, Galicia JC, Peters OA. 2016. Biological Markers for Pulpal Inflammation: A
55 391 Systematic Review. *PLoS One.* 11(11):e0167289. doi:10.1371/journal.pone.0167289.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

392 Spatafora G, Li Y, He X, Cowan A, Tanner ACR. 2024. The Evolving Microbiome of Dental
393 Caries. *Microorganisms*. 12(1):121. doi:10.3390/microorganisms12010121.

394 Tani-Ishii N, Wang C-Y, Stashenko P. 1995. Immunolocalization of bone-resorptive cytokines in
395 rat pulp and periapical lesions following surgical pulp exposure. *Oral Microbiology and*
396 *Immunology*. 10(4):213–219. doi:10.1111/j.1399-302X.1995.tb00145.x.

397 Taylor A, Adank DN, Young PA, Quan Y, Nabit BP, Winder DG. 2024. Forced Abstinence from
398 Volitional Ethanol Intake Drives a Vulnerable Period of Hyperexcitability in BNST-Projecting
399 Insular Cortex Neurons. *J Neurosci*. 44(4):e1121232023. doi:10.1523/JNEUROSCI.1121-23.2023.

400 Wu Q, Li S, Li R, Chen X, Guo L, Zheng Y. 2022. The detection of pro-inflammatory cytokines
401 in exudates from dental pulp tissues. *Cytokine*. 153:155846. doi:10.1016/j.cyto.2022.155846.

402 Zanini M, Meyer E, Simon S. 2017. Pulp Inflammation Diagnosis from Clinical to Inflammatory
403 Mediators: A Systematic Review. *J Endod*. 43(7):1033–1051. doi:10.1016/j.joen.2017.02.009.
404

405 **Figures:**

406

407 **Figure 1.** Salivary concentrations of nine cytokines measured with the S-PLEX® Proinflammatory
408 Panel 1 (MSD®).

409 Boxplots display \log_{10} -transformed concentrations (fg/mL) for each cytokine across all participants
410 ($n = 79$), illustrating the broad dynamic range, inter-individual variability, and median
411 concentrations generally between 10 and 1000 fg/mL. Boxes represent the interquartile range
412 (IQR), horizontal lines indicate the median, and whiskers extend to $1.5 \times$ IQR. All cytokines were
413 detectable in $> 97\%$ of samples, with eight cytokines consistently detected in 100% of participants.

414

415 **Figure 2.** Violin plots showing the distribution of salivary cytokine z-scores across patient groups.

416 Panels show comparisons between carious lesions (CL, red) and (A) healthy controls (H, blue), (B)
417 gingival inflammation (GI, brown), and (C) the combined H + GI group (green). Each violin plot
418 shows the z-score-standardized, $\log_{10}(x+1)$ -transformed composite value of cytokine signatures
419 identified as significant (see Table 2). The CL group shows a consistent shift toward higher values,
420 most pronounced for the IL-17 + TNF- α signature, indicating its specificity for caries-associated
421 inflammation. Violin width reflects data density; white dots indicate medians; thick bars represent
422 interquartile ranges. Statistical significance: * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$; **** $p \leq 0.0001$.

423

424 **Figure 3.** Receiver Operating Characteristic (ROC) curves for salivary cytokine signatures
425 discriminating between oral health states.

426 (A) IL-17 + TNF- α distinguishing carious lesions (CL) from healthy controls (H) (AUC = 0.9013).

427 (B) IL-17 + IL-1 β distinguishing CL from gingival inflammation (GI) (AUC = 0.7336).

428 (C) IL-17 + TNF- α + IL-1 β distinguishing CL from the combined H + GI group (AUC = 0.7978).

429 The diagonal line represents the performance of a random classifier.

430

431

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60432 **Tables:**

433

434 **Table 1.** Demographics and oral parameters of CL, GI, and H groups.

Parameters ^a	Cariou lesion (CL) n = 17	Gingival inflammation (GI) n = 17	Healthy (H) n = 31	Overall <i>p</i> -value ^b	<i>p</i> -value ^c CL vs GI	<i>p</i> -value ^c CL vs H	<i>p</i> -value ^c GI vs H
General demographic characteristics							
Age	24.5 ± 3.10	24.5 ± 3.20	24.5 ± 3.65	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Sex (M/F)	8 / 9	10 / 7	11 / 21	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
BMI (kg/m ²)	21.8 ± 3.04	22.5 ± 3.31	21.2 ± 2.35	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Stress score	2.41 ± 1.23	2.29 ± 1.11	2.31 ± 0.99	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Dental parameters							
DMFT	4.59 ± 3.71	0.76 ± 1.64	0.84 ± 1.53	0.0006	0.0001	0.0001	<i>n.s.</i>
PI	0.47 ± 0.72	0.88 ± 0.69	0.19 ± 0.59	0.0002	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	0.0002
Erosion	0.29 ± 0.47	0.12 ± 0.33	0.19 ± 0.39	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>
LSI	0 ± 0	1.29 ± 0.59	0.09 ± 0.53	0.0001	0.0001	<i>n.s.</i>	0.0001

435 ^a Data are presented as mean ± SD; ^b Overall *p*-values were calculated using the Kruskal–Wallis
436 test; ^c Post-hoc *p*-values were calculated using the Mann–Whitney test with Benjamini–Krieger–
437 Yekutieli adjustment. Bold values indicate statistically significant differences (*p* < 0.05). *n.s.* =
438 non-significant results.

439

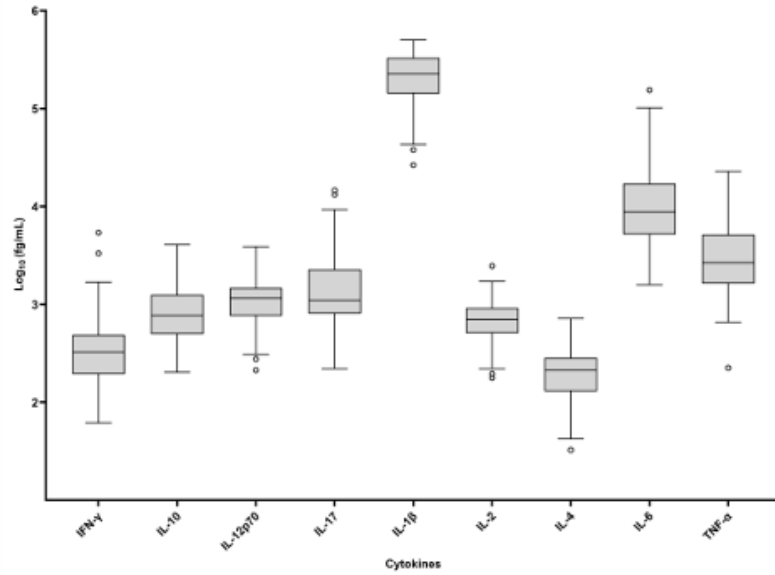
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

440 **Table 2.** Significance of cytokine signatures discriminating carious lesions (CL) from healthy
441 controls (H), gingival inflammation (GI), and combined controls (H + GI).

Cytokine signature ^{a,b}	Signature type	CL vs H ^c	CL vs GI ^c	CL vs H + GI ^c
TNF- α	single	< 0.001	<i>n.s.</i>	0.0003
IL-6	single	0.01	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>
IL-17 + TNF- α	Bi-cytokine	< 0.001	<i>n.s.</i>	0.0002
TNF- α + IL-1 β	Bi-cytokine	< 0.0001	<i>n.s.</i>	0.0005
IL-17 + IL-1 β	Bi-cytokine	0.0117	0.0162	0.0117
IL-1 β + IL-17 + IFN- γ	Tri-cytokine	<i>n.s.</i>	0.05	<i>n.s.</i>
IL-17 + TNF- α + IL-1 β	Tri-cytokine	< 0.0001	<i>n.s.</i>	0.0004
IL-12p70 + IL-17 + TNF- α	Tri-cytokine	0.001	<i>n.s.</i>	0.007

442 ^a Only cytokine combinations with at least one significant comparison ($p < 0.05$) are shown. ^b
443 Quantification of salivary cytokines was performed using the S-PLEX[®] Proinflammatory Panel 1
444 (MSD); ^c p-values were calculated using Mann-Whitney test, with p-values adjusted via the
445 Benjamini-Krieger-Yekutieli test on $\log_{10}(x+1)$ -transformed, z-score-normalized cytokine
446 concentrations. *n.s.* = non-significant results.

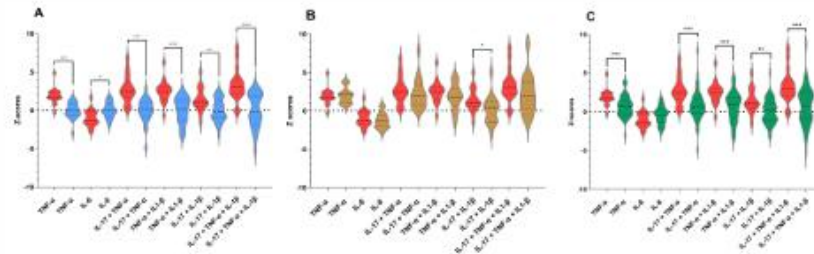
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



Boxplots display \log_{10} -transformed concentrations (fg/mL) for each cytokine across all participants ($n = 79$), illustrating the broad dynamic range, inter-individual variability, and median concentrations generally between 10 and 1000 fg/mL. Boxes represent the interquartile range (IQR), horizontal lines indicate the median, and whiskers extend to $1.5 \times$ IQR. All cytokines were detectable in $> 97\%$ of samples, with eight cytokines consistently detected in 100% of participants.

283x221mm (300 x 300 DPI)

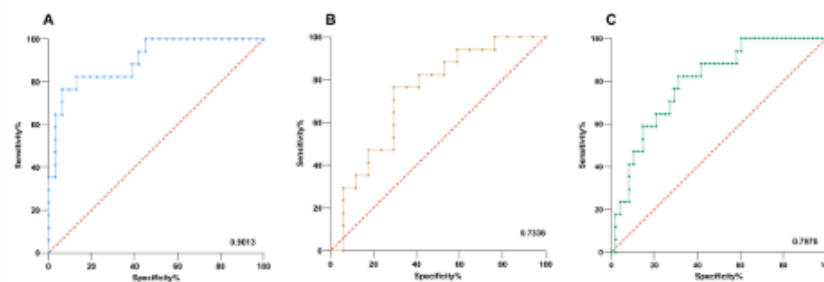
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25



Panels show comparisons between carious lesions (CL, red) and (A) healthy controls (H, blue), (B) gingival inflammation (GI, brown), and (C) the combined H + GI group (green). Each violin plot shows the z-score-standardized, log₁₀(x+1)-transformed composite value of cytokine signatures identified as significant (see Table 2). The CL group shows a consistent shift toward higher values, most pronounced for the IL-17 + TNF-α signature, indicating its specificity for caries-associated inflammation. Violin width reflects data density; white dots indicate medians; thick bars represent interquartile ranges. Statistical significance: * p ≤ 0.05; ** p ≤ 0.01; *** p ≤ 0.001; **** p ≤ 0.0001.

391x120mm (300 x 300 DPI)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25



(A) IL-17 + TNF-α distinguishing carious lesions (CL) from healthy controls (H) (AUC = 0.9013). (B) IL-17 + IL-1β distinguishing CL from gingival inflammation (GI) (AUC = 0.7336). (C) IL-17 + TNF-α + IL-1β distinguishing CL from the combined H + GI group (AUC = 0.7978). The diagonal line represents the performance of a random classifier.

441x149mm (300 x 300 DPI)

Ultrasensitive Multiplex Salivary Cytokine Profiling in Dental Caries

M. Dubois^{1,2}, M. Ortis¹, L. Tonoyan¹, E. Dubois², M-F. Bertrand^{1,2}, A. Doglio^{1,3}

¹ MICORALIS, Faculté de Chirurgie Dentaire, Université Côte D'Azur, France.

² Institut de Médecine Bucco-Dentaire, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, Nice, France.

³ Unité de Thérapie Cellulaire et Génique, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, Nice, France.

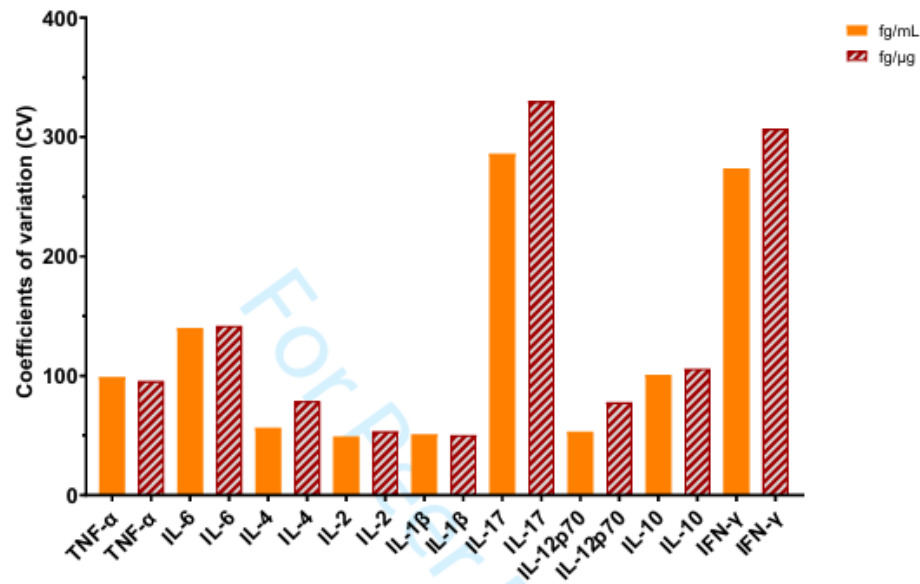
Appendix Table 1: Goodness-of-fit statistics for 4-parameter logistic (4PL) curve fitting of cytokine standard curves. The 4PL algorithm was performed by the Discovery Workbench 4.0 Analysis Software, using

$y = D + \frac{A-D}{1+(\frac{x}{C})^B}$, where A is the bottom, B is the hill slope, C is the midpoint and D is the top. R² indicates the quality of the fit.

Cytokine	Plate ¹	R ²	Parameter A (Bottom)	Parameter B (Slope)	Parameter C (EC50)	Parameter D (Top)
IFN- γ	1	0.999	499	0.976	741874	7216499
	2	0.998	414	0.996	48454847	387013377
IL-10	1	0.999	521	1.02	232932	1192629
	2	0.999	547	0.897	1043239	3030172
IL-12	1	0.999	386	0.993	843495	1835441
	2	0.999	405	0.910	3967565	5009908
IL-17	1	0.999	529	0.990	623936	2951849
	2	0.999	530	0.928	6189588	15856299
IL-1 β	1	0.999	705	0.965	21263608	67958418
	2	0.999	726	0.958	229810667	594953804
IL-2	1	0.999	504	0.959	236285485	817376633
	2	0.999	530	0.941	169165750	529613252
IL-4	1	0.999	354	0.922	448869	2807238
	2	0.999	388	0.877	55502681	150608993
IL-6	1	0.999	497	0.974	144251664	1022821536
	2	0.999	676	0.955	54346956	368542649
TNF- α	1	0.999	448	0.961	38930496	194864958
	2	0.999	466	0.963	60960928	280963532

¹ The plate 1 corresponds to the barcode 2B0AQAB995, the plate 2 corresponds to the barcode 2B0AQU996

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



Appendix Figure 1. Inter-individual variability of salivary cytokine measurements compared across different normalization strategies. Coefficients of variation (CV, %) were calculated for each cytokine across 79 individuals using either volume-normalized concentrations (fg/mL of whole saliva, orange) or protein-normalized concentrations (fg/μg of total salivary protein, red, striped). Normalization by saliva volume yielded lower or comparable variability for all cytokines, supporting its use as a more robust and physiologically relevant approach in mucosal immunoassays.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

STROBE Statement—Checklist of items that should be included in reports of *case-control studies*

	Item No	Recommendation	Reported on manuscript page
Title and abstract	1	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract	1
		(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found	1
Introduction			
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	3
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	4
Methods			
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper	4
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	4
Participants	6	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of case ascertainment and control selection. Give the rationale for the choice of cases and controls	4
		(b) For matched studies, give matching criteria and the number of controls per case	n/a
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	5
Data sources/measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group	5,6
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias	5
Study size	10	Explain how the study size was arrived at	n/a
Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	5,6
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding	6
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions	6
		(c) Explain how missing data were addressed	n/a
		(d) If applicable, explain how matching of cases and controls was addressed	n/a
		(e) Describe any sensitivity analyses	n/a
Results			
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed	7
		(b) Give reasons for non-participation at each stage	7
		(c) Consider use of a flow diagram	n/a
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic,	7

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

		clinical, social) and information on exposures and potential confounders	
		(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest	n/a
Outcome data	15*	Report numbers in each exposure category, or summary measures of exposure	Table 1
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included	7-9
		(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized	n/a
		(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period	n/a
Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses	7-9
Discussion			
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives	9-11
Limitations	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias	10
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence	12
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results	12
Other information			
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based	13

*Give information separately for cases and controls.

n/a = not applicable

Note: An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at <http://www.strobe-statement.org>.

III-3. Discussion et perspectives

III-3.1 Relevance biologique de la technologie S-PLEX® dans la quantification des cytokines salivaires

Le premier objectif de ce travail était de valider une nouvelle technologie de dosage des cytokines salivaires basée sur un test ultrasensible multiplexé. Des études antérieures ont validé cette technique, dans le plasma et le sérum de patient. L'étude de Stockdale et al., 2025, valide l'utilisation des kits MSD pour mesurer des IgG spécifiques dans le cadre d'essais vaccinaux humains. De même, l'étude de Shengule et al., 2024, valide l'utilisation d'un multiplex MSD pour différentes cibles (sérologie, neutralisation) dans le contexte SARS-CoV-2 / infections virales. Le kit S-PLEX® est une déclinaison ultra-sensible de la technologie avec des limites de détection jusqu'à 1000 fois plus basses que les kits classiques, donc très utilisée dans les études cliniques de biomarqueurs rares ou faiblement exprimés. Des études ont montré sa validation dans le plasma et le sérum (Kivisäkk et al., 2023; Lippi et al., 2022). Au niveau oral, les études choisissent préférentiellement des techniques classiques d'ELISA (Enver et al., 2022; Y. Zhang et al., 2021).

Notre démarche propose une détection simultanée, robuste et reproductible de plusieurs cytokines, chacune détectée à un niveau de sensibilité jamais auparavant étudié. Mis à part IL1-B dont les concentrations salivaires élevées sont aisément détectables avec la plupart des immunoessais disponibles, notamment colorimétriques, d'autres cytokines, tout aussi pertinentes sont présentes à des concentrations très faibles dans la salive (Dongiovanni et al., 2023). Actuellement, des stratégies ultrasensibles, basées par exemple sur l'amplification de l'émission de photons, permettent de couvrir un large panel de cytokines même minoritaires (Platchek et al., 2020). Ces raisons ont conduit notre démarche et justifie le choix fait de ce kit.

La discussion qui suit aborde quelques points clé relatifs à des aspects techniques, biologiques et médicaux en rapport avec mon travail de thèse concernant la détection des cytokines salivaires par MSD S-PLEX®

III-3.2 Sensibilité et plage dynamique de dosage

Dans notre article, afin d'assurer la reproductibilité des manipulations, l'ensemble des tests provenait du même lot (n° de série : 13001804271110), garantissant ainsi l'homogénéité de la courbe d'étalonnage et la comparabilité entre les plaques.

Pour chaque plaque, la courbe d'étalonnage a été évaluée et validée selon des critères prédéfinis. La sensibilité a été évaluée sur la base de la limite de détection inférieure calculée (Calc. Low), confirmant la capacité du système à détecter et à quantifier de faibles concentrations d'analyte. La plage dynamique, s'étendant sur quatre échelles logarithmiques (10^4), a démontré la capacité du test à mesurer avec précision une large gamme de concentrations. La linéarité a été évaluée à l'aide du coefficient de détermination (R^2), les valeurs proches de 1 indiquant une forte relation linéaire entre les valeurs observées et les valeurs attendues. Tous les échantillons ont été analysés en duplicats. Les coefficients de variation (CV) obtenus entre duplicats étaient excellents, ce qui suggère que, dans un contexte de contraintes budgétaires, un dosage en simple mesure pourrait être envisagé. Toutefois, d'un point de vue scientifique, la réalisation de duplicats reste préférable afin de renforcer la fiabilité des données. Tous les échantillons ont été détectés avec le panel de cytokines pro-inflammatoires S-PLEX®. Cependant, deux échantillons ont dépassé la limite supérieure de quantification de $1,70 \times 10^5$ pour l'IL-1 β (Figure

34). Dans la perspective de futurs travaux, il serait plus pertinent d'analyser cette cytokine séparément sur des plaques spécifiques ayant une sensibilité de détection au pg/mL. Cela permettrait d'obtenir des valeurs exploitables dans la plage dynamique de la technologie, évitant ainsi les phénomènes de saturation sur certains échantillons. Une autre alternative méthodologique consisterait à diluer les échantillons. Cependant, cette stratégie risquerait de compromettre la détection d'autres cytokines dont le signal se situe à des niveaux plus faibles en raison des contraintes inhérentes à l'approche multiplexée.

Tous les tests ont démontré de solides performances en termes de sensibilité, de reproductibilité et de plage dynamique. La technologie MSD s'est avérée très adaptée à ce type d'analyse. Il convient de noter que malgré la viscosité élevée des échantillons de salive, les tests ont conservé une excellente reproductibilité, un facteur essentiel pour garantir une acquisition de données précise et fiable dans les études sur les biomarqueurs salivaires.

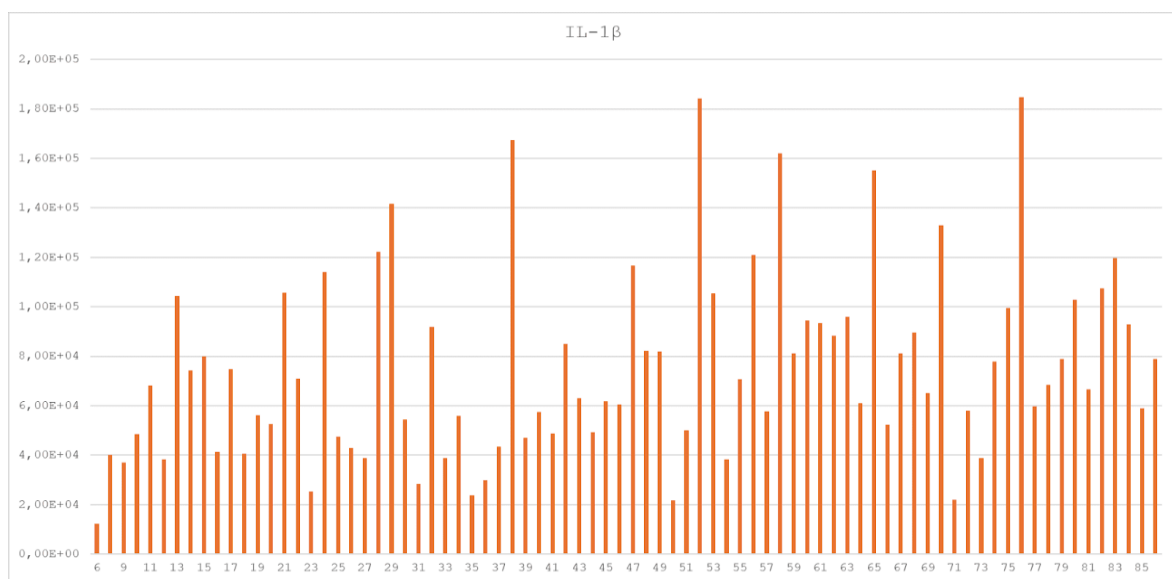


FIGURE 34 : CONCENTRATION DE L'IL-1B POUR L'ENSEMBLE DES ÉCHANTILLONS

III-3.3 Choix de la normalisation des données : par volume salivaire ou par teneur en protéines totales ?

La question du choix de la normalisation des données entre elles pour leur exploitation et leur comparaison est cruciale. La valeur brute des cytokines salivaires peut être rapportée selon deux modes complémentaires, chacun possédant des avantages et des inconvénients.

La normalisation par volume de salive (fg/mL) est la manière classique et la plus utilisée pour présenter ce type de résultats. Cette expression reflète la concentration absolue de cytokines dans l'échantillon salivaire. C'est une façon simple et directe d'exprimer les résultats et certainement biologiquement très pertinente dans la mesure où l'activité des cytokines est principalement dépendante de leur concentration sur leur site d'action.

Cependant, la concentration des cytokines salivaires est fortement influencée par des facteurs tels que le débit salivaire. Le débit salivaire dépend notamment de variables tels que l'hydratation, le stress,

l'heure de prélèvement ou la méthode de collection (Chiappelli et al., 2006). Ces variations, dues à des modifications physiologiques, peuvent masquer des variations réelles pathologiques de la réponse immunitaire ou inflammatoire.

L'expression normalisée par rapport aux taux de protéines totales (fg/ μ g) a pour but de compenser les variations en rapportant la concentration en cytokines à une mesure de la densité protéique de l'échantillon. Cette méthode vise à faciliter la comparaison inter- et intra-individuelle. L'approche par volume est donc sensible aux conditions physiologiques ou techniques susceptibles de modifier le volume salivaire, elle peut donner des résultats biaisés si ces variations ne sont pas contrôlées. La normalisation par le taux de protéines totales repose sur l'hypothèse que la concentration en protéines totales salivaires est stable et constitue un indicateur fiable. Toutefois, cette concentration peut elle-même être modifiée par des états physiopathologiques (infection, inflammation buccale, composition glandulaire variable) ou des conditions de prélèvement. Les deux modes d'expression normalisés apparaissent donc pertinents et se révèlent complémentaires. La mesure du débit salivaire (mL/min) serait intéressante afin d'avoir un contrôle additionnel.

Dans notre étude, afin d'évaluer l'impact de la stratégie de normalisation sur les performances analytiques des mesures des cytokines salivaires, nous avons comparé les concentrations exprimées par μ g de protéines salivaires et par mL de salive totale. Pour chaque cytokine, le CV a été calculé sur l'ensemble de la population étudiée. La quantification par volume de salive a systématiquement donné des valeurs de CV inférieures ou comparables, indiquant une dispersion interindividuelle réduite et une robustesse accrue des données. Sur la base de ces résultats, nous avons choisi la normalisation basée sur le volume (fg/mL) pour toutes les analyses de l'article (Annexe de l'article). Cependant, afin d'exploiter en totalité les résultats, les analyses statistiques en fg/ μ g (donnée normalisée par rapport au taux de protéines totales) ont été réalisées.

3.2.1 Analyses univariées des données en fg/ μ g

Les résultats présentés dans cette section ne figurent pas dans l'article présenté précédemment. Ils proviennent d'une analyse complémentaire où les concentrations salivaires ont été rapportées à la quantité totale de protéines (fg/ μ g). Cette approche est présentée en parallèle des résultats exprimés en concentration absolue (fg/mL), afin de comparer les deux méthodes et d'évaluer la robustesse des signatures cytokiniques selon le mode de normalisation.

Méthodologie statistique : Les données relatives aux cytokines salivaires ont été transformées en \log_{10} et normalisées en z-score (valeur de l'écart d'une donnée à la moyenne divisée par l'écart-type des données) avant analyse. La signification des combinaisons de cytokines simples, doubles et triples a été évaluée à l'aide du test non paramétrique U de Mann-Whitney pour les comparaisons suivantes : CL vs H, CL vs GI et CL vs contrôles combinés (H + GI). En raison également de la taille limitée de l'échantillon et de la nature hypothétique de l'analyse, aucune correction pour les tests multiples n'a été appliquée. Toutes les valeurs p rapportées sont non ajustées.

Le filtrage des valeurs aberrantes a été appliqué exclusivement au groupe sain à l'aide de la méthode de Tukey (valeurs en dehors de $Q1 - 1,5 \times IQR$ ou $Q3 + 1,5 \times IQR$), en supposant que les valeurs extrêmes dans la salive saine résultent probablement d'un bruit technique ou d'une variation aléatoire, tout en conservant la variabilité pathologique dans les groupes CL et GI. Au total, 20 valeurs de cytokines (7,4 % des 270 points de données) ont été identifiées comme des valeurs aberrantes et définies comme manquantes, ce qui a permis de conserver toutes les données des patients pour l'analyse.

Résultats cytokiniques : L'analyse statistique a identifié l'IL-1 β comme la seule cytokine significativement élevée dans le groupe CL par rapport aux groupes H et CL + GI ($p < 0,05$). Les signatures combinant deux cytokines ont amélioré la discrimination, en particulier IL-1 β + IL-17. Cette combinaison a permis de distinguer significativement le groupe CL de tous les groupes de comparaison ($p < 0,05$) (Figure 35). Afin d'évaluer si cette association de cytokines pouvait être renforcée, neuf combinaisons ajoutant une cytokine à IL-1 β + IL-17 ont été testées. Seule l'IL-6 a conservé une signification statistique par rapport à H et H+GI lorsqu'elle a été ajoutée, mais sans améliorer le pouvoir discriminant de la signature IL-1 β + IL-17 (Figure 35).

Le tableau 4 présente les combinaisons donnant des différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) entre les groupes. La distribution des valeurs (Figure 35) confirme que la signature IL-1 β + IL-17 est particulièrement spécifique du groupe CL, suggérant l'implication conjointe des voies innées (IL-1 β) et Th17 (IL-17) dans l'immunopathologie carieuse.

TABLEAU 4 : SIGNATURES CYTOKINES PERMETTANT DE DISTINGUER LES LÉSIONS CARIEUSES (CL) DES TÉMOINS SAINS (H), DE L'INFLAMMATION GINGIVALE (GI) ET DES TÉMOINS COMBINÉS (H + GI) EN FG/MG À L'AIDE DU TEST DE MANN-WHITNEY.

Cytokine Signature ¹	CL vs H ² fg/ μ g	CL vs GI ² fg/ μ g	CL vs H+GI ² fg/ μ g	CL vs H ² fg/mL	CL vs GI ² fg/mL	CL vs H+GI ² fg/mL
IL-1β	0,022	<i>n.s.</i>	0,016	<i>n.s.</i>	0,0344	0,026
TNF- α	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<0,001	<i>n.s.</i>	0,0008
IL-17	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	0,026	<i>n.s.</i>	0,03
IL-6	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	0,005	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>
IL-1β + IL-17	0,008	0,033	0,005	0,007	0,015	0,007
IL-1 β + IL-10	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	0,0387	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	0,048
IL-1 β + IFN- γ	<i>n.s.</i>	0,0496	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	0,03	0,0473
IL-1 β + TNF- α	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<0,0001	<i>n.s.</i>	0,0005
IL-1 β + IL-2	0,0273	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	0,0384	0,0310
IL-1 β + IL-6	0,0197	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>
IL-17 + TNF- α	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<0,001	<i>n.s.</i>	0,0002
IL-1 β + IL-17 + IL-6	0,0078	<i>n.s.</i>	0,0139	<i>n.s.</i>	0,0487	<i>n.s.</i>
IL-1 β + IL-17 + IL-2	0,0117	<i>n.s.</i>	0,0100	0,0200	0,0410	0,0120
IL-1 β + IL-17 + IL-4	0,0429	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	0,00318	0,0314	0,0149
IL-1 β + IL-17 + IFN- γ	0,0466	0,0344	0,0209	<i>n.s.</i>	0,05	0,05
IL-17 + TNF- α + IL1 β	<i>n.s.</i>	0,0447	0,0257	<0,0001	<i>n.s.</i>	0,0004
IL-12p70 + IL-17 + TNF- α	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	0,0012	<i>n.s.</i>	0,007

¹ les signatures cytokines présentant au moins une comparaison significative ($p < 0,05$) sont indiquées dans ce tableau.

² Les valeurs p ont été calculées à l'aide du test U de Mann-Whitney sur des cytokines transformées en $\log_{10}(x+1)$ et normalisées par score z . n.s. = non significatif

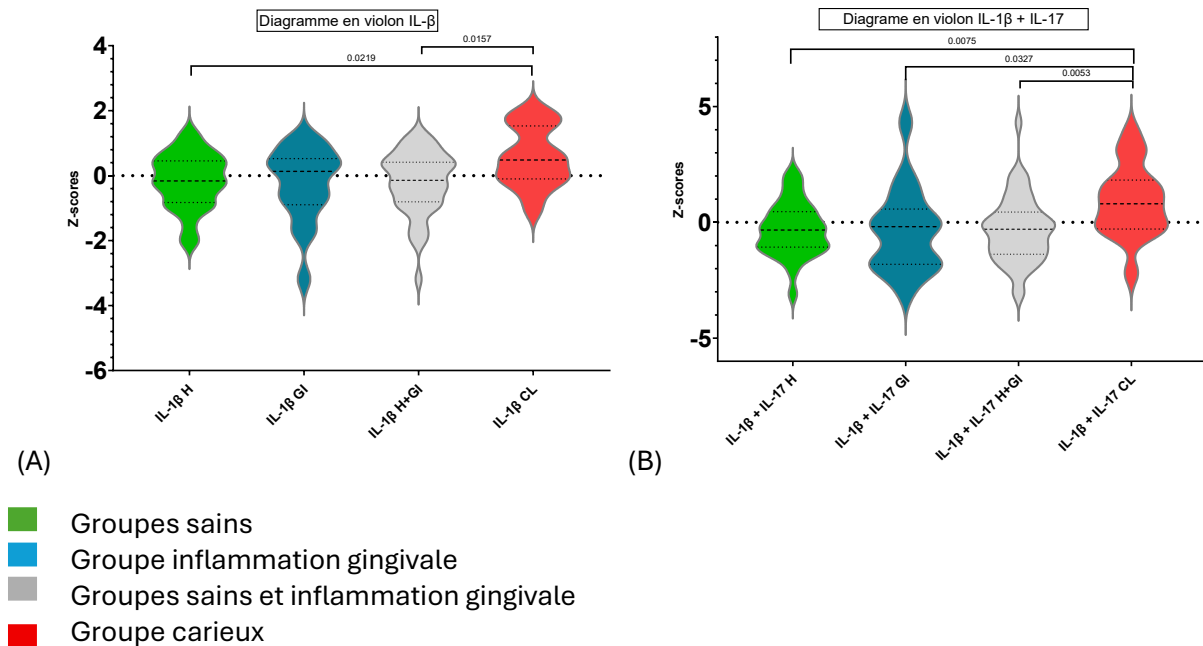


FIGURE 35 : RÉPARTITION DES SCORES DE SIGNATURE DES CYTOKINES SALIVAIRES CHEZ LES PATIENTS PRÉSENTANT DES LÉSIONS CARIEUSES (CL) PAR RAPPORT AUX TÉMOINS (H) ET AUX TÉMOINS COMBINÉS (H+GI) EN FG/MG.

Chaque diagramme en violon représente la valeur composite normalisée par le score z et transformée en $\log_{10}(x+1)$ des signatures de cytokines précédemment identifiées comme significatives.

Le groupe CL montre systématiquement un déplacement vers des valeurs plus élevées, en particulier pour la signature IL-1β + IL-17, ce qui indique sa spécificité dans l'inflammation liée aux caries.

3.2.2 Évaluation de la précision diagnostique par courbes ROC

L'évaluation des performances diagnostiques a été réalisée par régression logistique et analyse ROC (Figure 36).

- En fg/μg (normalisation protéique), la signature IL-1β + IL-17 a montré des AUC de 0,7362 ($p = 0,0073$), 0,71 ($p = 0,036$) et 0,73 ($p = 0,006$) pour CL vs H, CL vs GI et CL vs H + GI, respectivement
- En fg/mL (concentrations absolues), des résultats similaires ont été obtenus (AUC de 0,7381 ($p = 0,0068$), 0,736651 ($p = 0,004$) et 0,7336 ($p = 0,0201$) pour CL vs H, CL vs GI et CL vs H + GI

Ainsi, le mode de normalisation n'a pas modifié les conclusions principales : la combinaison IL-1β + IL-17 reste la signature la plus robuste, avec une précision diagnostique modérée mais retrouvée dans les deux approches. L'ajout d'IL-6 n'a pas amélioré la performance, ce qui conforte l'intérêt d'un panel minimal de deux cytokines pour des applications futures.

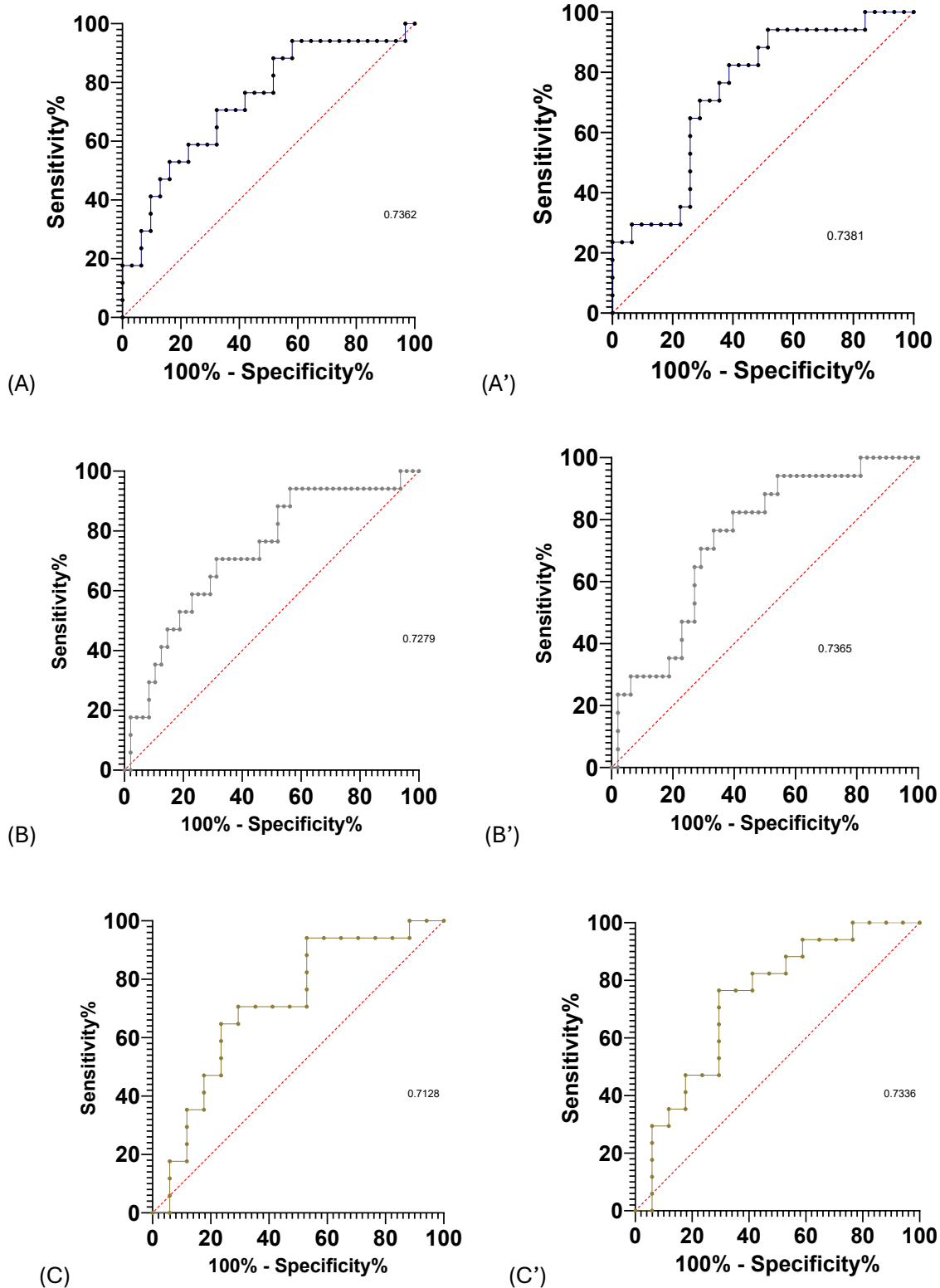


FIGURE 36 : COURBES ROC DE LA COMBINAISON IL-1B + IL-17 POUR LA DISCRIMINATION ENTRE GROUPES

- (A) : sujets avec lésions carieuses (CL) vs témoins sains (H), avec une expression en fg/ μ g (AUC = 0,7362) et (A') en fg/mL (AUC = 0,7381).
 (B) : CL vs témoins combinés (H + GI), en fg/ μ g (AUC = 0,7279) et (B') en fg/mL (AUC = 0,7365).
 (C) : CL vs gingivite (GI), en fg/ μ g (AUC = 0,7128) et (C') en fg/mL (AUC = 0,7336).

Pris dans leur ensemble, ces analyses montrent que les profils cytokiniques salivaires permettent de distinguer non seulement l'état sain de la maladie, mais également les différentes pathologies orales, en particulier la carie par rapport à la gingivite. Parmi les combinaisons testées, la signature IL-1 β + IL-17 apparaît comme le marqueur le plus robuste, et ce indépendamment du mode d'expression des données (normalisation par protéine en fg/ μ g ou concentration absolue en fg/mL). Dans l'ensemble, les deux approches analytiques (fg/ μ g et fg/mL) donnent des résultats cohérents, confirmant la robustesse de cette signature, même si certaines cytokines émergent spécifiquement dans un mode d'analyse.

3.2.3 Discussion du choix de la normalisation

Les résultats soulignent le potentiel diagnostique du profilage immunitaire salivaire dans la détection des caries. Parmi les cytokines évaluées, considérée individuellement IL-1 β apparaît comme étant la cytokine la plus discriminante de l'inflammation liée aux lésions carieuses dans l'analyse normalisée selon les taux de protéine totales (exprimé en fg/ μ g). IL-1 β distingue principalement les états carieux et de santé. Cela semble concorder avec son rôle bien établi dans l'immunité pulpaire, où elle est produite par les odontoblastes activés et les cellules immunitaires résidentes en réponse à une invasion microbienne. L'IL-1 β stimule l'activation de l'inflammasome, le recrutement des neutrophiles et l'amplification des réponses immunitaires locales.

Récemment, un nouveau mécanisme immunitaire a été décrit dans le tissu pulpaire : l'inflammasome NLRP3. Bien que l'axe IL-17–pyroptose soit largement caractérisé dans d'autres tissus, son implication dans l'inflammation orale reste encore imparfaitement élucidée. Des données récentes suggèrent toutefois que l'IL-17 pourrait moduler indirectement les voies pyroptotiques en intensifiant les réponses inflammatoires locales (Al Natour et al., 2023).

Par ailleurs, des études *in vivo* ont montré que la neutralisation de l'IL-1 β dans des modèles murins entraînait une augmentation de la charge bactérienne et des lésions tissulaires périapicales plus graves (Tazawa et al., 2022).

Les approches impliquant des combinaisons de cytokines démontrent que l'association IL-1 β /IL-17 est le biomarqueur le plus robuste et le plus constant et ce quel que soit le mode d'expression. L'IL-17, une cytokine produite par les cellules Th17, contribue à la défense des muqueuses en favorisant le recrutement des neutrophiles et en renforçant les réponses de la barrière épithéliale. Cette signature met en avant le rôle prépondérant de l'axe Th17 dans l'immunopathologie carieuse. Des taux élevés d'IL-17 ont été observés dans la dentine cariée et les tissus pulpaires enflammés, ce qui suggère sa participation active dans la réponse immunitaire aux bactéries cariogènes. Une étude récente menée chez des adolescents a révélé des concentrations salivaires d'IL-17A significativement plus élevées chez ceux présentant des caries actives, ce qui confirme son rôle potentiel en tant que biomarqueur (Karched et al., 2025). Des résultats similaires ont été rapportés chez les femmes adultes, où les niveaux d'IL-17 étaient corrélés à l'expérience des caries (Khalaf et al., 2025). Ces études corroborent notre identification de la dyade IL-1 β + IL-17 comme une combinaison de marqueurs biologiquement pertinente et cliniquement informative. Des tests exploratoires de signatures trivariées centrées sur cette dyade ont révélé que l'ajout de l'IL-6 maintenait la signification statistique, mais n'améliorait pas davantage le pouvoir discriminatoire, soulignant la valeur des panels de biomarqueurs parcimonieux.

À l'inverse, certaines cytokines telles que le TNF- α et l'IL-6 deviennent significatives uniquement en concentration absolue (fg/mL), principalement dans les comparaisons entre patients carieux et témoins sains, mais pas avec le groupe d'inflammation gingivale. Ces marqueurs traduisent donc moins une spécificité carieuse qu'une augmentation globale de l'inflammation salivaire. De même, l'IFN- γ et l'IL-

IL-12p70 n'apparaissent que dans certaines combinaisons significatives, reflétant des profils plus diffus et poly-cytokiniques. L'ensemble de ces observations suggère que l'inflammation gingivale correspond à une activation immunitaire plus large et systémique, mobilisant plusieurs médiateurs pro-inflammatoires, en contraste avec l'inflammation carieuse, plus ciblée et localisée (Figure 37). D'un point de vue translationnel, la capacité à distinguer l'inflammation liée aux lésions carieuses des conditions inflammatoires saines et non carieuses à l'aide de signatures cytokines ciblées, est très prometteuse. La dyade IL-1 β + IL-17, en particulier, apparaît comme un candidat solide pour la détection non invasive et l'évaluation des risques de caries.

Enfin, les divergences observées entre fg/mL et fg/ μ g révèlent l'intérêt d'interpréter les données salivaires en tenant compte à la fois des concentrations absolues et de la normalisation. Ces deux analyses mettent en lumière des dimensions complémentaires de la réponse immunitaire et des pathologies orales. Effectivement, elles permettent de donner un éclairage susceptible de rendre compte de la divergence physiopathologique entre la lésion carieuse et l'inflammation gingivale. En effet, la lésion carieuse précoce est associée à une inflammation focalisée et localisée, qui fait essentiellement appel à l'IL-1 β et à l'IL-17. Cette combinaison se révèle bien plus nettement lorsqu'elle est normalisée en fonction des protéines totales salivaires. Cette observation laisse supposer que la réponse carieuse est confinée à l'interface biofilm-émail, sans modification significative de la composition salivaire totale.

L'expression en fg/mL révèle l'empreinte plus diffuse et poly-cytokinique de l'inflammation gingivale, associée à l'exsudation et à la mobilisation cellulaire.

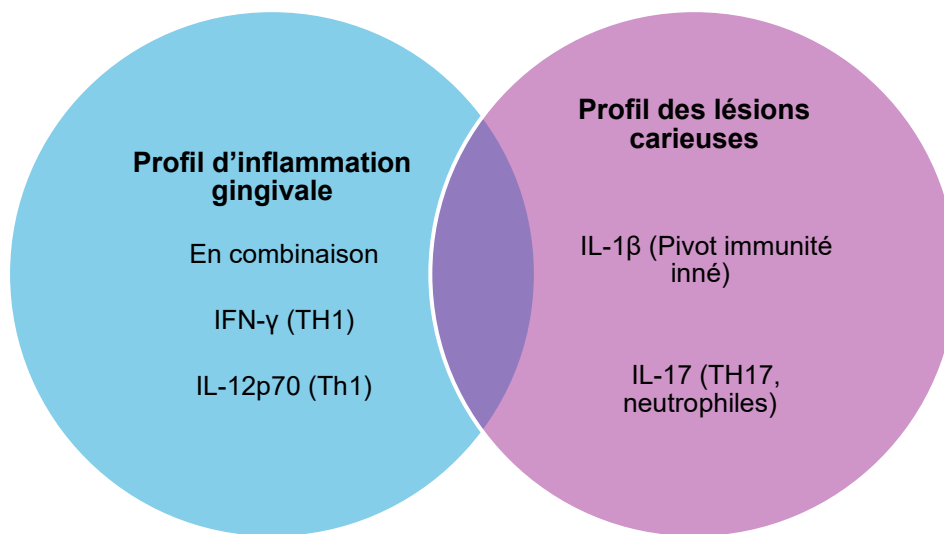


FIGURE 37 : SIGNATURES DISCRIMINANTES DE L'INFLAMMATION GINGIVALE ET DES LÉSIONS CARIEUSES DANS L'ÉTUDE

Les lésions carieuses se distinguent par une réponse centrée sur l'IL-1 β et l'IL-17, dont la combinaison apparaît comme la signature la plus spécifique et reproductible de la maladie. À l'inverse, le profil d'inflammation gingival se caractérise par des combinaisons traduisant une inflammation plus diffuse et poly-cytokinique.

III-3.4 Limites de l'étude

Dans l'ensemble, ces signatures composites, associant 2 ou 3 cytokines, renforcent l'idée que les cytokines salivaires n'agissent pas comme des indicateurs isolés, mais plutôt comme des empreintes combinatoires reflétant l'intensité, la chronicité et le profil cellulaire de l'inflammation orale. Cette gradation de l'activation immunitaire s'inscrit dans le continuum physiopathologique allant de la colonisation du biofilm à la dysrégulation de l'interaction hôte-microbiote.

Bien que ces modèles fournissent des résultats préliminaires encourageants, plusieurs limites doivent être soulignées. La taille de l'échantillon demeure restreinte, en particulier pour des analyses multivariées, et les observations se limitent à une cohorte homogène de jeunes adultes en bonne santé. Ce profil réduit la variabilité interindividuelle mais limite en contrepartie la généralisation des résultats à des populations plus larges, incluant par exemple des sujets plus âgés, présentant des comorbidités ou des pathologies générales. Par ailleurs, si la régression logistique présente l'avantage d'une interprétation aisée, elle ne permet pas de capturer les interactions potentielles entre cytokines ni les dynamiques non linéaires. Des travaux futurs devraient explorer des approches basées sur des modèles d'apprentissage automatique avancés, et valider ces signatures candidates dans des populations plus larges et plus diversifiées. En complément, des recherches supplémentaires devraient intégrer des paramètres cliniques plus précis. Effectivement, dans cette étude une autre limitation majeure réside dans le nombre de participants qui ne permettent pas de stratifier les lésions carieuses selon le degré de sévérité (initiale, modérée ou sévère). Or, cette stratification est essentielle car l'évolution de la lésion conditionne fortement la nature et l'intensité des réponses immunitaires.

Dans les formes précoces, la réponse est souvent localisée sous avec une activation modérée du système immunitaire inné (recrutement limité de neutrophiles, sécrétion précoce de cytokines pro-inflammatoires). Les lésions plus avancées engendrent une réponse plus massive réunissant aussi bien l'immunité innée que l'immunité adaptative, ainsi qu'une infiltration plus importante des cellules inflammatoires (macrophages, lymphocytes T et B), une libération considérablement plus importante de cytokines (IL-1 β , TNF- α , IL-6) et une perturbation plus importante encore du microenvironnement pulpo-dentinaire ainsi que de la dentine affectée. La non-stratification par degré de sévérité des résultats empêchent d'identifier des différences de profils immunitaires selon le stade de sévérité de la lésion carieuse. Cette limitation restreint également la transposabilité des données à la clinique.

Une autre limitation de notre recherche concerne l'outil de quantification utilisé. La technologie MSD possède de nombreux atouts, notamment une sensibilité analytique extrêmement élevée, mais également des inconvénients. La principale difficulté réside dans le coût élevé des réactifs : les kits S-PLEX[®], sont particulièrement onéreux. Bien que ce coût puisse être partiellement compensé par une meilleure sensibilité et une capacité de détection multiplexée à celle des techniques ELISA classiques, leur acquisition et leur utilisation représentent un frein important à une exploitation systématique et exhaustive des cytokines salivaires. Dans notre étude, l'IL-8, cytokine majeure de l'immunité orale, n'a pas pu être analysée car elle n'était pas incluse dans le kit utilisé. En effet, l'IL-8 ne fait pas partie de la gamme S-PLEX[®], dont la sensibilité est de l'ordre du fg/mL, alors que sa détection repose généralement sur une gamme de l'ordre du pg/mL. Elle ne peut donc pas être intégrée directement au kit. Son analyse aurait nécessité l'ajout d'un test distinct, qui rajoute un coût financier non négligeable. Cela a limité son exploitation dans notre protocole.

III-3.5 Perspective de l'étude

III-3.5.1 Axes d'amélioration

Les recherches à venir devront valider ces signatures au sein de populations plus larges et hétérogènes, ainsi que mettre en œuvre un échantillonnage longitudinal dans le but de saisir les dynamiques de la maladie. L'objectif final reste de permettre le développement d'outils diagnostiques non invasifs, rapides et multiplexables pour la détection précoce des lésions carieuses et la stratification des risques.

En effet, une perspective majeure de cette étude serait d'intégrer la quantification des cytokines avec l'analyse du microbiote. Le microbiote est à l'origine de la dysbiose carieuse. Son association avec la compréhension des marqueurs inflammatoire pourrait permettre d'obtenir une vision globale de la situation orale.

Par ailleurs, l'ajout d'un objectif de recherche de phénomènes physiopathologiques, tels que les modèles d'activation de l'inflammasome, paraît également pertinent pour approfondir la compréhension des mécanismes inflammatoires dans les maladies orales et favoriser le développement de stratégies diagnostiques et thérapeutiques plus ciblées. L'étude récente de Gu et al., 2025, montre que le blocage de la pyroptose par une nouvelle procédure opératoire locale pourrait permettre de prévenir l'évolution vers une pulpite irréversible lors d'une thérapeutique de conservation de la vitalité pulpaire. En effet, l'étude a montré que des hydrogels composites associés aux médicaments ciblant la pyroptose pourraient être utilisés comme agents de coiffage pulpaire.

III-3.5.2 Calcul d'effectif pour une étude de plus grande ampleur

L'objectif principal d'une étude de plus grande ampleur serait d'évaluer la performance diagnostique de notre panel de 9 cytokines salivaires (IFN- γ , IL-10, IL-12p70, IL-17, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α) afin de discriminer les sujets présentant des lésions carieuses de ceux sans carie.

L'estimation de la taille des effectifs peut être déjà réalisée à partir des données pilotes obtenues au cours de notre étude. Pour chaque cytokine, nous avons estimé la différence de moyenne standardisée entre les groupes et la performance diagnostique (aire sous la courbe AUC, ROC). Ces valeurs fournissent les paramètres nécessaires pour un calcul de puissance dans le cadre de comparaisons entre groupes indépendants.

L'analyse porte sur 9 cytokines testées simultanément. Pour éviter d'augmenter artificiellement le risque de fausse découverte (contrôle de l'erreur α), nous avons appliqué une correction Benjamini-Hochberg (BH). Cette méthode est plus permissive que Bonferroni et mieux adaptée à une approche par panel de biomarqueurs. Le niveau de signification effectif associé à la correction BH a été estimé à $\alpha \approx 0,159$, ce qui correspond à l' α ajusté attendu pour un ensemble de 9 tests avec un seuil global à 0,05.

Afin de refléter l'importance clinique relative des biomarqueurs, nous avons pondéré les calculs de taille d'échantillon. Chaque cytokine a reçu un poids proportionnel à son AUC – 0,5 (écart au hasard).

Les cytokines IL-1 β et IL-17, dont la combinaison a montré dans la littérature et notre étude pilote une signature diagnostique robuste (AUC $\approx 0,73$ sur plusieurs comparaisons), ont été surpondérées par un facteur 1,5. Pour chaque cytokine, la taille nécessaire par groupe a été recalculée (90 % de puissance) en utilisant l' α corrigé BH (Tableau 5). Pour 90 % de puissance, la moyenne pondérée est de 164 sujets par groupe (Figure 38).

TABLEAU 5 : ANALYSE ROC DES CYTOKINES ET DÉTERMINATION DES EFFECTIFS POUR LA COMPARAISON DES GROUPES

Cytokine	AUC (ROC carie vs non)	n/groupe (90%, alpha-BH)
IFN- γ	0,56016	115
IL-10	0,586898	59
IL-12p70	0,514393	1145
IL-17	0,647059	497
IL-1 β	0,682598	36
IL-2	0,599265	84
IL-4	0,505632	1393
IL-6	0,771242	20
TNF- α	0,378342	84

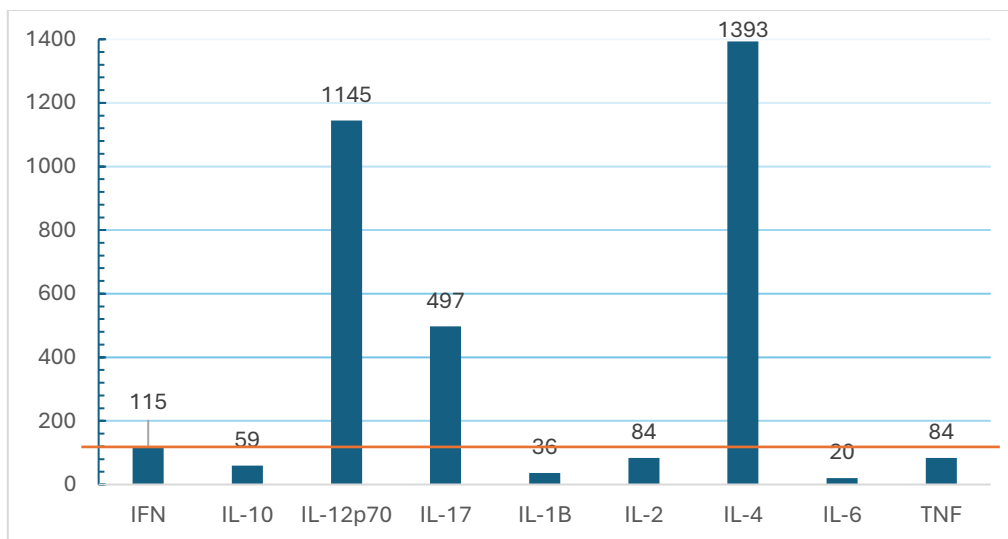


FIGURE 38 : EFFECTIFS REQUIS PAR CYTOKINE POUR ASSURER LA COMPARAISON DES GROUPES

En intégrant à la fois la correction statistique pour comparaisons multiples (BH) et une pondération clinique basée sur l'AUC et la pertinence biologique (IL-1 β et IL-17), nous estimons que l'étude nécessitera 165 sujets par groupe pour une puissance statistique à 90%. Ce choix assure un compromis entre la rigueur statistique et la faisabilité, tout en donnant plus de poids aux cytokines les plus pertinentes pour la signature diagnostique recherchée.

Conclusion générale

Cette recherche doctorale met en lumière le potentiel du profilage des cytokines salivaires comme outil diagnostique non invasif permettant de distinguer les états physiologiques des conditions inflammatoires orales, et en particulier de la maladie carieuse. À ce jour, le kit S-PLEX® n'avait jamais été utilisé pour la détection des cytokines dans la salive. Dans ce travail, toutes les cytokines ciblées ont pu être détectées avec succès, avec une haute sensibilité et une large plage dynamique, ce qui valide la faisabilité technique de cette approche.

Ce projet a également exploré l'impact de l'activité physique sur l'immunité salivaire. Les résultats obtenus indiquent qu'IL-17 possède un rôle central dans les modifications immunitaires associées au sport d'endurance. Son augmentation chez les sportifs, indépendamment de l'intensité de pratique, souligne son intérêt comme biomarqueur transversal. Les synergies observées avec IL-6 et le TNF- α traduisent une interaction entre réponses muqueuses locales et médiateurs myokiniques systémiques. Néanmoins, l'interprétation de ces résultats reste limitée par le caractère pléiotrope des cytokines, souvent identifiées comme significatives dans des contextes cliniques très variés. Cette redondance complique l'attribution d'une valeur diagnostique spécifique et souligne la nécessité d'analyses intégratives et multiparamétriques pour affiner leur interprétation.

Sur le plan clinique, l'analyse des données met en évidence que les lésions carieuses s'accompagnent d'une empreinte immunitaire locale spécifique, dominée par l'association IL-1 β et IL-17. Cette dyade apparaît comme le biomarqueur le plus robuste et le plus cohérent sur le plan biologique dans notre étude. Elle reflète une activation ciblée et conjointe de l'immunité innée et adaptative, impliquant l'inflammasome NLRP3 et l'axe Th17. De plus, elle se distingue nettement du profil observé dans l'inflammation gingivale, marqué par une activation plus diffuse et poly-cytokinique (TNF- α , IL-6, IFN- γ , IL-12p70). L'interprétation croisée des données absolues (fg/mL) et normalisées (fg/ μ g) permet de mieux saisir la spécificité des réponses. Les différences entre ces ne sont pas des incohérences, mais peuvent refléter l'effet du débit salivaire, de la dilution, et l'effet de la variabilité du taux de protéines totales. Les deux modes d'expression sont intéressants dans leur complémentarité.

Ces résultats, bien que prometteurs, doivent être nuancés par certaines limites. L'impact clinique immédiat demeure restreint, en raison de la taille limitée de l'échantillon, de l'absence de stratification des lésions carieuses selon leur sévérité et des contraintes techniques liées aux instruments de quantification. Pour confirmer et enrichir ces observations, des études plus larges, incluant des suivis longitudinaux et multiparamétriques (immunitaires, microbiens et métabolomiques), seront nécessaires.

Pris dans leur ensemble, ces travaux ouvrent des perspectives encourageantes pour le développement de tests salivaires multiplexés capables de différencier divers états inflammatoires oraux et de suivre l'effet de facteurs physiologiques sur l'immunité des muqueuses. La salive s'affirme ainsi comme une matrice privilégiée pour le diagnostic précoce, non invasif et contextualisé des maladies orales.

Bibliographie

- Abdelaziz, M. (2023). Detection, Diagnosis, and Monitoring of Early Caries: The Future of Individualized Dental Care. *Diagnostics*, 13(24), 3649. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13243649>
- Al Natour, B., Lundy, F. T., About, I., Jeanneau, C., Dombrowski, Y., & El Karim, I. A. (2023). Regulation of caries-induced pulp inflammation by NLRP3 inflammasome : A laboratory-based investigation. *International Endodontic Journal*, 56(2), 193-202. <https://doi.org/10.1111/iej.13855>
- Alarcón-Sánchez, M. A., Becerra-Ruiz, J. S., Avetisyan, A., & Heboyan, A. (2024). Activity and levels of TNF- α , IL-6 and IL-8 in saliva of children and young adults with dental caries : A systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health*, 24, 816. <https://doi.org/10.1186/s12903-024-04560-8>
- Allison, D. L., Willems, H. M. E., Jayatilake, J. a. M. S., Bruno, V. M., Peters, B. M., & Shirtliff, M. E. (2016). Candida-Bacteria Interactions : Their Impact on Human Disease. *Microbiology Spectrum*, 4(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0030-2016>
- Ashley, P., Di Iorio, A., Cole, E., Tanday, A., & Needleman, I. (2015). Oral health of elite athletes and association with performance : A systematic review. *British Journal of Sports Medicine*, 49(1), 14-19. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2014-093617>
- Azami, F., Esfahanian, V., Ahmadi Shadmehri, M., & Rafiei, S. (s. d.). Correlation between concentrations of salivary and gingival crevicular fluid inflammatory cytokines in patients with gingivitis and periodontitis and healthy individuals. *Journal of Advanced Periodontology & Implant Dentistry*, 17(1), 31-35. <https://doi.org/10.34172/japid.025.2244>
- Baker, J. L., Mark Welch, J. L., Kauffman, K. M., McLean, J. S., & He, X. (2024). The oral microbiome : Diversity, biogeography and human health. *Nature reviews. Microbiology*, 22(2), 89-104. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00963-6>
- Banakar, M., Fernandes, G. V. O., Etemad-Moghadam, S., Frankenberger, R., Pourhajibagher, M., Mehran, M., Yazdi, M. H., Haghgoo, R., & Alaeddini, M. (2024). The strategic role of biotics in dental caries prevention : A scoping review. *Food Science & Nutrition*, 12(11), 8651-8674. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4473>
- Belda-Ferre, P., Alcaraz, L. D., Cabrera-Rubio, R., Romero, H., Simón-Soro, A., Pignatelli, M., & Mira, A. (2012). The oral metagenome in health and disease. *The ISME Journal*, 6(1), 46-56. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.85>
- Borchers, J., Merle, C. L., Schöneborn, D. D., Lyko, L. R., Thouet, T., Wolfarth, B., Kottmann, T., Scheibenbogen, C., Zimmer, J., Diederich, S., Bauer, K., Sack, U., Schmalz, G., Ziebolz, D., & Wüstenfeld, J. (2022). Salivary Diagnostic for Monitoring Strenuous Exercise-A Pilot Study in a Cohort of Male Ultramarathon Runners. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(23), 16110. <https://doi.org/10.3390/ijerph192316110>

- Bramantoro, T., Hariyani, N., Setyowati, D., Purwanto, B., Zulfiana, A. A., & Irmalia, W. R. (2020). The impact of oral health on physical fitness : A systematic review. *Heliyon*, *6*(4), e03774. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03774>
- Brandtzaeg, P. (2010). Function of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue in Antibody Formation. *Immunological Investigations*, *39*(4-5), 303-355. <https://doi.org/10.3109/08820131003680369>
- Caselli, E., Fabbri, C., D'Accolti, M., Soffritti, I., Bassi, C., Mazzacane, S., & Franchi, M. (2020). Defining the oral microbiome by whole-genome sequencing and resistome analysis : The complexity of the healthy picture. *BMC Microbiology*, *20*(1), 120. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01801-y>
- Chan, E. K., Wah, Y. Y., Lam, W. Y.-H., Chu, C.-H., & Yu, O. Y. (2023). Use of Digital Diagnostic Aids for Initial Caries Detection : A Review. *Dentistry Journal*, *11*(10), 232. <https://doi.org/10.3390/dj11100232>
- Chi, H., Pepper, M., & Thomas, P. G. (2024). Principles and therapeutic applications of adaptive immunity. *Cell*, *187*(9), 2052-2078. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.03.037>
- Cooper, P. R., Chicca, I. J., Holder, M. J., & Milward, M. R. (2017). Inflammation and Regeneration in the Dentin-pulp Complex : Net Gain or Net Loss? *Journal of Endodontics*, *43*(9, Supplement), S87-S94. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.06.011>
- Cooper, P. R., Holder, M. J., & Smith, A. J. (2014). Inflammation and Regeneration in the Dentin-Pulp Complex : A Double-edged Sword. *Journal of Endodontics*, *40*(4, Supplement), S46-S51. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.01.021>
- Corripio-Miyar, Y., Hayward, A., Lemon, H., Sweeny, A. R., Bal, X., Kenyon, F., Pilkington, J. G., Pemberton, J. M., Nussey, D. H., & McNeilly, T. N. (2022). Functionally distinct T-helper cell phenotypes predict resistance to different types of parasites in a wild mammal. *Scientific Reports*, *12*(1), 3197. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07149-9>
- da Rosa, W. L. O., Piva, E., & da Silva, A. F. (2018). Disclosing the physiology of pulp tissue for vital pulp therapy. *International Endodontic Journal*, *51*(8), 829-846. <https://doi.org/10.1111/iej.12906>
- Delneste, Y., Beauvillain, C., & Jeannin, P. (2007). Immunité naturelle—Structure et fonction des Toll-like receptors. *médecine/sciences*, *23*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1051/medsci/200723167>
- Dhillon, I. K., Hong, C. H.-L., Hu, S., Sim, Y. F., Goh, B. K. C., Duggal, M. S., & Sriram, G. (2023). Accuracy of the American Association of Endodontists diagnostic criteria for assessing pulp health in primary teeth. *Clinical Oral Investigations*, *27*(10), 6043-6053. <https://doi.org/10.1007/s00784-023-05217-6>
- Diesch, T., Filippi, C., Fritschi, N., Filippi, A., & Ritz, N. (2021). Cytokines in saliva as biomarkers of oral and systemic oncological or infectious diseases : A systematic review. *Cytokine*, *143*, 155506. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155506>

- Dominguez-Bello, M. G., Godoy-Vitorino, F., Knight, R., & Blaser, M. J. (2019). Role of the microbiome in human development. *Gut*, 68(6), 1108-1114. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-317503>
- Dongiovanni, P., Meroni, M., Casati, S., Goldoni, R., Thomaz, D. V., Kehr, N. S., Galimberti, D., Del Fabbro, M., & Tartaglia, G. M. (2023). Salivary biomarkers : Novel noninvasive tools to diagnose chronic inflammation. *International Journal of Oral Science*, 15(1), 27. <https://doi.org/10.1038/s41368-023-00231-6>
- Donnermeyer, D., Dammaschke, T., Lipski, M., & Schäfer, E. (2023). Effectiveness of diagnosing pulpitis : A systematic review. *International Endodontic Journal*, 56 Suppl 3, 296-325. <https://doi.org/10.1111/iej.13762>
- Dranoff, G. (2004). Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 4(1), 11-22. <https://doi.org/10.1038/nrc1252>
- Ending childhood dental caries : WHO implementation manual*. (s. d.). Consulté 19 septembre 2025, à l'adresse <https://www.who.int/publications/i/item/9789240000056>
- Enver, A., Ozmeric, N., Isler, S. C., Toruner, M., Fidan, C., Demirci, G., Elgun, S., & Silva, A. P. B. da. (2022). Evaluation of periodontal status and cytokine levels in saliva and gingival crevicular fluid of patients with inflammatory bowel diseases. *Journal of Periodontology*, 93(11), 1649-1660. <https://doi.org/10.1002/JPER.22-0065>
- Ev, L. D., Poloni, J. F., Damé-Teixeira, N., Arthur, R. A., Corralo, D. J., Henz, S. L., Do, T., Maltz, M., & Parolo, C. C. F. (2023). Biofilm dysbiosis and caries activity : A surface or an individual issue? *Journal of Applied Oral Science: Revista FOB*, 31, e20230214. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2023-0214>
- Farges, J.-C., Keller, J.-F., Carrouel, F., Durand, S. H., Romeas, A., Bleicher, F., Lebecque, S., & Staquet, M.-J. (2009). Odontoblasts in the dental pulp immune response. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 312B(5), 425-436. <https://doi.org/10.1002/jez.b.21259>
- FEATHERSTONE, J. D. B. (2000). THE SCIENCE AND PRACTICE OF CARIES PREVENTION. *The Journal of the American Dental Association*, 131(7), 887-899. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2000.0307>
- Fejerskov, O. (2004). Changing Paradigms in Concepts on Dental Caries : Consequences for Oral Health Care. *Caries Research*, 38(3), 182-191. <https://doi.org/10.1159/000077753>
- Foley, J. F. (2013). Focus issue : Understanding mechanisms of inflammation. *Science Signaling*, 6(258), eg2. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2003938>
- Forrest, J. O. (1969). The dental condition of Olympic Games contestants—A pilot study, 1968. *The Dental Practitioner and Dental Record*, 20(3), 95-101.
- França, C. M., Riggers, R., Muschler, J. L., Widbiller, M., Lococo, P. M., Diogenes, A., & Bertassoni, L. E. (2019). 3D-Imaging of Whole Neuronal and Vascular Networks of the Human Dental Pulp

- via CLARITY and Light Sheet Microscopy. *Scientific Reports*, 9, 10860. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47221-5>
- Gallagher, J., Ashley, P., Petrie, A., & Needleman, I. (2018). Oral health and performance impacts in elite and professional athletes. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 46(6), 563-568. <https://doi.org/10.1111/cdoe.12392>
- Galler, K. M., Weber, M., Korkmaz, Y., Widbiller, M., & Feuerer, M. (2021a). Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine–Pulp Complex and the Periapical Tissues. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/ijms22031480>
- Galler, K. M., Weber, M., Korkmaz, Y., Widbiller, M., & Feuerer, M. (2021b). Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine–Pulp Complex and the Periapical Tissues. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1480. <https://doi.org/10.3390/ijms22031480>
- Gay-Escoda, C., Vieira-Duarte-Pereira, D.-M., Ardèvol, J., Pruna, R., Fernandez, J., & Valmaseda-Castellón, E. (2011). Study of the effect of oral health on physical condition of professional soccer players of the Football Club Barcelona. *Medicina Oral, Patología Oral Y Cirugía Bucal*, 16(3), e436-439. <https://doi.org/10.4317/medoral.16.e436>
- Giacaman, R. A., Fernández, C. E., Muñoz-Sandoval, C., León, S., García-Manríquez, N., Echeverría, C., Valdés, S., Castro, R. J., & Gambetta-Tessini, K. (2022). Understanding dental caries as a non-communicable and behavioral disease: Management implications. *Frontiers in Oral Health*, 3, 764479. <https://doi.org/10.3389/froh.2022.764479>
- Goldberg, M. (2016). The Early Enamel Carious Lesion. In M. Goldberg (Éd.), *Understanding Dental Caries: From Pathogenesis to Prevention and Therapy* (p. 29-39). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-30552-3_4
- Grebenciucova, E., & VanHaerents, S. (2023). Interleukin 6: At the interface of human health and disease. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1255533>
- Gu, F., Huang, D., Li, R., Peng, L., Huan, T., Ye, K., Bian, Z., & Yin, W. (2025). Roles of Pyroptosis in the Progression of Pulpitis and Apical Periodontitis. *Journal of Inflammation Research*, 18, 3361-3375. <https://doi.org/10.2147/JIR.S507198>
- Hahn, C.-L., & Liewehr, F. R. (2007). Innate Immune Responses of the Dental Pulp to Caries. *Journal of Endodontics*, 33(6), 643-651. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2007.01.001>
- Hannig, M., & Joiner, A. (2005). The Structure, Function and Properties of the Acquired Pellicle. In R. M. Duckworth (Éd.), *The Teeth and Their Environment: Physical, Chemical and Biochemical Influences* (Vol. 19, p. 0). S.Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000090585>
- Heyeraas, K. J. (1985). Pulpal, microvascular, and tissue pressure. *Journal of Dental Research*, 64 Spec No, 585-589. <https://doi.org/10.1177/002203458506400414>
- Jakubovics, N. S. (2015). Intermicrobial Interactions as a Driver for Community Composition and Stratification of Oral Biofilms. *Cooperative Behaviour in Microbial Communities*, 427(23), 3662-3675. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.09.022>

- Jean-Claude Kaqueler & Olivier Le May. (1998). *Anatomie Pathologique Bucco-Dentaire. 2eme Edition Broché – 2* (2e éd.). Masson. https://catalogue.univ-paris13.fr/discovery/fulldisplay?docid=alma991001759559705807&context=L&vid=33USPC_BUP13:BUP13&lang=fr&search_scope=MyInst_and_CI&adaptor=Local%20Search%20Engine&tab=Everything&query=sub,exact,--%20anatomopathologie,AND&mode=advanced&offset=30
- Karched, M., Alyahya, A., Khalaf, M. E., Bhardwaj, R. G., Al-Sane, M., & Qudeimat, M. A. (2025). Comparative analysis of salivary cytokine profiles and oral microbial composition in caries-active and caries-free children. *Journal of Dentistry*, *154*, 105611. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2025.105611>
- Karrar, R. N., Craig, S. G., Duncan, H. F., Abushouk, S. A., Elfiel, S. Y., Lundy, F. T., Clarke, M., El-Karim, I. A., & Reliability Assessment Group. (2025). Clinical validation of a proposed diagnostic classification for pulpitis. *International Endodontic Journal*, *58*(8), 1158-1171. <https://doi.org/10.1111/iej.14254>
- Keyes, P. H. (1968). Research in dental caries. *The Journal of the American Dental Association*, *76*(6), 1357-1373. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1968.0186>
- Khalaf, A. M., Al-obaidi, N. S., & Muhabes, M. H. (2025). Caries experience and salivary interleukin-17 level in pre and postmenopausal women. *Journal Port Science Research*, *8*(1), 8-12. <https://doi.org/10.36371/port.2025.1.2>
- Kivisäkk, P., Carlyle, B. C., Sweeney, T., Trombetta, B. A., LaCasse, K., El-Mufti, L., Tuncali, I., Chibnik, L. B., Das, S., Scherzer, C. R., Johnson, K. A., Dickerson, B. C., Gomez-Isla, T., Blacker, D., Oakley, D. H., Frosch, M. P., Hyman, B. T., Aghvanyan, A., Bathala, P., ... Arnold, S. E. (2023). Plasma biomarkers for diagnosis of Alzheimer's disease and prediction of cognitive decline in individuals with mild cognitive impairment. *Frontiers in Neurology*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1069411>
- Kragt, L., Moen, M. H., Van Den Hoogenband, C.-R., & Wolvius, E. B. (2019). Oral health among Dutch elite athletes prior to Rio 2016. *The Physician and Sportsmedicine*, *47*(2), 182-188. <https://doi.org/10.1080/00913847.2018.1546105>
- Lamont, R. J., Koo, H., & Hajishengallis, G. (2018). The oral microbiota : Dynamic communities and host interactions. *Nature Reviews Microbiology*, *16*(12), 745-759. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0089-x>
- Lanzetti, J., Ferrati, F., Pavone, L., & Mussano, F. (2024). A Pilot Investigation Into the Use of Teledentistry and Artificial Intelligence to Assess Dental Erosion in Competitive Swimmers. *Clinical and Experimental Dental Research*, *10*(6), e70018. <https://doi.org/10.1002/cre2.70018>
- Lippi, G., Henry, B. M., Montagnana, M., & Plebani, M. (2022). Diagnostic accuracy of the ultrasensitive S-PLEX SARS-CoV-2 N electrochemiluminescence immunoassay. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, *60*(6), e121-e124. <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-0155>
- Liu, Q., Guo, T., Dang, W., Song, Z., Wen, Y., Luo, H., & Wang, A. (2023). Correlation between salivary cytokine profiles and white spot lesions in adolescent patients receiving clear aligner

- orthodontic treatment. *BMC Oral Health*, 23(1), 857. <https://doi.org/10.1186/s12903-023-03561-3>
- Lloyd-Price, J., Abu-Ali, G., & Huttenhower, C. (2016). The healthy human microbiome. *Genome Medicine*, 8, 51. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0307-y>
- Luizon, M. R., Izidoro-Toledo, T. C., Simoes, A. L., & Tanus-Santos, J. E. (2009). Endothelial Nitric Oxide Synthase Polymorphisms and Haplotypes in Amerindians. *DNA and Cell Biology*, 28(7), 329-334. <https://doi.org/10.1089/dna.2009.0878>
- Macey, R., Walsh, T., Riley, P., Glenny, A.-M., Worthington, H. V., O'Malley, L., Clarkson, J. E., & Ricketts, D. (2021). Visual or visual-tactile examination to detect and inform the diagnosis of enamel caries. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2021(6), CD014546. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD014546>
- Mahmood, H. K., Abbas, A. A.-H., Jasim, S. S., Al-Khayat, F. A.-M., & Al-Ghurabi, B. H. (2025). Salivary IL-8 and TNF- α ; as potential diagnostic biomarkers for dental caries. *World Academy of Sciences Journal*, 7(5), 1-7. <https://doi.org/10.3892/wasj.2025.371>
- Martignon, S., Pitts, N. B., Goffin, G., Mazevet, M., Douglas, G. V. A., Newton, J. T., Twetman, S., Deery, C., Doméjean, S., Jablonski-Momeni, A., Banerjee, A., Kolker, J., Ricketts, D., & Santamaria, R. M. (2019). CariesCare practice guide : Consensus on evidence into practice. *British Dental Journal*, 227(5), 353-362. <https://doi.org/10.1038/s41415-019-0678-8>
- Matsuoka, M., Soria, S. A., Pires, J. R., Sant'Ana, A. C. P., & Freire, M. (2025). Natural and induced immune responses in oral cavity and saliva. *BMC Immunology*, 26(1), 34. <https://doi.org/10.1186/s12865-025-00713-8>
- Medzhitov, R. (2007). Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature*, 449(7164), 819-826. <https://doi.org/10.1038/nature06246>
- Merle, C. L., Wuestenfeld, J. C., Fenkse, F., Wolfarth, B., Haak, R., Schmalz, G., & Ziebolz, D. (2022). The Significance of Oral Inflammation in Elite Sports : A Narrative Review. *Sports Medicine International Open*, 6(2), E69-E79. <https://doi.org/10.1055/a-1964-8538>
- Minty, M., Canceill, T., Lê, S., Dubois, P., Amestoy, O., Loubieres, P., Christensen, J. E., Champion, C., Azalbert, V., Grasset, E., Hardy, S., Loubes, J.-M., Mallet, J.-P., Tercé, F., Vergnes, J.-N., Burcelin, R., Serino, M., Diemer, F., & Blasco-Baque, V. (2018). Oral health and microbiota status in professional rugby players : A case-control study. *Journal of Dentistry*, 79, 53-60. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.10.001>
- Mjör, I. A. (2002). *Pulp-dentin Biology in Restorative Dentistry*. Quintessence Pub.
- Mogensen, T. H. (2009). Pathogen Recognition and Inflammatory Signaling in Innate Immune Defenses. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(2), 240-273. <https://doi.org/10.1128/cmr.00046-08>
- Nanci Antonio, Ten Cate, & Arnold Richard. (2017). *Ten Cate's Oral Histology Development, Structure, and Function* (9th éd.). Elsevier.

https://librarysearch.kcl.ac.uk/discovery/fulldisplay/alma990610507460206881/44KCL_INST:44KCL_INST

- Needleman, I., Ashley, P., Meehan, L., Petrie, A., Weiler, R., McNally, S., Ayer, C., Hanna, R., Hunt, I., Kell, S., Ridgewell, P., & Taylor, R. (2016). Poor oral health including active caries in 187 UK professional male football players : Clinical dental examination performed by dentists. *British Journal of Sports Medicine*, *50*(1), 41-44. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2015-094953>
- Needleman, I., Ashley, P., Petrie, A., Fortune, F., Turner, W., Jones, J., Niggli, J., Engebretsen, L., Budgett, R., Donos, N., Clough, T., & Porter, S. (2013). Oral health and impact on performance of athletes participating in the London 2012 Olympic Games : A cross-sectional study. *British Journal of Sports Medicine*, *47*(16), 1054-1058. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2013-092891>
- Newbrun, E. (1982). Sugar and dental caries : A review of human studies. *Science (New York, N.Y.)*, *217*(4558), 418-423. <https://doi.org/10.1126/science.7046052>
- Pezelj-Ribaric, S., Anic, I., Brekalo, I., Miletic, I., Hasan, M., & Simunovic-Soskic, M. (2002). Detection of tumor necrosis factor alpha in normal and inflamed human dental pulps. *Archives of Medical Research*, *33*(5), 482-484. [https://doi.org/10.1016/s0188-4409\(02\)00396-x](https://doi.org/10.1016/s0188-4409(02)00396-x)
- Platchek, M., Lu, Q., Tran, H., & Xie, W. (2020). Comparative Analysis of Multiple Immunoassays for Cytokine Profiling in Drug Discovery. *SLAS Discovery*, *25*(10), 1197-1213. <https://doi.org/10.1177/2472555220954389>
- Pohl, S., Akamp, T., Smeda, M., Uderhardt, S., Besold, D., Krastl, G., Galler, K. M., Buchalla, W., & Widbiller, M. (2024). Understanding dental pulp inflammation : From signaling to structure. *Frontiers in Immunology*, *15*, 1474466. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1474466>
- Poureau, P.-G., & Metges, J.-P. (2021). Fondamentaux de l'immunologie des Cancers Digestifs (Gastriques et Hépatocellulaires). *Oncologie*, *23*(1), 47-59. <https://doi.org/10.32604/Oncologie.2021.15525>
- Radaic, A., & Kapila, Y. L. (2021). The oralome and its dysbiosis : New insights into oral microbiome-host interactions. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, *19*, 1335-1360. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.02.010>
- Rao, K. A., Thomas, S., Kumar, J. K., & Narayan, V. (2019). Prevalence of Dentinal Hypersensitivity and Dental Erosion among Competitive Swimmers, Kerala, India. *Indian Journal of Community Medicine : Official Publication of Indian Association of Preventive & Social Medicine*, *44*(4), 390-393. https://doi.org/10.4103/ijcm.IJCM_213_19
- Rechenberg, D.-K., Galicia, J. C., & Peters, O. A. (2016). Biological Markers for Pulpal Inflammation : A Systematic Review. *PLoS One*, *11*(11), e0167289. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167289>
- Reich, E., Lussi, A., & Newbrun, E. (1999). Caries-risk assessment. *International Dental Journal*, *49*(1), 15-26. <https://doi.org/10.1111/j.1875-595X.1999.tb00503.x>
- Rekha, G. S., Chandrasekhar, R., Vinay, C., Uloopi, K., RojaRamya, K. S., & Chaitanya, P. (2023). In Vitro Evaluation of Reliability and Validity of International Caries Detection and Assessment

- System II Coding for Occlusal Caries using Magnification. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 16(Suppl 2), 138-141. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-2584>
- Relvas, M., Mendes-Frias, A., Gonçalves, M., Salazar, F., López-Jarana, P., Silvestre, R., & Viana da Costa, A. (2024). Salivary IL-1 β , IL-6, and IL-10 Are Key Biomarkers of Periodontitis Severity. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(15), 8401. <https://doi.org/10.3390/ijms25158401>
- Reynoso-García, J., Miranda-Santiago, A. E., Meléndez-Vázquez, N. M., Acosta-Pagán, K., Sánchez-Rosado, M., Díaz-Rivera, J., Rosado-Quiñones, A. M., Acevedo-Márquez, L., Cruz-Roldán, L., Tosado-Rodríguez, E. L., Figueroa-Gispert, M. D. M., & Godoy-Vitorino, F. (2022). A complete guide to human microbiomes : Body niches, transmission, development, dysbiosis, and restoration. *Frontiers in systems biology*, 2, 951403. <https://doi.org/10.3389/fsysb.2022.951403>
- Rinderknecht, C., Filippi, C., Ritz, N., Fritschi, N., Simmen, U., Filippi, A., & Diesch-Furlanetto, T. (2022). Associations between salivary cytokines and oral health, age, and sex in healthy children. *Scientific Reports*, 12(1), 15991. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20475-2>
- Rosenberg, E., & Zilber-Rosenberg, I. (2018). The hologenome concept of evolution after 10 years. *Microbiome*, 6, 78. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0457-9>
- Sedghi, L., DiMassa, V., Harrington, A., Lynch, S. V., & Kapila, Y. L. (2021). The oral microbiome : Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontology 2000*, 87(1), 107-131. <https://doi.org/10.1111/prd.12393>
- Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biology*, 14(8), e1002533. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>
- Şenel, S. (2021a). An Overview of Physical, Microbiological and Immune Barriers of Oral Mucosa. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), 7821. <https://doi.org/10.3390/ijms22157821>
- Şenel, S. (2021b). An Overview of Physical, Microbiological and Immune Barriers of Oral Mucosa. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), 7821. <https://doi.org/10.3390/ijms22157821>
- Shengule, S., Alai, S., Bhandare, S., Patil, S., Gautam, M., Mangaonkar, B., Gupta, S., Shaligram, U., & Gairola, S. (2024). Validation and Suitability Assessment of Multiplex Mesoscale Discovery Immunogenicity Assay for Establishing Serological Signatures Using Vaccinated, Non-Vaccinated and Breakthrough SARS-CoV-2 Infected Cases. *Vaccines*, 12(4), 433. <https://doi.org/10.3390/vaccines12040433>
- Silva, R. C. M. C., Travassos, L. H., & Dutra, F. F. (2024). The dichotomic role of single cytokines : Fine-tuning immune responses. *Cytokine*, 173, 156408. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2023.156408>

- Sisodia, N., & Manjunath, M. K. (2014). Impact of Low Level Magnification on Incipient Occlusal Caries Diagnosis and Treatment Decision Making. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR*, 8(8), ZC32-ZC35. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/8533.4742>
- Spatafora, G., Li, Y., He, X., Cowan, A., & Tanner, A. C. R. (2024). The Evolving Microbiome of Dental Caries. *Microorganisms*, 12(1), 121. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010121>
- Stockdale, L. K., Provstgaard-Morys, S., Bellamy, D., Woods, D., Rapi, K., Bajaj, A., Hollingdale, B., Muñoz, O., Malik, S., Hill, A. V. S., & Ewer, K. J. (2025). Validation of a multiplexed immunoassay for immunological analysis of pre erythrocytic malaria vaccines. *Npj Vaccines*, 10(1), 14. <https://doi.org/10.1038/s41541-024-01039-z>
- Tani-Ishii, N., Wang, C.-Y., & Stashenko, P. (1995). Immunolocalization of bone-resorptive cytokines in rat pulp and periapical lesions following surgical pulp exposure. *Oral Microbiology and Immunology*, 10(4), 213-219. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.1995.tb00145.x>
- Tazawa, K., Azuma Presse, M. M., Furusho, H., Stashenko, P., & Sasaki, H. (2022). Revisiting the role of IL-1 signaling in the development of apical periodontitis. *Frontiers in Dental Medicine*, 3. <https://doi.org/10.3389/fdmed.2022.985558>
- Usha, C., & R, S. (2009). Dental caries—A complete changeover (Part I). *Journal of Conservative Dentistry*, 12(2), 46-54. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.55617>
- Van Hassel, H. J. (1971). Physiology of the human dental pulp. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 32(1), 126-134. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(71\)90258-1](https://doi.org/10.1016/0030-4220(71)90258-1)
- Walker, D. M. (2004). Oral mucosal immunology : An overview. *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*, 33(4 Suppl), 27-30.
- Warrick, K. A., Vallez, C. N., Meibers, H. E., & Pasare, C. (2025). Bidirectional Communication Between the Innate and Adaptive Immune Systems. *Annual review of immunology*, 43(1), 489-514. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-083122-040624>
- Waśkiewicz, Z., Mukhambet, Z., Azerbayev, D., & Bondarev, S. (2025). Inflammatory Response to Ultramarathon Running : A Review of IL-6, CRP, and TNF- α . *International Journal of Molecular Sciences*, 26(13), 6317. <https://doi.org/10.3390/ijms26136317>
- Wu, Q., Li, S., Li, R., Chen, X., Guo, L., & Zheng, Y. (2022). The detection of pro-inflammatory cytokines in exudates from dental pulp tissues. *Cytokine*, 153, 155846. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2022.155846>
- Xia, J., Jiang, S., Dong, S., Liao, Y., & Zhou, Y. (2023). The Role of Post-Translational Modifications in Regulation of NLRP3 Inflammasome Activation. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6126. <https://doi.org/10.3390/ijms24076126>
- Zanini, M., Meyer, E., & Simon, S. (2017). Pulp Inflammation Diagnosis from Clinical to Inflammatory Mediators : A Systematic Review. *Journal of Endodontics*, 43(7), 1033-1051. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.02.009>

- Zhang, C.-Z., Cheng, X.-Q., Li, J.-Y., Zhang, P., Yi, P., Xu, X., & Zhou, X.-D. (2016). Saliva in the diagnosis of diseases. *International Journal of Oral Science*, 8(3), 133-137. <https://doi.org/10.1038/ijos.2016.38>
- Zhang, M., Whiteley, M., & Lewin, G. R. (s. d.). Polymicrobial Interactions of Oral Microbiota : A Historical Review and Current Perspective. *mBio*, 13(3), e00235-22. <https://doi.org/10.1128/mbio.00235-22>
- Zhang, Y., Kang, N., Xue, F., Qiao, J., Duan, J., Chen, F., & Cai, Y. (2021). Evaluation of salivary biomarkers for the diagnosis of periodontitis. *BMC Oral Health*, 21(1), 266. <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01600-5>



Disponible en ligne sur
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



PHYSIOLOGIE

Microbiote oral et santé bucco-dentaire des sportifs : revue narrative



Oral microbiota and health in athletes: A comprehensive overview

Margaux Dubois^{a,b,1}, Morgane Ortis^{a,1}, Alain Doglio^{a,c},
 Valérie Bougault^{d,*}

^a Micoralis, université Côte d'Azur, 06300 Nice, France

^b Institut de médecine bucco-dentaire, centre hospitalier universitaire de Nice, pôle odontologie, 06300 Nice, France

^c Unité de thérapie cellulaire et génique, centre hospitalier universitaire de Nice, 06000 Nice, France

^d LAMHESS, université Côte d'Azur, 06205 Nice, France

Received 12 January 2024; accepted 31 March 2024

Available online 11 avril 2024

MOTS CLÉS

Microbiote oral;
 Santé;
 Sportif;
 Alimentation;
 Stress

Résumé L'étude des microbiotes connaît un essor important avec l'avènement et la démocratisation des techniques de séquençage. Parmi eux, la cavité orale héberge le deuxième microbiote en masse, et le premier en termes de diversité. Chez des personnes en bonne santé, la composition du microbiote oral reste stable, cependant sous l'influence de différents facteurs, dont l'activité physique, la perturbation de cet équilibre peut mener à l'apparition de pathologies orales ou systémiques. Le sportif de haut niveau est exposé à un mode de vie particulier alliant des modifications immunitaires, un stress chronique, une alimentation riche en sucres et un risque accru de traumatismes oraux. La pratique d'un sport de manière intensive a des répercussions directes sur l'état de santé bucco-dentaire, mais peu de données sont disponibles concernant l'impact de la pratique sportive sur le microbiote oral. Après un descriptif du microbiote oral, cette revue a pour objectif de faire un état des connaissances actuelles sur le lien entre le microbiote oral, la santé et la performance du sportif.

© 2024 The Authors. Published by Elsevier Masson SAS on behalf of Société française de nutrition. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Auteur correspondant. Laboratoire Matricité Humaine Expertise Sport Santé (LAMHESS), Université Côte d'Azur, Campus STAPS - Sciences du Sport, 261, Boulevard du Mercantour, 06205 Nice, France.

E-mail address: valerie.bougault@univ-cotedazur.fr (V. Bougault).

¹ Morgane Ortis et Margaux Dubois sont co-premières auteurs, elles ont contribué à parts égales à ce travail.

<https://doi.org/10.1016/j.cnd.2024.03.005>

0007-9960/© 2024 Les Auteurs. Publié par Elsevier Masson SAS au nom de Société française de nutrition. Cet article est publié en Open Access sous licence CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

KEYWORDS

Oral microbiota;
Health;
Sport;
Nutrition;
Stress

Summary The study of the microbiota has grown significantly with the advent and democratization of sequencing technologies. The oral cavity hosts the second most diverse microbiota in the human body. In healthy individuals, the composition of the oral microbiota is stable, but disruption of its balance can lead to the development of oral or systemic pathologies under certain factors, including physical activity. Professional athletes are exposed to a specific lifestyle that combines changes in the immune system, chronic stress, specific diets, sugar consumption during exercise and/or an increased risk of oral trauma. Intense sporting activity therefore has an impact on oral and dental health. However, there is currently a paucity of data on oral microbiota in athletes. After describing the oral microbiota, the aim of this article is to review the current state of knowledge on the relationship between oral microbiota health and performance.

© 2024 The Authors. Published by Elsevier Masson SAS on behalf of Société française de nutrition. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introduction

Le microbiote se réfère à l'ensemble des micro-organismes vivant dans un environnement spécifique. Dans le corps humain, le microbiote oral occupe la deuxième place en termes de taille, après le microbiote intestinal, tout en présentant la plus grande diversité microbienne [1]. Ces micro-organismes jouent un rôle essentiel dans la préservation de la santé bucco-dentaire, notamment en influençant divers processus, tels que la prolifération de pathogènes ou la modulation de la réponse immunitaire locale [2]. La compréhension du microbiote oral, de la dynamique du biofilm oral, et du rôle des bactéries revêt une importance cruciale dans l'élaboration de stratégies de prévention des affections bucco-dentaires et de la santé orale [3]. En effet, la rupture de l'eubiose orale entraîne un déséquilibre qui, s'il persiste, peut conduire à une dysbiose microbienne et au développement de pathologies buccales [4]. Au-delà de la sphère orale, plusieurs études mettent en évidence les liens qui existent entre la dysbiose orale et la santé générale. En effet, diverses maladies systémiques, notamment neurologiques, respiratoires, métaboliques et cardiovasculaires sont parfois directement associées à des pathologies orales qui présentent une étiologie microbienne [5].

Le microbiote oral peut être modulé et influencé par divers facteurs, notamment les habitudes de vie, les facteurs systémiques, l'environnement et la pratique sportive. Bien que la pratique régulière d'une activité physique soit généralement associée à des effets positifs sur la santé, plusieurs études indiquent que les sportifs de compétition présentent souvent une santé bucco-dentaire globalement altérée [6]. Les raisons de cette observation peuvent être attribuées au mode de vie particulier des sportifs, comprenant des pratiques telles que des choix alimentaires spécifiques, le port éventuel de protège-dents, l'hyperpnée d'effort, le stress lié à la recherche de performance et la compétition.

Cette revue débutera par une introduction aux concepts de l'équilibre du microbiote et aux pathologies orales

fréquemment liées. Ensuite, elle examinera le lien entre le sport, le microbiote oral, l'inflammation orale et la santé bucco-dentaire, en détaillant les divers facteurs influents.

La cavité orale et le microbiote

La communauté microbienne complexe qui réside dans la cavité buccale est appelée microbiote oral [7]. La cavité orale constitue un écosystème riche, complexe et non uniforme, présentant d'importantes variations quotidiennes pour le microbiote résident [8]. Dans ce milieu, plus de 1000 espèces de micro-organismes co-existent, comprenant des bactéries, des virus, des champignons, des archées et quelques protozoaires [9]. Cet écosystème, caractérisé par sa très grande hétérogénéité, son humidité et sa chaleur, offre un terrain propice au développement des micro-organismes sur diverses surfaces, telles que les dents, la langue, la salive, les muqueuses, le palais, les poches parodontales... [1]. Les populations microbiennes présentes varient en fonction des différentes niches écologiques de la cavité orale. La plaque dentaire constitue une composante importante du microbiote oral, elle se caractérise par la présence de bactéries adhérentes aux dents (supports durs) qui se multiplient et co-adhèrent pour former une matrice extracellulaire polysaccharidique, également appelée biofilm oral. La formation du biofilm mature est un processus dynamique qui implique des interactions complexes, résumées sous le terme d'oralome, entre les différentes espèces bactériennes, virales et fongiques. La diversité de ces micro-organismes joue un rôle essentiel dans le maintien de la stabilité et du bon fonctionnement du microbiote oral. La composition de celui-ci est unique à chaque individu et pourrait même définir une « carte d'identité » personnelle. Si l'on ne considère que les bactéries, on identifie environ 700 espèces dont la composition est influencée par divers facteurs majeurs tels que les habitudes alimentaires, l'âge, le système immunitaire, le tabagisme, les facteurs génétiques et l'hygiène

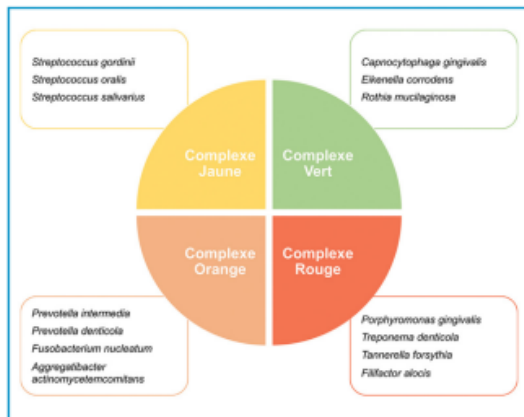


Figure 1. Représentation imagée des espèces bactériennes prédominantes liées aux divers complexes de Socransky et al. [11].

bucco-dentaire [10]. Socransky et al. [11] ont proposé de catégoriser ces bactéries en différents complexes, distingués par un code couleur. Cette classification est basée sur la pathogénicité des bactéries, leur rôle dans l'inflammation, et surtout leur contribution au développement de maladies parodontales, telle que la parodontite (Fig. 1). L'équilibre entre ces complexes définit une bonne santé parodontale, tandis qu'un déséquilibre favorisera plutôt l'apparition de maladies orales. Le complexe jaune est essentiellement composé de bactéries à Gram positives, du genre *Streptococcus* (ex : *S. oralis*, *S. salivarius*...). Ces bactéries pionnières sont les premières à coloniser les surfaces dentaires, elles initient la formation du biofilm oral et favorisent l'adhérence d'autres micro-organismes à celui-ci [12]. Le complexe vert (ex : *Capnocytophaga gingivalis*, *Eikenella corrodens*...) est constitué de bactéries considérées comme relativement inoffensives, voire bénéfiques, ces bactéries contribuent à maintenir l'équilibre du microbiote oral (eubiose). Le complexe orange (ex : *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*...) est composé de bactéries généralement associées à des formes modérées de maladies parodontales. L'augmentation de leur fréquence dans la plaque dentaire peut contribuer à l'inflammation gingivale et à la progression des maladies parodontales, parfois associées aux bactéries du complexe rouge. Enfin, un groupe triadique de bactéries anaérobies buccales appelé « complexe rouge », comprenant *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* et *Tannerella forsythia*, est traditionnellement considéré comme jouant un rôle étiologique majeur dans la parodontite. Récemment, une nouvelle bactérie parodontopathogène, *Filifactor alocis*, a été ajoutée à ce trio bactérien [13]. Il est cependant important de noter que le modèle du complexe de Socransky est un modèle simplifié et que depuis la création de cette théorie en 1998, de nombreuses avancées technologiques dans le domaine de la microbiologie orale sont apparues permettant d'élargir notre compréhension sur les communautés microbiennes orales et les pathologies buccales [13].

Microbiote oral et santé bucco-dentaire

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ la moitié de la population mondiale, soit 3,5 milliards de personnes, est touchée par des affections bucco-dentaires, incluant les maladies cariogènes et parodontales [14]. En Europe, la prévalence des maladies bucco-dentaires graves est particulièrement élevée, touchant 50 % de la population adulte [15].

La maladie carieuse

La maladie carieuse représente le trouble bucco-dentaire le plus répandu à l'échelle mondiale, cette maladie affecte près de 2,5 milliards de personnes [14]. Il s'agit d'une maladie considérée comme non transmissible, caractérisée par une origine multifactorielle et polymicrobienne. La maladie carieuse apparaît lorsque le microbiote évolue vers un biofilm cariogène, comprenant des populations bactériennes acidogènes et aciduriques capables de métaboliser des glucides fermentables (glucose, fructose, maltose et saccharose) pour produire des acides, l'acide lactique étant prédominant [8]. Ces produits du métabolisme bactérien s'accumulent dans le biofilm, diminuant le pH et induisant la déminéralisation de la couche superficielle de la dent, ce qui constitue la première étape du processus carieux. Au fil du temps, si les phases de déminéralisation surpassent celles de reminéralisation, la structure de la dent peut être altérée [16]. Certaines espèces bactériennes sont prédominantes dans le microbiote associé aux lésions carieuses, en particulier *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus sp.* et *Actinomyces sp.* [16]. *Streptococcus mutans* est particulièrement incriminée dans le développement de la maladie carieuse, bien que l'apparition de la maladie ne puisse être attribuée à la seule présence de cette bactérie [16]. Certaines espèces bactériennes peuvent, au contraire, exercer un effet protecteur contre le développement des bactéries cariogènes, comme c'est le cas pour trois espèces de *Streptococcus*, dont *S. oralis*, *S. mitis* et *S. sanguinis* [17]. Le concept actuel le plus communément accepté est celui de l'hypothèse dite de la plaque écologique. Ce modèle suggère que la lésion carieuse est la conséquence d'un changement, ou dysbiose, dans le microbiote du biofilm dentaire caractérisé par l'enrichissement en espèces cariogènes [16]. Une des principales causes de la dysbiose microbienne concerne la consommation régulière de sucres provenant de l'alimentation [16, 18]. L'apport sucré favorise les bactéries acidophiles adaptées à cet environnement et diminue la présence d'espèces qui ne tolèrent pas ces conditions. Toutefois, de nombreux facteurs, autres que les sucres, jouent un rôle majeur dans le développement des caries, qu'ils soient physiologiques, comme la réduction de la production de salive, environnementaux, comme une mauvaise hygiène buccale, ou bien comportementaux telle que la consommation d'aliments acides [16].

Maladies parodontales

Selon l'OMS [19], les maladies parodontales constituent la deuxième affection bucco-dentaire la plus répandue dans le monde, touchant près d'un milliard de personnes (soit 19 % de la population). En France, les formes sévères de

ces affections concernent 10 à 20 % des adultes [20]. En particulier, la parodontite et la gingivite sont les deux maladies parodontales les plus connues ; il s'agit de maladies inflammatoires polyfactorielles et d'étiologie microbienne qui affectent et altèrent le parodonte. Le parodonte englobe l'ensemble des tissus de soutien de la dent comprenant la gencive, le ligament dentaire et l'os alvéolo-dentaire. La gingivite est souvent considérée comme une situation inflammatoire transitoire qui, si elle n'est pas traitée, peut évoluer vers la parodontite qui constitue un stade inflammatoire irréversible pouvant aller jusqu'à la destruction des tissus de soutien de la dent, y compris de l'os alvéolaire.

L'écosystème parodontal héberge une flore microbienne complexe dont la composition est très directement associée aux maladies parodontales. La prolifération de nombreux genres bactériens parodontopathogènes dans les sites sous-gingivaux et la diminution de la diversité globale du microbiote parodontal, définissent une dysbiose qui accompagne la dérégulation des réponses immunitaires et inflammatoires de l'hôte [21]. Les bactéries impliquées dans la parodontite sont essentiellement des bactéries anaérobies, vivant dans un environnement pauvre en oxygène tel que les poches parodontales. Cette pathologie résulte d'une synergie polymicrobienne, où l'ensemble de la communauté bactérienne joue un rôle dans le développement de cette dernière. Socransky et al. [11] ont proposé en 1998 de regrouper les espèces parodontales par complexes (complexes rouge, orange, jaune, violet, vert) qui sont définis en fonction de leur association avec la pathologie. Toutefois, avec l'avancée des techniques de détection des micro-organismes (telles que le séquençage), la participation dans la production de facteurs de virulence de bactéries qui n'étaient initialement pas impliquées dans la maladie parodontale telles que *S. oralis*, *S. mutans*, *S. intermedius*, *S. mitis*, *V. parvula* et *P. fluorescens*, ont également été mise en évidence [22]. La présence de ces bactéries pathogènes facultatives, au sein de ces niches écologiques, entraîne le développement d'une inflammation gingivale caractéristique de la parodontite [23]. De plus, des données récentes sont en faveur d'une synergie entre ces bactéries parodontopathogènes et l'activation de certains virus oraux, en particulier les virus du groupe des Herpès virus humains (HHVs). Trois des huit HHVs, à savoir, le cytomégalovirus (CMV), l'herpès simplex 1 (HSV-1), ainsi que le virus d'Epstein-Barr virus (EBV) sont très prévalents dans les cas de parodontites agressives et chroniques [24]. Des travaux récents, en particulier menés par notre équipe, documentent l'exacerbation de la réplication de ces virus dans les sites parodontaux au cours de la parodontite [25].

L'expression clinique des maladies parodontales est également influencée par de nombreux autres facteurs, parmi lesquels figurent la consommation de tabac, l'accumulation de plaque dentaire, le diabète et l'immunodépression [26]. Le tabagisme, en particulier, représente un facteur de risque significatif dans le développement des maladies parodontales, car il diminue la capacité du corps humain à lutter contre les infections en affaiblissant le système immunitaire [26].

Lien entre le sport, la santé bucco-dentaire et le microbiote oral

Une étude récente, menée en Finlande sur une cohorte de jeunes hommes enrôlés pendant leur service militaire, a révélé que les individus qui pratiquaient régulièrement une activité physique et présentaient une bonne condition physique avaient moins de problèmes bucco-dentaires que leurs homologues sédentaires [27]. Cependant, le faible tabagisme et la faible consommation d'alcool observés chez les plus actifs pourraient constituer un biais important dans cette étude. Les premières études sur la santé bucco-dentaire des sportifs de haut niveau datent de la fin des années 1960 [28,29], et se sont considérablement accélérées après les Jeux Olympiques (J.O.) d'Athènes en 2004. L'école dentaire de l'université d'Athènes a orchestré les services de santé dentaire pendant les Jeux Olympiques et Paralympiques, destinés aux athlètes, entraîneurs, membres des équipes et personnels du village olympique [30]. Une clinique dentaire a ensuite été mise en place lors des Jeux Olympiques et paralympiques d'été, et la prévalence des problèmes de santé bucco-dentaires a été documentée pour les J.O. de Beijing en 2008 et Londres en 2012 [31]. L'équipe dirigée par le Professeur Needleman, en charge de la clinique dentaire des J.O., notamment à Londres, a effectué une revue systématique des recherches cliniques sur la santé bucco-dentaire des sportifs de haut-niveau [32]. Dans cette revue, ils confirment que les athlètes olympiques représentent une proportion conséquente des études menées, et parmi les 34 études considérées, jusqu'à 75 % des sportifs présentaient des caries dentaires, 76 % souffraient de gingivites, 15 % étaient atteints de maladies parodontales, 36 à 85 % montraient des signes d'usures dentaires, et 5 à 39 % étaient sujets à des infections liées aux dents de sagesse [32]. Les participants aux *Special Olympics*, destinés aux enfants et adultes compétiteurs ayant une déficience intellectuelle, ont également été étudiés, et il ressort que ceux-ci ne sont pas épargnés par les problèmes dentaires non traités, tels que les dents manquantes, les gingivites ou les caries [33]. Les causes de la mauvaise santé bucco-dentaire chez le sportif peuvent être d'origine externe au sport, avec par exemple des différences d'accès aux soins et d'alimentation entre les pays. Les causes intrinsèques au sport, sont celles pouvant altérer le microbiote oral et les défenses immunitaires, comme la répétition d'efforts intenses, la ventilation importante et répétée, la nutrition d'effort (boissons, gels...), le port de protège-dents, le stress et les causes traumatiques (Fig. 2).

Sécheresse/déshydratation orale transitoire

À mesure que la ventilation d'effort augmente, les cavités nasales deviennent insuffisantes pour répondre aux besoins de l'organisme, entraînant une respiration buccale [35]. Cette situation diminue le rôle d'humidification et de réchauffement de l'air par les structures nasales, et provoque une déshydratation plus rapide de l'ensemble du système respiratoire, dont la cavité orale [36]. Au-delà

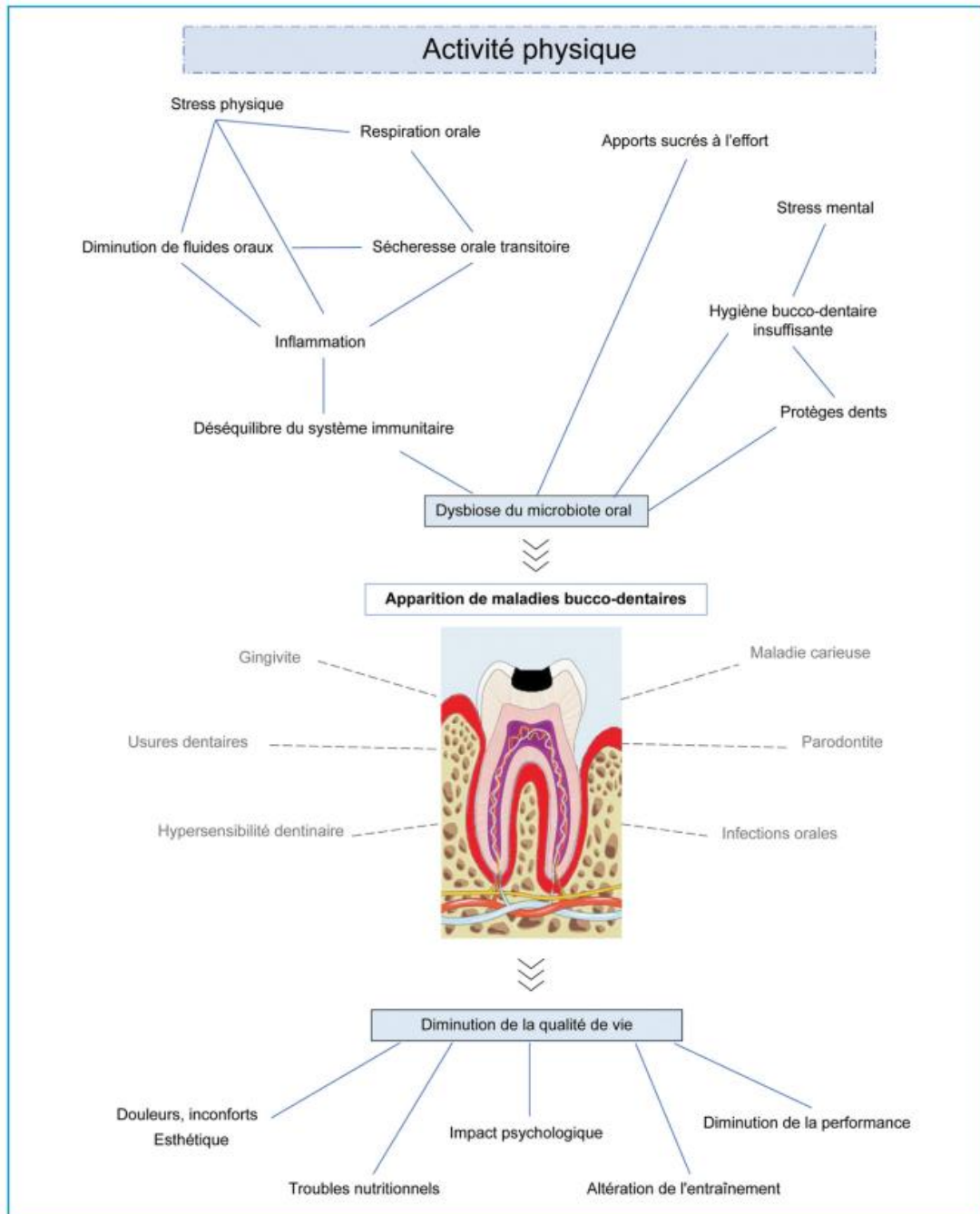


Figure 2. Synthèse des différents facteurs de l'exercice physique sur le développement de maladies bucco-dentaires et la modification de la qualité de vie. Figure inspirée de [34].

d'un certain niveau de ventilation, probablement autour du seuil d'adaptation ventilatoire, un seuil de déshydratation salivaire existe [37]. La déshydratation buccale peut résulter de la déshydratation générale et de la perte d'eau par la transpiration, de la stimulation du système sympathique à l'effort provoquant une vasoconstriction et une réduction du volume salivaire global, ainsi que de la restriction de l'apport liquide ou du type de liquide consommé pendant l'exercice [37–39]. Il semble que la prise d'eau seule ne compense pas la diminution de flux salivaire lors d'un l'exercice intense, contrairement à une eau enrichie en glucides [39]. L'assèchement transitoire prolongé de la cavité orale pendant un exercice physique long et répété est certainement un facteur de risque de déséquilibre de l'écosystème oral et par conséquent de pathologies bucco-dentaires. Une dysbiose orale pourrait ainsi s'établir rapidement dans la situation où le flux salivaire est régulièrement réduit [40]. On constate effectivement que les sportifs présentant un assèchement de la cavité buccale pendant l'effort et une diminution du flux salivaire ont davantage d'érosion dentaire [41], malgré des habitudes déclarées d'apport en eau à l'effort.

Nutrition du sportif

La nutrition est un élément non négligeable dans l'entraînement du sportif, avec des besoins spécifiques selon les objectifs et le type de sport. Les boissons d'efforts, qu'elles soient iso-, hypo- ou hypertoniques, renferment un mélange de glucides, éventuellement accompagné de caféine, antioxydants, électrolytes et acides aminés. Les sportifs adaptent généralement leur apport en glucides avant, pendant et après l'exercice en fonction des conditions et des objectifs. Pendant l'entraînement et les compétitions, il est également courant de recourir à des boissons, gels ou barres énergétiques sucrées [39]. Les sportifs font aussi appel aux propriétés de certains aliments/boissons pour se supplémenter, ou modifier leur alimentation (café, jus de betterave, probiotiques, B-alanine, etc.) pour optimiser leur performance [42,43] et d'autres suppriment des catégories d'aliments de leurs régimes habituels (gluten, produits laitiers, viande...) [44–46]. Comme décrit précédemment, les sucres présents dans l'alimentation augmentent la proportion de bactéries du genre *Streptococcus* qui sont capables de fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique [47]. Des ingestions fréquentes et répétées telles que les prises de boissons d'effort, ainsi que la prise d'aliments à texture collante tels que les gels et barres, sont des facteurs de risques de la maladie carieuse [48]. L'acidité titrable est la mesure la plus pertinente pour connaître le pouvoir érosif d'une boisson ou d'un aliment. Elle permet de connaître l'acidité totale de l'aliment. Plus l'acidité titrable est élevée, plus il faudra de temps pour que le pH salivaire retourne à un pH neutre. Une étude sur les boissons sportives montre une grande variabilité dans le pH et l'acidité titrable entre les différentes marques de boissons [49]. Le pH des boissons varie entre 3,2 et 8,1 et l'acidité titrable entre 0 et 85,8 mmol NaOH/L selon les marques [49]. Le pH critique de l'émail se situe à 5,5. En dessous de ce pH, l'émail est altéré. C'est pourquoi, les boissons d'effort avec un pH

supérieur à 5,5 et une acidité titrable faible sont à privilégier afin de limiter les phénomènes d'érosion dentaire. Il est ainsi conseillé au sportif de se rincer systématiquement la bouche avec de l'eau après la prise d'un supplément sucré [50]. Les choix nutritionnels des sportifs ont donc un impact sur le microbiote oral et par conséquent sur la physiologie de l'organisme. Cela comprend également leurs choix alimentaires quotidiens et régimes spéciaux [51]. Ainsi il a été montré par exemple que l'adoption d'un régime cétogène augmentait l'abondance relative d'*Haemophilus*, *Neisseria* et *Prevotella*, et augmentait celle des *Streptococcus*, altérant ainsi la voie salivaire du NO, comparativement à un régime plus riche en glucides [51].

Stress et sport

Le sportif de haut niveau est régulièrement exposé au stress. La peur de l'échec, l'insatisfaction professionnelle et les blessures, sont de nombreux facteurs provocateurs de stress chez les sportifs de haut niveau [52]. La réaction du corps au stress peut compromettre les mécanismes de défense de l'organisme. L'apparition d'un stress induit des modifications dans l'expression de certaines protéines et hormones telles que le cortisol, l'adrénaline et la noradrénaline [53]. L'augmentation de la production de ces molécules permet la lipolyse, la glycogénolyse et donc la production d'énergie qui pourra être distribuée aux différents organes afin de répondre au stress. Le stress chronique participe à l'apparition de maladies systémiques. Ces modifications locales et systémiques peuvent altérer l'homéostasie du microbiote oral et participer à l'apparition de pathologies telles que les parodontites [54].

Le dosage du cortisol salivaire est utilisé comme indicateur de stress. Le cortisol possède un rôle central dans la réponse physiologique et comportementale lors d'une activité physique et/ou un stress psychologique. Une étude a permis de mettre en évidence une corrélation linéaire entre la concentration de cortisol salivaire et la durée et intensité d'un exercice physique [55]. Des études in vitro ont montré la capacité du biofilm oral à modifier son expression génétique en présence de cortisol. Le traitement du milieu de culture avec la présence de noradrénaline et d'adrénaline stimule la croissance des bactéries *Actinomyces gerencseriae*, *Actinomyces naeslundii*, *Eikenella corrodens* et *Campylobacter gracilis*, mais inhibe la croissance de *Porphyromonas gingivalis* et *Tannerella forsythia* [56]. Dans ce contexte, il est intéressant de constater que le stress psychologique a été associé à un appauvrissement de la diversité bactérienne orale [57]. Ces altérations microbiologiques liées au stress pourraient engendrer des maladies orales, notamment les lésions carieuses, qui paraissent liées à un fort taux de cortisol salivaire [57]. L'augmentation d'autres biomarqueurs associés au stress comme la déhydroépiandrostérone (DHEA) ou l' α -amylase ont également été associés à la sévérité de la maladie parodontale [58].

Traumatismes orofaciaux

Les traumatismes oraux, fréquents dans les sports, notamment de combat avec une prévalence moyenne d'environ

30 %, principalement en boxe, affectent souvent les incisives maxillaires et peuvent entraîner des lésions gingivales et articulaires [59,60]. Le traitement de ces traumatismes est chronophage et coûteux, avec des implications à long terme sur la santé physique et mentale des sportifs [61]. Le port de casques et de protège-dents est crucial pour prévenir ces blessures, le protège-dents jouant un rôle essentiel en réduisant significativement la prévalence des traumatismes dentaires [62]. Une méta-analyse a montré que la prévalence de traumatisme dentaire passait de 48,3 % pour les non-porteurs à 7,8 % chez les porteurs de protège-dents [63].

L'entretien du protège-dent, siège potentiel de développement de micro-organismes buccaux, est crucial. Une étude sur des protège-dents semi-adaptables portés par des joueurs de hockey et de football a révélé la présence importante de levures, moisissures et bactéries, dont *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, et *Candida parapsilosis* [64]. Bien que le protège-dent reste essentiel pour réduire le risque de traumatismes dentaires, son entretien, après chaque utilisation, est nécessaire pour préserver l'équilibre buccal. Les méthodes de nettoyage, physique ou chimique, doivent éviter l'alcool et l'eau chaude pour éviter la dégradation. De nouvelles méthodes de désinfection sont recherchées afin d'éliminer le biofilm sans endommager le protège-dent [65].

Sport, microbiote oral et immunité

Les microbiotes de l'organisme interagissent de façon constante avec l'immunité, ce dialogue permanent maintient l'immunité dans un état d'alerte maîtrisée (veille immunitaire) qui assure une homéostasie favorable de toutes les muqueuses de l'organisme (orales, intestinales, cutanées, génitales...). La salive peut être considérée comme un miroir du corps humain car elle reflète de nombreuses situations physiologiques et pathologies [66,67]. Par son prélèvement relativement aisé, et son caractère non-invasif, elle devient peu à peu un nouvel outil de diagnostic et de surveillance ainsi qu'une méthode de prélèvement alternative aux prélèvements sanguins. L'effort physique intense peut influencer les fonctions immunitaires systémiques et locales et donc peut altérer l'écosystème muco-salivaire et favoriser la pathogénèse. L'utilisation de prélèvements salivaires pourrait permettre d'observer ces modifications et de renseigner sur un état de déséquilibre de manière plus générale [68].

Infections respiratoires des voies aériennes supérieures et immunité

L'étude de biomarqueurs immunitaires et inflammatoires détectés au cours des infections respiratoires des voies aériennes supérieures met en évidence le rôle clé des Immunoglobulines de type A (IgA). Les IgA sont des anticorps sécrétés en abondance au niveau des muqueuses pour assurer leur protection, notamment dans la lutte contre les infections. Plusieurs études montrent que le taux d'IgA sécrétées augmente après un effort intense unique, mais diminue après une période d'entraînement chez les sportifs entraînés [69]. Au cours d'une saison

d'entraînement intensifs réguliers, les athlètes présentent une diminution de la concentration et/ou des taux d'IgA et de protéines anti-microbiennes, les rendant ainsi plus sensibles aux risques d'infections des voies respiratoires supérieures [67]. Une relation entre la diminution des IgA dans la salive et la présence des infections respiratoires des voies aériennes supérieures a été observée, mais elle reste toutefois à être approfondie [69].

Les données actuelles montrent que le virus Epstein-Barr (EBV) pourrait représenter un bon marqueur microbiologique oral, témoin des effets de la pratique sportive sur l'immunité. EBV est un virus de la famille des herpès virus, il réside à vie notamment dans la cavité orale grâce à l'alternance de phases d'infections actives (réactivations) et de phases silencieuses de latence. Plusieurs études documentent la réactivation orale d'EBV chez des individus pratiquant du rugby, du football, de la natation ou de la course à pied [70–73]. Il est proposé que, chez ces pratiquants, la réduction de la production d'IgA soit responsable de la réactivation d'EBV au niveau salivaire [70], cependant ces résultats n'ont pas été confirmés [72]. Les niveaux sériques d'IgA anti-EBV sont également corrélés aux niveaux salivaires de différentes bactéries comme *Streptococcus sanguinis* (complexe jaune) et *Capnocytophaga sputigena* (complexe vert) [74,75]. Ce schéma pourrait être également influencé par la composition du microbiote oral, dans la mesure où plusieurs études indiquent que la bactérie *Porphyromonas gingivalis*, (complexe rouge de la théorie de Socransky et al.) pourrait être impliquée [8]. Ces éléments suggèrent que la réactivation d'EBV au niveau salivaire pourrait refléter un état général immunitaire, notamment associé à la pratique sportive [71].

Santé orale et performances

Il est actuellement reconnu qu'une mauvaise santé bucco-dentaire, qui se traduit par une inflammation et des douleurs dentaires, a des répercussions négatives sur les performances sportives [32,34]. Parmi des athlètes, 5 à 18 % estiment qu'un mauvais état de santé bucco-dentaire affecte négativement leur entraînement ou leur compétition [32,34]. Plus de 40 % sont gênés par leur santé bucco-dentaire, 20 à 50 % estiment qu'elle a un impact sur leur vie quotidienne, 35 % sur la prise alimentaire, et 15 % sur la récupération [34]. Les sports les plus touchés sont la natation et le football [67]. Une mauvaise santé orale impacte indirectement la santé psychosociale des sportifs en réduisant leur qualité de vie, leur estime de soi et leur confiance en eux. Par ailleurs, la parodontite a été associée à une diminution des scores de condition physique ainsi que de la force de préhension et de la vitesse de marche chez des personnes âgées [76,77]. Les problèmes de santé bucco-dentaires semblent être associés à un déclin plus rapide de la forme physique liée à l'âge [77].

Conclusion

Si l'activité physique régulière semble favorable à un bon état de santé bucco-dentaire et à un microbiote symbiotique, sa pratique intensive pourrait modifier ce

constat. Les sportifs de haut niveau sont ainsi souvent sujets à des pathologies bucco-dentaires ainsi qu'à l'apparition d'une dysbiose orale. De nombreux facteurs environnementaux et comportementaux peuvent être impliqués dans ce processus. Les changements immunitaires inhérents à l'entraînement d'endurance, un régime alimentaire composé de nombreuses suppléments à l'effort, le stress, le port d'un protège-dent ainsi qu'un manque de suivi bucco-dentaire sont des paramètres fréquemment associés aux déséquilibres oraux. Les modifications du système immunitaire et du microbiote oral pourraient refléter un changement d'état général lié à l'entraînement intensif, et le suivi du milieu oral des sportifs en lien avec les infections ou pathologies sont des pistes de recherche à venir. D'avantage d'études sur le lien entre les interactions du microbiote oral, la santé orale et la performance sportive sont nécessaires afin de proposer ultérieurement des remédiations.

Points essentiels

- Le microbiote oral est un écosystème fragile et complexe, subissant de fortes variations quotidiennes.
- La stabilité du microbiote oral est essentielle pour limiter l'apparition de maladies bucco-dentaires.
- Les athlètes de haut niveau sont considérés comme une population à risque de maladies bucco-dentaires.
- Une relation bidirectionnelle entre performances sportives et état de santé bucco-dentaire existe et est à prendre en compte dans la gestion globale de l'athlète.

Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

References

- [1] Kilian M, Chapple ILC, Hannig M, Marsh PD, Meuric V, Pedersen AML, et al. The oral microbiome - an update for oral healthcare professionals. *Br Dent J* 2016;221:657–66, <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.865>.
- [2] Li X, Liu Y, Yang X, Li C, Song Z. The oral microbiota: community composition, influencing factors, pathogenesis, and interventions. *Front Microbiol* 2022;13:895537, <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.895537>.
- [3] Peng X, Cheng L, You Y, Tang C, Ren B, Li Y, et al. Oral microbiota in human systematic diseases. *Int J Oral Sci* 2022;14:14, <http://dx.doi.org/10.1038/s41368-022-00163-7>.
- [4] Arweiler NB, Netuschil L. The oral microbiota. *Adv Exp Med Biol* 2016;902:45–60, http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-31248-4_4.
- [5] Sudhakara P, Gupta A, Bhardwaj A, Wilson A. Oral dysbiotic communities and their implications in systemic diseases. *Dent J* 2018;6:10, <http://dx.doi.org/10.3390/dj6020010>.
- [6] Needleman I, Ashley P, Fine P, Haddad F, Loosemore M, de Medici A, et al. Oral health and elite sport performance. *Br J Sports Med* 2015;49:3–6, <http://dx.doi.org/10.1136/bjsports-2014-093804>.
- [7] Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu W-H, et al. The human oral microbiome. *J Bacteriol* 2010;192:5002–17, <http://dx.doi.org/10.1128/JB.00542-10>.
- [8] Radaic A, Kapila YL. The oralome and its dysbiosis: new insights into oral microbiome-host interactions. *Comput Struct Biotechnol J* 2021;19:1335–60, <http://dx.doi.org/10.1016/j.csbj.2021.02.010>.
- [9] Zhang Y, Wang X, Li H, Ni C, Du Z, Yan F. Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomed Pharmacother* 2018;99:883–93, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.146>.
- [10] Santonocito S, Giudice A, Polizzi A, Troiano G, Merlo EM, Sclafani R, et al. A cross-talk between diet and the oral microbiome: balance of nutrition on inflammation and immune system's response during periodontitis. *Nutrients* 2022;14:2426, <http://dx.doi.org/10.3390/nu14122426>.
- [11] Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998;25:134–44, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x>.
- [12] Abranches J, Zeng L, Kajfasz JK, Palmer SR, Chakraborty B, Wen ZT, et al. Biology of oral streptococci. *Microbiol Spectr* 2018;6, <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0042-2018>.
- [13] Aja E, Mangar M, Fletcher HM, Mishra A. Filifactor alois: recent insights and advances. *J Dent Res* 2021;100:790–7, <http://dx.doi.org/10.1177/00220345211000656>.
- [14] OMS. Selon l'OMS, le défaut de soins bucco-dentaires touche près de la moitié de la population mondiale. <https://www.who.int/fr/news/item/18-11-2022-who-highlights-oral-health-neglect-affecting-nearly-half-of-the-world-s-population> (accédé le 05 décembre 2023).
- [15] OMS. Maladies bucco-dentaires : l'OMS/Europe appelle à agir d'urgence alors que la région européenne enregistre les taux de prévalence les plus élevés au monde. <https://www.who.int/europe/fr/news/item/20-04-2023-who-europe-calls-for-urgent-action-on-oral-disease-as-highest-rates-globally-are-recorded-in-european-region> (accédé le 05 décembre 2023).
- [16] Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17030, <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2017.30>.
- [17] Belda-Ferre P, Alcaraz LD, Cabrera-Rubio R, Romero H, Simón-Soro A, Pignatelli M, et al. The oral metagenome in health and disease. *ISME J* 2012;6:46–56, <http://dx.doi.org/10.1038/ismej.2011.85>.
- [18] Struzycka I. The oral microbiome in dental caries. *Pol J Microbiol* 2014;63:127–35.
- [19] OMS. Santé bucco-dentaire. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/oral-health> (accédé le 05 décembre 2023).
- [20] Ministère de la Santé et de la Prévention. <https://sante.gouv.fr/prevention-en-sante/preserver-sa-sante/article/sante-bucco-dentaire> (accédé le 05 décembre 2023).
- [21] Kumar PS. Microbial dysbiosis: the root cause of periodontal disease. *J Periodontol* 2021;92:1079–87, <http://dx.doi.org/10.1002/JPER.21-0245>.
- [22] Yost S, Duran-Pinedo AE, Teles R, Krishnan K, Frias-Lopez J. Functional signatures of oral dysbiosis during periodontitis progression revealed by microbial metatranscriptome analysis. *Genome Med* 2015;7:27, <http://dx.doi.org/10.1186/s13073-015-0153-3>.
- [23] Nemoto T, Shiba T, Komatsu K, Watanabe T, Shimogishi M, Shibasaki M, et al. Discrimination of bacterial community structures among healthy, gingivitis, and periodontitis statuses through integrated metatranscriptomic and network analyses. *mSystems* 2021;6:e0088621, <http://dx.doi.org/10.1128/mSystems.00886-21>.

- [24] Slots J. Periodontal herpesviruses: prevalence, pathogenicity, systemic risk. *Periodontol* 2015;69:28–45, <http://dx.doi.org/10.1111/prd.12085>.
- [25] Olivieri CV, Raybaud H, Tonoyan L, Abid S, Marsault R, Chevalier M, et al. Epstein-Barr virus-infected plasma cells in periodontitis lesions. *Microb Pathog* 2020;143:104128, <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104128>.
- [26] Darby I. Risk factors for periodontitis & peri-implantitis. *Periodontol* 2022;90:9–12, <http://dx.doi.org/10.1111/prd.12447>.
- [27] Huttunen M, Kämppi A, Soudunsaari A, Pääkkilä J, Tjäderhane L, Laitala M-L, et al. The association between dental caries and physical activity, physical fitness, and background factors among Finnish male conscripts. *Odontology* 2023;111:192–200, <http://dx.doi.org/10.1007/s10266-022-00717-5>.
- [28] Forrest JO. The dental condition of Olympic Games contestants—a pilot study, 1968. *Dent Pract Dent Rec* 1969;20:95–101.
- [29] Domitti SS. [Importance of dentistry in sports]. *Bol Fac Odontol Piracicaba* 1969;31:15–7.
- [30] Vougiouklakis G, Tzoutzas J, Farmakis E-T, Farmakis E-E, Antoniadou M, Mitsa A. Dental data of the Athens 2004 Olympic and Paralympic Games. *Int J Sports Med* 2008;29:927–33, <http://dx.doi.org/10.1055/s-2008-1038489>.
- [31] Yang X-J, Schamach P, Dai J-P, Zhen X-Z, Yi B, Liu H, et al. Dental service in 2008 Summer Olympic Games. *Br J Sports Med* 2011;45:270–4, <http://dx.doi.org/10.1136/bjism.2010.075283>.
- [32] Ashley P, Di Iorio A, Cole E, Tandy A, Needleman I. Oral health of elite athletes and association with performance: a systematic review. *Br J Sports Med* 2015;49:14–9, <http://dx.doi.org/10.1136/bjsports-2014-093617>.
- [33] Al-Shamlan SO, Mohammad M, Papandreou D. Oral health status of athletes with intellectual disabilities: a review. *Open Access Maced J Med Sci* 2019;7:2044–9, <http://dx.doi.org/10.3889/oamjms.2019.539>.
- [34] Merle CL, Wuestenfeld JC, Fenkse F, Wolfarth B, Haak R, Schmalz G, et al. The significance of oral inflammation in elite sports: a narrative review. *Sports Med Int Open* 2022;6:E69–79, <http://dx.doi.org/10.1055/a-1964-8538>.
- [35] Niinimaa V, Cole P, Mintz S, Shephard RJ. The switching point from nasal to oronasal breathing. *Respir Physiol* 1980;42:61–71, [http://dx.doi.org/10.1016/0034-5687\(80\)90104-8](http://dx.doi.org/10.1016/0034-5687(80)90104-8).
- [36] Daviskas E, Gonda I, Anderson SD. Local airway heat and water vapour losses. *Respir Physiol* 1991;84:115–32, [http://dx.doi.org/10.1016/0034-5687\(91\)90023-c](http://dx.doi.org/10.1016/0034-5687(91)90023-c).
- [37] Chicharro JL, Lucía A, Pérez M, Vaquero AF, Ureña R. Saliva composition and exercise. *Sports Med* 1998;26:17–27, <http://dx.doi.org/10.2165/00007256-199826010-00002>.
- [38] Tanabe-Ikegawa M, Takahashi T, Churei H, Mitsuyama A, Ueno T. Interactive effect of rehydration with diluted sports drink and water gargling on salivary flow, pH, and buffering capacity during ergometer exercise in young adult volunteers. *J Oral Sci* 2018;60:269–77, <http://dx.doi.org/10.2334/josnusd.17-0183>.
- [39] Bishop NC, Blannin AK, Armstrong E, Rickman M, Gleeson M. Carbohydrate and fluid intake affect the saliva flow rate and IgA response to cycling. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32:2046–51, <http://dx.doi.org/10.1097/00005768-200012000-00013>.
- [40] Marsh PD, Do T, Beighton D, Devine DA. Influence of saliva on the oral microbiota. *Periodontol* 2016;70:80–92, <http://dx.doi.org/10.1111/prd.12098>.
- [41] Mulic A, Tveit AB, Songe D, Sivertsen H, Skaare AB. Dental erosive wear and salivary flow rate in physically active young adults. *BMC Oral Health* 2012;12:8, <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6831-12-8>.
- [42] Vicente-Salar N, Santos-Sánchez G, Roche E. Nutritional ergogenic aids in racquet sports: a systematic review. *Nutrients* 2020;12:2842, <http://dx.doi.org/10.3390/nu12092842>.
- [43] Vicente-Salar N, Fuster-Muñoz E, Martínez-Rodríguez A. Nutritional ergogenic aids in combat sports: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients* 2022;14:2588, <http://dx.doi.org/10.3390/nu14132588>.
- [44] Parnell JA, Wagner-Jones K, Madden RF, Erdman KA. Dietary restrictions in endurance runners to mitigate exercise-induced gastrointestinal symptoms. *J Int Soc Sports Nutr* 2020;17:32, <http://dx.doi.org/10.1186/s12970-020-00361-w>.
- [45] Graybeal AJ, Kreutzer A, Willis JL, Braun-Trocchio R, Moss K, Shah M. The impact of dieting culture is different between sexes in endurance athletes: a cross-sectional analysis. *BMC Sports Sci Med Rehabil* 2022;14:157, <http://dx.doi.org/10.1186/s13102-022-00549-4>.
- [46] Devrim-Lanpir A, Hill L, Knechtle B. Efficacy of popular diets applied by endurance athletes on sports performance: beneficial or detrimental? A narrative review. *Nutrients* 2021;13:491, <http://dx.doi.org/10.3390/nu13020491>.
- [47] Baskan A, Zorba E. Examination of some bacteria types in the oral microbiota of athletes and sedentary individuals. *Pak J Med Health Sci* 2022;16:423–8, <http://dx.doi.org/10.53350/pjmhs22162423>.
- [48] Gupta P, Gupta N, Pawar AP, Birajdar SS, Natt AS, Singh HP. Role of sugar and sugar substitutes in dental caries: a review. *ISRN Dent* 2013;2013:519421, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/519421>.
- [49] Sport & Exercise Medicine Switzerland. Osmolality, pH, and titratable acidity of sports drinks on the Swiss market. *SEMS-J* 2018. <https://sems-journal.ch/3852> (accédé le 05 décembre 2023).
- [50] Needleman I, Ashley P, Fairbrother T, Fine P, Gallagher J, Kings D, et al. Nutrition and oral health in sport: time for action. *Br J Sports Med* 2018;52:1483–4, <http://dx.doi.org/10.1136/bjsports-2017-098919>.
- [51] Murtaza N, Burke LM, Vlahovich N, Charlesson B, O'Neill HM, Ross ML, et al. Analysis of the effects of dietary pattern on the oral microbiome of elite endurance athletes. *Nutrients* 2019;11, <http://dx.doi.org/10.3390/nu11030614>.
- [52] Rice SM, Gwyther K, Santesteban-Echarri O, Baron D, Górczynski P, Gouttebarge V, et al. Determinants of anxiety in elite athletes: a systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med* 2019;53:722–30, <http://dx.doi.org/10.1136/bjsports-2019-100620>.
- [53] Paudel D, Uehara O, Giri S, Yoshida K, Morikawa T, Kitagawa T, et al. Effect of psychological stress on the oral-gut microbiota and the potential oral-gut-brain axis. *Jpn Dent Sci Rev* 2022;58:365–75, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdsr.2022.11.003>.
- [54] Reners M, Brex M. Stress and periodontal disease. *Int J Dent Hyg* 2007;5:199–204, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-5037.2007.00267.x>.
- [55] Gatti R, De Palo EF. An update: salivary hormones and physical exercise. *Scand J Med Sci Sports* 2011;21:157–69, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0838.2010.01252.x>.
- [56] Roberts A, Matthews JB, Socransky SS, Freestone PPE, Williams PH, Chapple ILC. Stress and the periodontal diseases: effects of catecholamines on the growth of periodontal bacteria in vitro. *Oral Microbiol Immunol* 2002;17:296–303, <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-302X.2002.170506.x>.
- [57] Paudel D, Kuramitsu Y, Uehara O, Morikawa T, Yoshida K, Giri S, et al. Proteomic and microbiota analyses of the oral cavity during psychological stress. *PLoS One* 2022;17:e0268155, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0268155>.

- [58] Cakmak O, Tasdemir Z, Aral CA, Dundar S, Koca HB. Gingival crevicular fluid and saliva stress hormone levels in patients with chronic and aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 2016;43:1024–31, <http://dx.doi.org/10.1111/jcpe.12614>.
- [59] Gallagher J, Ashley P, Petrie A, Needleman I. Oral health and performance impacts in elite and professional athletes. *Community Dent Oral Epidemiol* 2018;46:563–8, <http://dx.doi.org/10.1111/cdoe.12392>.
- [60] Polmann H, Melo G, Conti Réus J, Domingos FL, de Souza BDM, Padilha AC, et al. Prevalence of dentofacial injuries among combat sports practitioners: a systematic review and meta-analysis. *Dent Traumatol* 2020;36:124–40, <http://dx.doi.org/10.1111/edt.12508>.
- [61] Andersson L. Epidemiology of traumatic dental injuries. *J Endod* 2013;39:52–5, <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2012.11.021>.
- [62] Mordini L, Lee P, Lazaro R, Biagi R, Giannetti L, Sport, et al. Sport and dental traumatology: surgical solutions and prevention. *Dent J (Basel)* 2021;9:33, <http://dx.doi.org/10.3390/dj9030033>.
- [63] Fernandes LM, Neto JCL, Lima TFR, Magno MB, Santiago BM, Cavalcanti YW, et al. The use of mouthguards and prevalence of dento-alveolar trauma among athletes: a systematic review and meta-analysis. *Dent Traumatol* 2019;35:54–72, <http://dx.doi.org/10.1111/edt.12441>.
- [64] Glass RT, Wood CR, Bullard JW, Conrad RS. Possible disease transmission by contaminated mouthguards in two young football players. *Gen Dent* 2007;55:436–40.
- [65] Hayashi H, Naiki Y, Murakami M, Oishi A, Takeuchi R, Nakagawa M, et al. Effects of cleaning sports mouthguards with ethylene-vinyl acetate on oral bacteria. *Peer J* 2022;10:e14480, <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.14480>.
- [66] Maki KA, Kazmi N, Barb JJ, Ames N. The oral and gut bacterial microbiomes: similarities, differences, and connections. *Biol Res Nurs* 2021;23:7–20, <http://dx.doi.org/10.1177/1099800420941606>.
- [67] Tripodi D, Cosi A, Fulco D, D'Ercole S. The impact of sport training on oral health in athletes. *Dent J (Basel)* 2021;9:51, <http://dx.doi.org/10.3390/dj9050051>.
- [68] Lindsay A, Costello JT. Realising the potential of urine and saliva as diagnostic tools in sport and exercise medicine. *Sports Med* 2017;47:11–31, <http://dx.doi.org/10.1007/s40279-016-0558-1>.
- [69] Drummond LR, Campos HO, Drummond FR, de Oliveira GM, Fernandes JGRP, Amorim RP, et al. Acute and chronic effects of physical exercise on IgA and IgG levels and susceptibility to upper respiratory tract infections: a systematic review and meta-analysis. *Pflugers Arch* 2022;474:1221–48, <http://dx.doi.org/10.1007/s00424-022-02760-1>.
- [70] Yamauchi R, Shimizu K, Kimura F, Takemura M, Suzuki K, Akama T, et al. Virus activation and immune function during intense training in rugby football players. *Int J Sports Med* 2011;32:393–8, <http://dx.doi.org/10.1055/s-0031-1271674>.
- [71] Gleeson M, Pyne DB, Austin JP, Lynn Francis J, Clancy RL, McDonald WA, et al. Epstein-Barr virus reactivation and upper-respiratory illness in elite swimmers. *Med Sci Sports Exerc* 2002;34:411–7, <http://dx.doi.org/10.1097/00005768-200203000-00005>.
- [72] Perkins E, Davison G. Epstein-Barr Virus (EBV) DNA as a potential marker of in vivo immunity in professional footballers. *Res Q Exerc Sport* 2022;93:861–8, <http://dx.doi.org/10.1080/02701367.2021.1932707>.
- [73] Cox AJ, Gleeson M, Pyne DB, Saunders PU, Clancy RL, Fricker PA. Valtrex therapy for Epstein-Barr virus reactivation and upper respiratory symptoms in elite runners. *Med Sci Sports Exerc* 2004;36:1104–10, <http://dx.doi.org/10.1249/01.mss.0000131957.40985.2b>.
- [74] Liao Y, Zhang J-B, Lu L-X, Jia Y-J, Zheng M-Q, Debelius JW, et al. Oral microbiota alteration and roles in Epstein-Barr virus reactivation in nasopharyngeal carcinoma. *Microbiol Spectr* 2023;11:e0344822, <http://dx.doi.org/10.1128/spectrum.03448-22>.
- [75] Ueda S, Uchiyama S, Azzi T, Gysin C, Berger C, Bernasconi M, et al. Oropharyngeal group A streptococcal colonization disrupts latent Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis* 2014;209:255–64, <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jit428>.
- [76] Hämmäläinen P, Rantanen T, Keskinen M, Meurman JH. Oral health status and change in handgrip strength over a 5-year period in 80-year-old people. *Gerodontology* 2004;21:55–60, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1741-2358.2004.00022.x>.
- [77] Kimble R, McLellan G, Lennon LT, Papacosta AO, Weyant RJ, Kapila Y, et al. Association between oral health markers and decline in muscle strength and physical performance in later life: longitudinal analyses of two prospective cohorts from the UK and the USA. *Lancet Healthy Longev* 2022;3:e777–88, [http://dx.doi.org/10.1016/S2666-7568\(22\)00222-7](http://dx.doi.org/10.1016/S2666-7568(22)00222-7).

Santé orale et performances sportives : les spécificités de la prise en charge du patient-athlète



Margaux DUBOIS

ODJ-RH
Dentisterie Restauratrice - Endodontie,
UPR Odontologie, Université Côte d'Azur (UNICA), Nice
Laboratoire de Microbiologie Orale, Immunothérapie et Santé (MICORALIS),
EUR Healthy, UNICA, Nice
Pôle d'Odontologie, Institut de Médecine Bucco-Dentaire, Centre Hospitalier
Universitaire de Nice, Nice



Agathe DEROCHE

Exercice libéral, Nice



Morgane ORTIS

Docteure (PhD)
Laboratoire de Microbiologie Orale, Immunothérapie et Santé (MICORALIS),
EUR Healthy, UNICA, UPR Odontologie



Marie-France BERTRAND

PU-RH
Dentisterie Restauratrice - Endodontie,
UPR Odontologie, Université Côte d'Azur (UNICA), Nice
Laboratoire de Microbiologie Orale, Immunothérapie et Santé (MICORALIS),
EUR Healthy, UNICA, Nice
Pôle d'Odontologie, Institut de Médecine Bucco-Dentaire, Centre Hospitalier
Universitaire de Nice, Nice

L'athlète de haut niveau, par son environnement spécifique, exige une attention particulière. Comprendre la relation entre santé orale et performance sportive permet de réaliser une prise en charge personnalisée en fonction du sport pratiqué.

La santé orale de l'athlète

Comme dans la population générale, l'érosion dentaire, la maladie carieuse, l'inflammation gingivale et la maladie parodontale sont les affections les plus fréquemment retrouvées chez les athlètes [1].

Les nageurs professionnels sont notamment des sujets à un risque élevé d'érosion et d'hypersensibilité dentaire. La chloration de l'eau des piscines oxyde les matières organiques et tue les micro-organismes. Une étude chez des nageurs de compétition indique une prévalence de l'érosion dentaire de 48,2 % et de 69,6 % pour l'hypersensibilité [2]. Une autre étude a également montré que les nageurs professionnels sont plus exposés que les non professionnels [3] (fig. 1).

L'évaluation de la santé orale des footballeurs professionnels du FC Barcelone a indiqué un indice CAOD moyen de 5,7 ± 4,1 [4].

Un examen clinique réalisé sur les jeunes footballeurs du club d'Atalanta Bergame a montré une proportion plus élevée de leucomes précaries (42,85 % versus 2 %) [5]. L'enquête sur leurs habitudes d'hygiène orale a également montré qu'ils se brossaient moins souvent les dents que les jeunes non sportifs. Un examen clinique pratiqué sur des footballeurs professionnels adultes au Royaume-Uni a révélé que 37 % étaient porteurs de caries actives. Les habitudes alimentaires, l'activité à haute intensité ainsi que les mauvaises habitudes d'hygiène orale expliquaient ces mauvais résultats [6].

Plusieurs études ont révélé que 30 à 60 % des athlètes déclarent des saignements gingivaux ; 60 à 97 % ont un score d'inflammation gingivale de 1-2 après examen clinique ; 58 % à 64 % sont atteints de gingivite ; 5 à 40 % ont des signes de parodontite de score 3-4, avec une perte d'attache supérieure à 3,5 mm [7]. Une étude récente a encore montré chez des joueurs de football professionnels au Portugal une prévalence de 40,9 % de parodontite dont 32 % de stade 1, 5 % de stade 2 et 5 % de stade 3 [8].

Une enquête auprès de 352 athlètes britanniques a révélé que 1 à 3 % d'entre eux avaient déjà souffert d'une péri-coronarite aiguë [9]. D'ailleurs, une étude menée aux Pays-Bas, avant les Jeux Olympiques de Rio, a révélé que 22 % des athlètes avaient reçu le conseil de faire extraire au moins une dent de sagesse afin de prévenir les douleurs causées par une éventuelle péri-coronarite, tandis que 1,8 % d'entre eux avaient besoin d'au moins un traitement endodontique [10]. Les deux enquêtes conduites sur les athlètes britanniques ont montré que 3 à 8 % d'entre eux présentaient des problèmes d'origine endodontique [6, 9].



1. Lésions d'usures érosives en antérieur (a) où l'on remarque le maintien d'un émail circulaire et en postérieur (b) avec la présence de restaurations en surcointours.

Odontologie et sport

Maladies parodontales Gingivite de 30 % à 97 % Parodontite de 5 % à 41 %	Érosion Fréquent chez les nageurs réguliers De 36 % à 85 % des sportifs	Maladie carieuse Proportion élevée de 15 % à 75 %	Traumatismes dentaires 30 % pour les sports de combat 27 % pour les sports de contact	Péricoronarite Fréquemment évoquée (4,6 % à 39 %) Symptômes ou nécessité d'extraction
---	--	---	--	--

2. Principales pathologies orales retrouvées chez les sportifs et leurs prévalences toutes études confondues [1, 7].

Tableau 1 - Dépenses énergétiques moyennes en fonction du sport pratiqué (Source : INSEP 2022)

Type d'activité	kcal/h
Volleyball	250
Tennis	450
Basketball	570
Football	570
Judo	750
Natation (crawl)	750
Course à pied 12 km/h	900
Squash	900

Des méta-analyses ont indiqué une prévalence globale des traumatismes dento-faciaux pour les sports de combat de 30 %, le jiu-jitsu étant le sport le plus à risque (53 %) [11] et de 27 % pour les sports de contact, le rugby étant le sport le plus à risque (37 %) [12] (fig. 2).

La performance sportive et son implication sur la santé orale

LA NUTRITION

La dépense énergétique d'un athlète peut se révéler très supérieure à celle d'un adulte sédentaire (2200-2600 kcal/jour) en fonction du sport pratiqué (tableau 1) [13].

Les glucides apportent l'énergie aux muscles en constituant les réserves en glycogène. L'apport peut prendre la forme de boissons, de barres, de gels, de compotes ou de fruits secs. Un marathonien pendant sa course s'alimente par exemple avec 80 g de glucides par heure en moyenne.

L'augmentation de la température pendant l'exercice est régulée par la transpiration, ce qui génère une perte d'eau et

Tableau 2 - pH des boissons sportives [14]

Produits	Forme	pH
Gatorade, Citrus Mix flavor	Boisson énergétique	4,2
Gatorade, Cool Blue	Boisson énergétique	3,2
Hig5, EnergySource Summer Fruits flavor	Poudre pour boisson énergétique	3,9
Hig5, EnergySource Orange flavor	Poudre pour boisson énergétique	4
Isostar, Fast-hydration, Fresh	Boisson isotonique	3,9
Isostar, Hydrate & perform, Lemon	Poudre pour boisson isotonique	4
Powerade, Blood-Orange	Boisson isotonique	2,6
Powerade, Orange	Boisson isotonique	2,6
PowerAid, Isoactive, Red Fruit Punch	Poudre pour boisson isotonique	3,8
Verofit, Isotonic, Blutorange	Poudre pour boisson isotonique	3,2
Sponsor, Competition Ultra, Neutral	Poudre pour boisson hypotonique	6,2
Red Bull	Boisson énergétique	3,4
Monster, Energy	Boisson énergétique	3,5

d'électrolytes. Ainsi, 2 % de déshydratation sont à l'origine de la baisse de 20 % des aptitudes aérobiques (INSEP 2022). Lorsque la déshydratation est importante et continue, l'eau plasmatique est alors mise à contribution, ce qui peut impacter la formation de salive : il est ainsi recommandé de boire, à petites gorgées, de 1 à 1,5 l par heure d'effort pour maintenir un niveau correct d'hydratation.

Très souvent acides et sucrées, les boissons de sport permettent aux athlètes de compenser les effets de la déshydratation (fig. 3 et tableau 2) [14]. Une étude récente a comparé l'influence de la réhydratation avec des boissons du sport diluées et du



3. Boissons sportives couramment utilisées en pratique sportive. (Sources : sites marchands)

gargarisme à l'eau [15]. La baisse du pH salivaire était supprimée pour les personnes qui s'étaient rincé la bouche après l'effort ainsi que pour celles ayant consommé une boisson diluée 1,5 fois. L'effet tampon de la salive diminuait après la consommation d'une boisson de sport, même diluée.

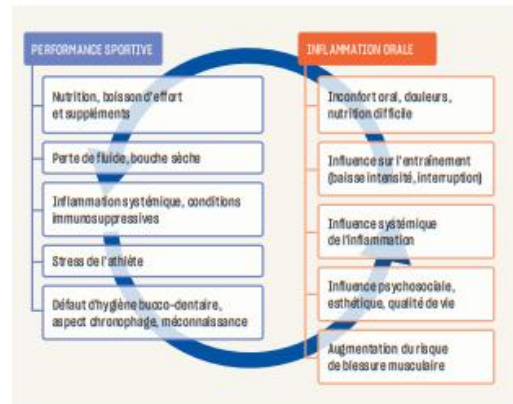
LE STRESS

Le lien entre stress et maladie parodontale a été évoqué en rapport avec la diminution de la réponse immunitaire et les modifications comportementales [16]. Lambert et De Carvalho indiquent dans leur revue que 28 à 40 % des sujets déclarent avoir eu une altération de leur qualité de vie à la suite de problèmes bucco-dentaires et 5 à 18 % signalent une influence négative sur leurs performances sportives [17]. En 2019, une revue analytique sur les déterminants de l'anxiété chez les sportifs de haut niveau a évoqué plusieurs facteurs de risque principaux : l'insatisfaction professionnelle, le sexe (les femmes athlètes sont plus anxieuses que les hommes), l'âge (les jeunes athlètes sont plus anxieux) et les blessures (conséquences ou causes de l'anxiété) [18]. Une autre étude a indiqué que 8 % des athlètes souffraient d'anxiété ou de dépression. Bien que la relation stress/état bucco-dentaire/athlète soit complexe et multifactorielle, de plus en plus d'auteurs s'y intéressent.

Les facteurs oraux et leur implication dans la performance sportive

LA SALIVE ET L'INFLAMMATION

Les interactions entre biomarqueurs microbiologiques, immunitaires et inflammatoires oraux chez les sportifs demeurent assez peu étudiées. Des associations ont été observées entre la diminution des concentrations d'IgA salivaire et la susceptibilité aux infections des voies respiratoires supérieures. En effet, l'exercice physique intense et régulier conduit à une

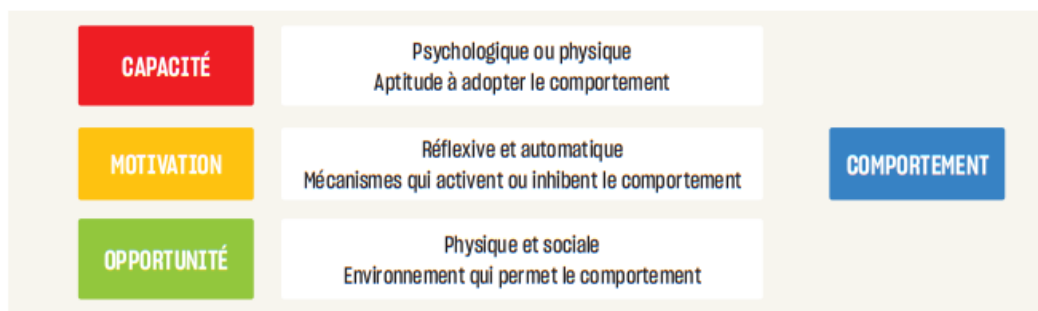


4. L'inflammation orale et la performance sportive, une interrelation complexe et multifactorielle [20].

diminution des niveaux d'IgA et des protéines antimicrobiennes dans la salive, exposant ainsi les athlètes à un risque accru d'infections [19]. D'autres études se sont intéressées à la relation entre l'inflammation liée aux problèmes parodontaux et la présence de tendinopathies. Face à la répétition de ce type de blessures, une consultation dentaire doit être envisagée afin de dépister une possible cause d'inflammation systémique, gingivite ou parodontite [20] (fig. 4).

L'OCCLUSION DENTAIRE

L'articulation temporo-mandibulaire, véritable liaison anatomo-fonctionnelle entre la mandibule et la base du crâne, objective l'existence d'un lien entre occlusion et posture. Une position d'intercuspidie maximale équilibrée et homogène chez l'athlète renforce son équilibre et sa relaxation musculaire. Une équipe de chercheurs français a étudié la répercussion éventuelle de l'occlusion dentaire sur la stabilisation de la posture ainsi que le regard de tireurs professionnels. L'amélioration de la stabilisation posturale via l'occlusion était corrélée à une performance de tirs supérieure [21]. Les performances musculaires d'athlètes féminines (étudiantes en sciences du sport) ont été analysées en simulant différentes conditions occlusales : une occlusion déséquilibrée artificiellement induite a provoqué une altération immédiate et significative des performances musculaires [22]. Le même type d'étude a été conduit sur des jeunes rameurs du Pôle France Aviron, en utilisant des dispositifs de perturbation de l'occlusion simulant les malocclusions dentaires [23]. La déviation latérale de la mandibule induisait une contraction asymétrique des muscles érecteurs du rachis chez 85,7 % d'entre eux, ainsi qu'une diminution de la puissance musculaire de 17,7 %. Les auteurs de cette étude ont émis l'hypothèse que la perte de puissance est induite par une contraction asymétrique des muscles qui ont perdu le contrôle postural.



5. Modèle COM-B (capacité, opportunité et motivation, comportement) [26].

Pratiquez-vous un sport? Lequel, à quelle fréquence et à quel niveau ?
Adaptez-vous votre alimentation à vos objectifs sportifs? Quelles sont vos habitudes alimentaires?
Prenez-vous des boissons sucrées (diluées ou non?), du gel, des compléments alimentaires?
Avez-vous subi des traumatismes liés au sport? Portez-vous un protège-dents? Si oui, de quel type?
Êtes-vous blessé en ce moment?
Êtes-vous stressé par vos objectifs sportifs?
Pensez-vous que le sport influence votre santé bucco-dentaire?
Pensez-vous que votre santé orale influence vos performances?
Avez-vous déjà été ennuyé par des douleurs dentaires lors de vos entraînements ou compétitions?
Avez-vous des compétitions à venir dans votre calendrier?

6. Adaptation du questionnaire médical au patient athlète.

Dans de nombreux sports, le protège-dents individuel améliore significativement l'équilibre neuromusculaire, en symétrisant le travail du masséter et des muscles temporaux et en autorisant une meilleure répartition des charges occlusales permettant de produire plus de travail musculaire [24]. Un lien entre la position mandibulaire, le changement volumétrique des voies respiratoires et l'amélioration des performances aérobies et anaérobies a été démontré dans une étude récente. La mandibule a été positionnée en protrusion à l'aide d'un protège-dents fait sur-mesure. Les résultats ont montré une augmentation du volume d'air au niveau des voies supérieures de 13 % et au niveau des voies inférieures de 10 % [25].

La prévention bucco-dentaire chez l'athlète

COMMENT PROVOQUER UN CHANGEMENT DE COMPORTEMENT DES ATHLÈTES?

En 2020, Gallagher, Ashley et Needleman ont proposé une méthode d'intervention progressive dédiée aux sportifs de haut niveau. Basée sur le modèle COM-B, l'intervention permet

d'améliorer les connaissances et d'intégrer les bonnes habitudes d'hygiène orale dans la vie quotidienne des sportifs (fig. 5). À la suite de l'application de cette méthode, la note moyenne des connaissances en matière de santé bucco-dentaire est passée de 5,69 à 6,9 (/10) ; l'utilisation de dentifrices au fluor de 12,9 % à 80,4 % ; l'utilisation des brossettes interdentaires et/ou du fil dentaire de 16,2 % à 34. Ces mesures ont permis une diminution des impacts négatifs des problèmes bucco-dentaires sur la performance. Les deux principales sources de motivation retrouvées étaient l'amélioration des performances et de l'apparence, mais pas la bonne santé bucco-dentaire [26].

LE CHIRURGIEN-DENTISTE ET LE PATIENT-ATHLÈTE

La prise en charge dépend du sport pratiqué, des connaissances de l'athlète en santé orale, de sa personnalité, de son immunité et des objectifs poursuivis par l'athlète et son entraîneur. Connaître le profil spécifique de l'athlète va permettre d'appliquer les principes de prévention personnalisée. Un athlète qui se présente en consultation devient un patient-athlète. Un interrogatoire structuré lors de l'anamnèse médicale aide à évaluer et actualiser de façon précise son profil de

risque (fig. 6). En fonction de ses réponses et selon le sport pratiqué, le chirurgien-dentiste va pouvoir adapter les informations transmises et le message de prévention.

Pour un sport d'endurance à haute intensité, le praticien va communiquer sur le risque d'érosion dû à la baisse du taux salivaire et l'augmentation du pH buccal durant l'effort, la nécessité de diluer les boissons, la baisse d'immunité salivaire couplée à une mauvaise hygiène dentaire et une mauvaise hygiène de vie (qualité de sommeil, nutrition), ce qui peut être la cause d'infections et/ou de blessures à répétition.

Pour un sport de combat ou un sport d'équipe, il est important d'informer sur le risque de traumatismes, la nécessité de porter un protège-dents fait sur-mesure, les fonctions que peut avoir ce protège-dents : protection, optimisation de l'équilibre, réservoir d'un produit de prévention.

Pour un sport individuel, en particulier à l'approche d'une échéance de compétition, le chirurgien-dentiste doit évaluer le niveau de stress, rechercher les répercussions buccales comme l'inflammation gingivale, l'apparition de dysfonctions comme le bruxisme ou les tics.

Enfin, pour des sports plus spécifiques, le chirurgien-dentiste se doit d'évaluer la présence d'érosion pour la natation,

l'étalement des restaurations en bouche, la présence d'infections chroniques pour les sports à changement d'altitude et donc de pression.

Conclusion

La prise en charge de l'athlète au cabinet dentaire dépend du sport pratiqué, de ses connaissances en santé orale, de sa personnalité, de son immunité et des exigences liées à sa pratique. Connaître son profil spécifique va permettre d'appliquer les principes d'une médecine bucco-dentaire personnalisée et ainsi d'optimiser la démarche préventive, le diagnostic et la thérapeutique lorsque cela se révèle nécessaire. Le chirurgien-dentiste peut alors s'appuyer sur le modèle de changement de comportement proposé en 2020 pour assurer un suivi préventif et thérapeutique.

MARGAUX DUBOIS@UNIV-COTEDAZUR.FR,
DRAGATHEDEROCHES@GMAIL.COM,
MORGANE ORTIS@UNIV-COTEDAZUR.FR,
MARIE-FRANCE.BERTRAND@UNIV-COTEDAZUR.FR
LES AUTEURS NE DÉCLARENT AUCUN LIEN D'INTÉRÊT

POINTS ESSENTIELS

- Les sportifs de haut niveau présentent un mauvais état de santé bucco-dentaire.
- Leur environnement ainsi que leurs habitudes de vie peuvent nuire à l'état de santé bucco-dentaire.
- Il existe une relation bidirectionnelle entre santé orale et performances sportive.
- Le chirurgien-dentiste est un acteur incontournable dans la prise en charge des athlètes.
- Une connaissance des spécificités du sportif et de sa discipline est nécessaire pour une prise en charge personnalisée.

SÉLECTION BIBLIOGRAPHIQUE

- Ashley P, Di Loro A, Cole E, Tandy A, Needleman J. Oral health of elite athletes and association with performance: a systematic review. *Br J Sports Med*. 2016;49(1):34-9.
- Rao KA, Thomas S, Jumar JK, Narayan V. Prevalence of Dental Hypersensitivity and Dental Erosion among Competitive Swimmers, Kerala, India. *Indian J Community Med*. 2019;44(4):3803.
- D'Ercole S, Teri M, Martinelli D, Tripodi D. The effect of swimming on oral health status: competitive versus non-competitive athletes. *J Appl Oral Sci*. 2018;24(2):107-13.
- Gay-Escoda C, Vieira-Duarte-Pereira DM, Ardevol J, Pruna R, Fernandez J, Valmaseda-Castellón E. Study of the effect of oral health on physical condition of professional soccer players of the Football Club Barcelona. *Med Oral Pathol Oral Chir Buccal*. 2011;16(3):e436-439.
- D'Ercole S, Tripodi D, Rigoldo F, Quaranta F, Amadio P. Analysis of oral health status and of salivary factors in young soccer players: A pilot study. *Med Dalto Sport*. 2013;66:71-80.
- Needleman J, Ashley P, Medhan L, Petrie A, Waller R, McNally S, et al. Poor oral health including active caries in 187 UK professional male football players: clinical dental examination performed by dentists. *Br J Sports Med*. 2016;50(1):41-4.
- Marie CL, Wuestenfeld JD, Fenske E, Wolfarth B, Haak R, Schmalz G, Zebold D. The significance of oral inflammation in elite sports: a narrative review. *Sports Med Int Open*. 2022;6(2):69-79.
- Botelho J, Vicents F, Dias L, Jádice A, Pereira P, Proença L, Machado V, Chambrone L, Mendes JJ. Periodontal Health, Nutrition and Anthropometry in Professional Footballers: A Preliminary Study. *Nutrients*. 2021;13(5):1792.
- Gallagher J, Ashley P, Parrie A, Needleman J. Oral health and performance impacts in elite and professional athletes. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2018;46(3):563-8.
- Kragt L, Moan NH, Van Den Hoogenband OR, Welvis EB. Oral health among Dutch elite athletes prior to Rio 2016. *Phys Sports Med*. 2019;47(3):382-8.
- Polimann H, Melo G, Corti Rius J, Domingos R, de Souza BDM, Padilha AC, et al. Prevalence of dentofacial injuries among combat sports practitioners: a systematic review and meta-analysis. *Dent Traumatol*. 2020;36(2):124-40.
- Oliveira Werlich R, Honnert UR, Silva Bett J, Domingos R, Pauletto P, Dulcinéia Mendes de Souza B, Magee Duque T, Curi Hallal AL, De Luca Canto G. Prevalence of dentofacial injuries in contact sports players: A systematic review and meta-analysis. *Dent Traumatol*. 2020;36(5):477-88.
- Fink HL, Mikesky A. Nutrition du sport. Ed. De Boeck Supérieur. 2018. 560 p.
- Nettler S, Weibel E. Camolality, pH, and titratable acidity of sports drinks on the swiss market. *Swiss Sports & Exercise Medicine*. 2018. 66(4):56-63.
- Tanabe-Ikegawa M, Takahashi T, Churei H, Mtsuyama A, Ueno T. Interactive effect of rehydration with diluted sports drink and water gargling on salivary flow, pH, and buffering capacity during ergometer exercise in young adult volunteers. *J Oral Sci*. 2018;60(2):269-77.
- Reiners M, Brex H. Stress and periodontal disease. *Int J Dent Hyg*. 2007;5(4):199-204.
- Lembert F, De Carvalho B. Impact de la santé bucco-dentaire sur les performances sportives. *Journal de Traumatologie du Sport*. 2018;35(3):168-72.
- Rice SH, Gwyther K, Santesteban-Echarrri D, Baron D, Górczynski P, Gouttebarge V, et al. Determinants of anxiety in elite athletes: a systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med*. 2019;53(1):722-30.
- Drummond UR, Campos HD, Drummond FR, et al. Acute and chronic effects of physical exercise on IgA and IgG levels and susceptibility to upper respiratory tract infections: a systematic review and meta-analysis. *Pflügers Arch*. 2022;474:1221-48.
- Hippen L, Kaux JF, Rompen E, Hénon F. Impact de l'hygiène bucco-dentaire sur le sport. *Revue de la littérature. Journal de Traumatologie du Sport*. 2016. 32:41-5.
- Gangloff P, Louis JP, Perrin PP. Dental occlusion modifies gaze and posture stabilization in human subjects. *Neurosci Lett*. 2000;293(3):203-6.
- Groden S, O'Thanh R, Domken O, Lamy H, Crozier JL. Dental occlusion influences knee muscular performances in asymptomatic females. *J Strength Cond Res*. 2014;28(2):492-8.
- Leroux E, Leroux S, Haton F, Revalec X, Sorel O. Influence of dental occlusion on the athletic performance of young elite rowers: a pilot study. *Clinics (Sao Paulo)*. 2018;73:e453.
- D'Ercole S, Martinelli D, Tripodi D. The Triple Role of Individual Mouthguard in Athlete Health. *Proceedings of the 6th International Congress on Sport Sciences Research and Technology Support*. 2018:132-8.
- Schultz Martins R, Grouard P, Elliott E, Mekary S. Physiological Responses of a Jaw-Positioning Custom-Made Mouthguard on Airway and Their Effects on Athletic Performance. *J Strength Cond Res*. 2020;34(2):422-9.
- Gallagher J, Ashley P, Needleman J. Implementation of a behavioural change intervention to enhance oral health behaviour in elite athletes: a feasibility study. *BMJ Open Sport & Exercise Medicine*. 2020;6(1):e000759.

Publications internationales	Publiées : Dubois M, Delcourt B, Ortis M, Bougault V, Doglio A, Bertrand M-F. Correlation Between the Oral Microbiota and Sports Practice: A Systematic Review. The Cureus Journal of Medical Science, 2025, 17(1): e78168. doi:10.7759/cureus.78168.
	Soumises : Ortis Morgane*, Dubois Margaux*, Bougault Valérie, Legueult Kevin, Fassy Julien, Mari Bernard, Bertrand Marie-France, Lupi Laurence, Doglio Alain. ORASPORT Study Protocol: A Prospective Observational Study on the Impact of Endurance Physical Activity on Oral Microbiology and Immunology
	Soumises : M. Dubois, M. Ortis, E. Dubois, L. Tonoyan, M-F. Bertrand, A. Doglio Multiplex Ultrasensitive Analysis of Salivary Cytokines Reveals Distinct Inflammatory Profile in Dental Caries
Publications nationales	Dubois M, Ortis M, Doglio A, Bougault V. Microbiote oral et santé bucco-dentaire des sportifs : Revue narrative. Cahiers de nutrition et de diététique, 2024, vol. 59, n°4, 233-242
	Dubois M, Deroche A, Ortis M, Bertrand M-F. Santé orale et performances sportives : les spécificités de la prise en charge du patient-athlète. Information Dentaire, 2024, vol. 25, 18-23.
Communications internationales	Dubois M, Ortis M, Doglio A, Chevalier M, Bertrand MF. Validation of immunological and microbiological detection methods in ORAMICAP study. CED/NOF-IADR Oral Health Research Congress (Rhodes), 2023.
	Dubois M, Ortis M, Doglio A, Bertrand MF. Oral immune profile and dental decay: a case- control study. CED/NOF International Association for Dental Research – Oral Health Research Congress (Genève), 2024.
Communications nationales	Dubois M, Ortis M, Doglio A, Chevalier M, Bertrand MF. Validation of the salivary cytokine detection method in the ORAMICAP study. Journées du Collège National des Enseignants en Odontologie Conservatrice, Brest, 2023.
	Ortis M et Dubois M. Étude de la relation entre le sport d’endurance et le microbiote oral. Festival des Sciences de Nice, 2023.
	Dubois M, Ortis M, Doglio A, Bertrand MF. Association entre réponse immunitaire et lésions carieuses : Une étude cas-témoins. Journées du Collège National des Enseignants en Odontologie Conservatrice, Clermont-Ferrand, 2024.
	Dubois M, Ortis M, Borsa L, Doglio A, Lupi L, Conférences de la Journée Mondiale de la Santé Bucco-Dentaire, Nice, 2025.