



**HAL**  
open science

# Étiologie des colorations noires exogènes de l'émail (black stain)

Océane Barraux

► **To cite this version:**

Océane Barraux. Étiologie des colorations noires exogènes de l'émail (black stain). Sciences du Vivant [q-bio]. 2017. dumas-01777876

**HAL Id: dumas-01777876**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01777876v1>**

Submitted on 25 Apr 2018

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0  
International License



UNIVERSITÉ  
**PARIS**  
**DESCARTES**

MEMBRE DE

**U-PC**  
Université Sorbonne  
Paris Cité

## **AVERTISSEMENT**

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'État de docteur en chirurgie dentaire. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

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

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

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

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



UNIVERSITÉ  
**PARIS**  
**DESCARTES**

MEMBRE DE

**U-S-PC**  
Université Sorbonne  
Paris Cité

## UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année 2017

N° 086

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le : 20 décembre 2017

Par

**Océane BARRAUX**

### **Étiologie des colorations noires exogènes de l'email (black stain)**

Dirigée par Mme le Docteur Élisabeth Dursun

JURY

Mme le Professeur Tiphaine Davit-Béal

Président

Mme le Docteur Élisabeth Dursun

Assesseur

Mme le Professeur Céline Gaucher

Assesseur

M. le Docteur Romain Royer

Assesseur





## Tableau des enseignants de la Faculté

DÉPARTEMENTS	DISCIPLINES	PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS	MAÎTRES DE CONFÉRENCES
1	ODONTOLOGIE PÉDIATRIQUE	Mme DAVIT-BEAL Mme VITAL	M. COURSON Mme DURSUN Mme JEGAT Mme SMAIL-FAUGERON Mme VANDERZWALM
	ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE		Mme BENAHMED M. DUNGLAS Mme KAMOUN-GOLDRAT Mme LE NORCY
	SANTÉ COMMUNAUTAIRE ET POPULATIONS SINGULIÈRES	Mme FOLLIGUET	
2	PARODONTOLOGIE	Mme COLOMBIER Mme GOSSET	M. BIOSSE DUPLAN M. GUEZ
	MÉDECINE ET CHIRURGIE BUCCALES	M. MAMAN Mme RADOI	Mme EJEIL M. GAULTIER M. HADIDA M. MOREAU M. NGUYEN
3	ODONTOLOGIE CONSERVATRICE ENDODONTIE	Mme BOUKPESSI Mme CHEMLA	Mme BERES (MCU associée) Mme BESNAULT M. BONTE Mme COLLIGNON (MCU associée) M. DECUP Mme GAUCHER
	PROTHÈSE	M. POSTAIRE	M. CHEYLAN M. DAAS M. DOT M. EID Mme FOUILLOUX-PATEY Mme GORIN M. RENAULT M. RIGNON-BRET M. TIRLET M. TRAMBA Mme WULFMAN
4	PRÉVENTION-ÉPIDÉMIOLOGIE ÉCONOMIE DE LA SANTÉ ET ODONTOLOGIE LÉGALE		Mme GERMA M. PIRNAY M. TAVERNIER
	SCIENCES BIOLOGIQUES	Mme CHAUSSAIN M. GOGLY Mme POLIARD M. ROCHEFORT (PU associé) Mme SEGUIER	M. ARRETO Mme BARDET Mme CHARDIN Mme CHERIFI (MCU associée) M. FERRE M. LE MAY
	SCIENCES ANATOMIQUES PHYSIOLOGIQUES ET OCCLUSODONTIQUE		M. ATTAL Mme BENBELAID Mme BENOIT M. BOUTER M. CHARRIER M. CHERRUAU M. FLEITER Mme FRON M. SALMON Mme TILOTTA



## Remerciements

---

**À Mme le Professeur Tiphaine Davit-Béal**

*Docteur en Chirurgie dentaire*

*Spécialiste qualifiée en Médecine bucco-dentaire*

*Ancien Interne des Hôpitaux*

*Docteur de l'Université Pierre et Marie Curie*

*Habilité à Diriger des Recherches*

*Professeur des Universités, Faculté de Chirurgie Dentaire Paris Descartes*

*Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris*

Qui me fait l'honneur de présider le jury de cette thèse, Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.



**À Mme le Docteur Élisabeth Dursun**

*Docteur en Chirurgie dentaire*

*Ancien Interne des Hôpitaux*

*Docteur de l'Université Paris Nord*

*Maître de Conférences des Universités, Faculté de Chirurgie dentaire, Paris Descartes*

*Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris*

Qui me fait l'honneur de diriger cette thèse, pour votre aide précieuse et votre dévouement tout au long de ce travail, pour votre écoute attentive et votre bienveillance, pour votre grande disponibilité et pour l'enseignement de qualité que vous m'avez transmis en odontologie pédiatrique à l'hôpital, veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de ma profonde admiration.

**À Mme le Docteur Céline Gaucher**

*Docteur en Chirurgie dentaire*

*Docteur de l'Université Paris Descartes*

*Maître de Conférences des Universités, Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes*

*Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris*

Qui me fait l'honneur de siéger au jury de cette thèse, merci pour votre bienveillance, votre patience dans l'encadrement des étudiants et pour vos qualités d'enseignant qui m'ont donné confiance lors de mes débuts à l'hôpital, Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de ma sincère considération.

**À M. le Docteur Romain Royer**

*Docteur en Chirurgie dentaire*

*Assistant Hospitalo-Universitaire, Faculté de Chirurgie dentaire Paris Descartes*

Qui me fait l'honneur de siéger au jury de cette thèse, pour votre gentillesse et votre empathie, pour votre enseignement passionnant et de qualité en parodontologie, pour m'avoir donné confiance en moi et m'avoir accompagnée dans mes premières expériences professionnelles dans les cabinets dentaires par vos recommandations et vos conseils avisés, veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de toute mon estime.

A ma **mère**, pour son amour inconditionnel et son soutien tout au long de mes études. C'est grâce à toi si je suis parvenue à devenir la femme forte, indépendante et sincère que je suis aujourd'hui. Tu m'as appris à toujours garder espoir et à me surpasser pour aller jusqu'au bout de mes ambitions. Cet accomplissement personnel, je te le dois, par ta présence, tes encouragements et ta douceur maternelle. Je t'aime.

A ma sœur, **Alysée**, sans qui la vie serait bien fade et dont je suis extrêmement fière. Merci d'avoir toujours cru en moi, pour tout l'amour et la complicité de sœurs que nous partageons ensemble. Je t'aime au-delà de tout.

A mes frères, **Corentin**, pour ta disponibilité et l'assurance que je peux compter sur toi en toute occasion, pour nos fous rires et notre complicité, et à **Romarc**, pour me faire partager ta façon de voir le monde, pour ta joie de vivre et ta tendresse fraternelle. Je vous aime tellement, mes petits frères.

A **Philippe**, pour ta bienveillance, ton implication, et ton aide pour cette thèse. Tu as toujours été présent pour m'encourager et me soutenir dans mes études. Je sais que je pourrai toujours compter sur toi. Tu es comme un père pour moi.

A ma cousine, **Angélique**, à qui je me sens extrêmement liée. Je t'aime comme une deuxième sœur. Merci d'avoir toujours été présente pour moi quand j'en avais le plus besoin. A ma marraine, **Chantal**, pour l'admiration que je te porte pour ta force de caractère et pour m'avoir soutenu. Je t'aime énormément. A toute ma famille : A mes grands-mères, **Renée** et **Suzanne**, à **Tata Florence**, **Tonton Philippe**, **Tonton Gilles**, et **Tonton Hugues**, parce que je serai éternellement ta Schtroumpfette, à **Laetitia** et à **Sébastien**. A mes cousins, **Emmanuel** et **Geoffrey**, et à toutes mes cousines : **Cindy**, **Mathilde**, **Inès**, **Justine**, **Camille**, **Clotilde**, **Clélie**, **Léana**, **Sarah**. Merci à tous pour vos attentions et vos encouragements. En mémoire à mon oncle, **Régis**.

A **Stéphane**, pour m'avoir supporté ces derniers mois et pour tout l'amour que tu me portes, pour avoir été mon pilier à Saint-Barth. A notre bonheur et à l'avenir.

A **Roxane**, pour nos nombreuses années d'amitiés, pour ton soutien infailible. Que notre amitié sincère puisse perdurer. Tu es une amie en or. A **Laurine**, pour ta spontanéité et tous nos moments de complicité. Merci de mettre des paillettes dans ma vie. A **Emilie Z.**, merci d'être une amie attentionnée.

A **Chloé**, aux souvenirs de notre rencontre en prépa BCPST ou à nos mémorables balades nocturnes en rollers sur la promenade des Anglais. Tu comptes énormément pour moi.

A **Solène**, pour toutes ces années partagées ensemble à la fac, pour notre binôme de choc à Créteil, nos délires CRIT et nos soirées mythiques. Pour nos aventures de remplaçantes en Bretagne ou en Normandie. Pour m'avoir accueillie dans ta famille et avoir sauté dans un avion pour me rendre visite à Saint-Barth. Je sais que je peux compter sur toi dans tous les instants de la vie.

A **Emeline**, pour notre passion commune et notre complicité. Tu es une amie exceptionnelle et je suis tellement contente de te connaître. A **Michael**, pour ton aide apporté sur ce travail, pour être un ami dévoué et sur qui je peux compter. A nos souvenirs du ski, et à ceux de Saint-Barth, où nous avons partagés de supers moments sous le soleil des Caraïbes. A **Sarah**, pour être une amie et une jeune femme géniale que j'admire, pour ta force et ta bonne volonté à toute épreuve, et pour nous avoir fait une si jolie poupée. A **Alice**, pour nos tentatives de motivations mutuelle pour le sport, pour notre gourmandise commune, pour ta joie de vivre et ta façon d'être si solaire. A **Florent**, parce qu'on était très fort pour se rassurer dans les couloirs de Créteil, mais aussi pour tous les moments de rires et de potins partagés. A **Maxime M.**, pour avoir toujours été à mon écoute, pour nos bons moments partagés aux si nombreuses soirées. Parce que je peux compter sur toi et que tu es un ami précieux. A **Paul**, pour ton aide et tes conseils à l'hôpital, pour ton soutien et tes encouragements à tout instant, pour m'avoir toujours poussée à croire en moi. A **Marion**, pour toutes nos folles soirées parisiennes mais aussi nos soirées pyjama, nos longues discussions, nos brunchs et pour ton amitié sincère. A **Barbara**, pour m'avoir soutenu dans les moments difficiles, mais aussi pour nos CRIT, nos fous rires, nos soirées dentaires et notre aventure commune des « Chattes Canines ». A **Baptiste**, mon sauveur et pour tous ces moments de franches rigolades. A **ELOME, Elodie, Lise, Mélanie, Elsa**, pour toutes nos réunions en souvenir de notre petite bande du collège. Parce qu'on s'était dit « rendez- vous dans 10 ans, même jour, même date, même heure », et qu'on s'est toute vu grandir et évoluer. Je vous adore. A **Maxime B.**, parce que tu es mon beau-frère préféré. A **Guillaume L.**, pour ta bienveillance et nos échanges qui me sont précieux. A **JC**, pour le bout de chemin que nous avons partagé ensemble. En mémoire a **Mathieu B.**, mon cher ami que nous n'oublions pas. A **Anaïs**, ma colocataire, pour nos soirées mamies et nos confidences partagées. A **Amandine** et **Chamil**, pour m'avoir chaleureusement accueillie à Royan. A **Dimitri**, pour m'avoir offert l'opportunité de découvrir Saint-Barthélemy, pour notre passion commune pour les randonnées, et pour ta bienveillance, ton accueil et ta gentillesse. A **Géraldine**, pour l'admiration que je porte pour ton travail, ta force et ton courage. Tu es une personne touchante et je te remercie de m'avoir donné ta confiance. A **Agnès**, qui me chouchoute comme une deuxième maman. A l'équipe du cabinet, **Céline, Naïna, Anna** qui sont des femmes formidables et que j'estime. A **Stéphane** et **Katy**, pour l'admiration que je porte à votre travail, pour votre soutien i, et votre gentillesse. A **Marin**, pour ton appui et ton aide, pour ta bienveillance et ta générosité.

A la série F et à ma promo, à tous ceux que j'ai pu côtoyer à la faculté durant ces 6 dernières années et dans le service de Créteil que je n'ai pas pu citer. A mes professeurs que j'estime pour m'avoir tant appris et m'avoir donné confiance



# Table des matières

---

<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS .....</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>4</b>
<b>1 : BACTÉRIES ASSOCIÉES AUX « BLACK STAIN ».....</b>	<b>11</b>
1.1. GÉNÉRALITÉS SUR LES BIOFILMS BUCCAUX.....	11
1.2. MICROBIOLOGIE DU BIOFILM DES BS .....	13
1.3. COMPOSITION CHIMIQUE DES BS .....	17
<b>2 : SOURCES POSSIBLES DU FER DANS LA CAVITÉ BUCCALE.....</b>	<b>20</b>
2.1. DÉFINITION, FONCTION ET RÔLES.....	20
2.1.1. <i>L'homéostasie du fer</i> .....	20
2.1.2. <i>La ferritine : protéine de stockage du fer</i> .....	22
2.1.3. <i>La transferrine : protéine de transport plasmatique du fer</i> .....	24
2.1.4. <i>L'hepcidine : hormone de régulation du métabolisme du fer</i> .....	24
2.2. APPORT DE FER PAR VOIE ALIMENTAIRE .....	25
2.3. DONNÉES PHYSIOLOGIQUES DE L'HOMÉOSTASIE DU FER.....	29
2.4. VARIATIONS PATHOLOGIQUES.....	32
2.4.1. <i>Déficit d'apport en fer</i> .....	32
2.4.2. <i>Pathologies génétiques et/ou héréditaires à l'origine d'une déficience en fer</i> .....	33
2.4.3. <i>Surcharges en Fer</i> .....	33
2.5. APPORT DE FER PAR VOIE MÉDICAMENTEUSE .....	37
<b>3 : SOURCES POSSIBLES DE LACTOFERRINE DANS LA CAVITÉ BUCCALE.....</b>	<b>39</b>
3.1. STRUCTURE DE LA LACTOFERRINE ET INTERACTION AVEC LE FER.....	39
3.2 PROPRIÉTÉS DE LA LACTOFERRINE .....	41
3.2.1. <i>La lactoferrine humaine</i> .....	41
3.2.2. <i>La lactoferrine bovine</i> .....	42
3.3. SOURCE ALIMENTAIRE DE LACTOFERRINE BOVINE.....	44
3.4 VOIES ET MÉTHODES DE DOSAGE DE LA LACTOFERRINE BOVINE .....	48
<b>4 : PROPOSITION D'UN PROTOCOLE DE RECHERCHE .....</b>	<b>51</b>
4.1. INFORMATIONS RELEVÉES CHEZ DES PATIENTS AVEC BS.....	51
4.1.1. <i>Entretien clinique</i> .....	51
4.1.2. <i>Examen clinique</i> .....	52
4.1.3. <i>Journal alimentaire</i> .....	53
4.2. TESTS CLINIQUES À RÉALISER PAR LE PRATICIEN.....	53

4.2.1. Mise en évidence de la quantité de salive et de son pouvoir tampon .....	53
4.2.2. Mise en évidence du facteur carioprotecteur des BS.....	54
4.3. PRÉLÈVEMENTS À ANALYSER EN LABORATOIRE .....	54
4.3.1. Dosage de la lactoferrine bovine .....	54
4.3.2. Dosage de la lactoferrine humaine.....	55
4.3.3. Dosage de la ferritine salivaire .....	55
4.3.4. Dosage du fer sérique .....	55
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>56</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>57</b>
<b>TABLE DES FIGURES.....</b>	<b>62</b>
<b>TABLE DES TABLEAUX.....</b>	<b>63</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>63</b>

## Liste des abréviations

---

BS : Black stain

PCR : *Polymerase Chain Reaction*

ICP-MS : *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*

EDS : *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy*

pHi : potentiel Hydrogène isoélectrique

FPN : Ferroportine

CTF : Capacité Totale de fixation du Fer

IgG : Immunoglobuline

ELISA : *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

## Introduction

---

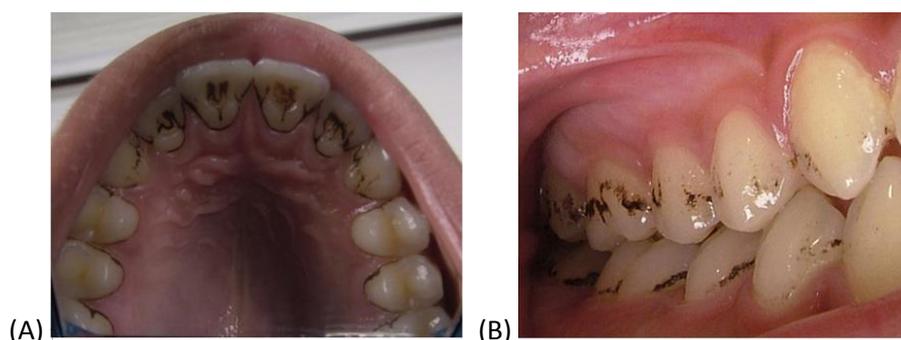
Les colorations noires de l'émail, dites « *black stain* » (BS), correspondent à un type particulier de biofilm dentaire et sont fréquemment retrouvées chez l'enfant en denture temporaire ou permanente. Elles se présentent sous forme d'une ligne noire ou d'une succession de points localisés suivant le contour de la gencive marginale (au tiers cervical de la couronne), sur au moins deux dents, et adhèrent fortement à l'émail (*Figure 1*). Ces colorations peuvent aussi se présenter sur les surfaces linguales, palatines et proximales, ainsi que dans les sillons occlusaux des dents temporaires et permanentes, souvent à proximité des canaux excréteurs salivaires (*Figure 2*). Ces colorations débutent souvent dans la petite enfance et atteignent un pic à la puberté ou à l'adolescence, mais peuvent également être observées également chez l'adulte.<sup>1</sup>

**Figure 1 : Présence de BS en denture temporaire**



Source: Zhang *et al.* « A preliminary study on the relationship between iron and black extrinsic tooth stain in children », 2017

**Figure 2 : Différentes localisations de BS en denture permanente**



(A) vue palatine ; (B) vue vestibulaire à proximité du canal de Sténon

Source : Bandon *et al.*, « Les colorations dentaires noires exogènes chez l'enfant : black-stains », 2011

---

<sup>1</sup> Bandon, Chabane-Lemboub, et Gall, « Les colorations dentaires noires exogènes chez l'enfant ».

Les BS sont sans incidence pour la santé bucco-dentaire, mais représentent un problème esthétique majeur, par leur couleur noire et parfois leur vaste étendue sur les surfaces dentaires.<sup>2</sup> Les facteurs en cause restent encore méconnus.

Le **diagnostic positif** repose sur un examen clinique soigné et rigoureux, écartant les autres catégories de colorations dentaires.

Les colorations dentaires peuvent être classées en trois groupes selon leur localisation :

- Les **dyschromies extrinsèques** : il s'agit de colorations acquises générées par des agents externes, d'origine endogène ou exogène, n'affectant que la surface amélaire. Les principales sources sont les boissons à base de tanins (café, thé, vin rouge), le tabac (couleur brun foncé), les bactéries (colorations vertes ou oranges), les colorations métalliques (couleur noire par le fer, l'argent et le manganèse ; couleur grise par le mercure ; couleur verte par le cuivre et le nickel) et les colorations brunâtres liées à l'utilisation prolongée de certains antiseptiques comme le cétylpyridinium ou la chlorhexidine. Les défauts amélaire, la composition et le flux salivaire, l'hygiène bucco-dentaire ou encore l'âge peuvent favoriser aussi l'accumulation des dépôts et des colorants dentaires.<sup>3</sup>

- Les **dyschromies intrinsèques** : il s'agit de colorations systémiques ou congénitales, imputables à l'incorporation de matériels pigmentés au sein du complexe amélo-dentinaire, au cours de l'odontogénèse ou durant la période post-éruptive. Les causes sont iatrogènes (prise de médicaments : fluorures ou tétracyclines), génétiques (amélogénèse et/ou dentinogénèse imparfaite), idiopathiques (hypominéralisation molaire incisive), métaboliques (porphyrie érythropoïétique congénitale, ostéogénèse imparfaite, alcaptonurie ou épidermolyse bulleuse par exemple) ou encore dues au vieillissement de la dent.

- Les **dyschromies internes** : il s'agit d'infiltrations de colorations extrinsèques, liée à des défauts de la structure des tissus dentaires (caries, restaurations à l'amalgames).<sup>4</sup>

Les BS sont des dyschromies extrinsèques, elles n'altèrent pas la surface dentaire et peuvent être retirées par une instrumentation et un polissage efficace sans atteinte des tissus. Le diagnostic peut être facilité par leur localisation caractéristique le long de la gencive marginale, avec une atteinte plus fréquente des dents antérieures mandibulaires, notamment en lingual.<sup>5,6</sup>

---

<sup>2</sup> Bandon, Chabane-Lemboub, et Gall.

<sup>3</sup> Le Reste, « Les pathologies bucco-dentaires ».

<sup>4</sup> Le Reste.

<sup>5</sup> Chen et al., « Factors associated with black tooth stain in chinese preschool children ».

<sup>6</sup> Ronay et Attin, « Black stain - a review ».

Par ailleurs, **plusieurs classifications** ont été proposées pour décrire leur étendue (*Figure 3*).<sup>7</sup> Shourie (1947) a proposé les critères suivants : (A) Pas de ligne, (B) Coalescence de taches pigmentées indépendantes, (C) Ligne continue formée de taches pigmentées.<sup>8</sup> Koch *et al.* (2001) ont introduit de nouveaux critères de diagnostic et décrivent des points noirs (de diamètre inférieur à 0,5 mm) formant une coloration linéaire (parallèle à la gencive marginale) sur les surfaces lisses d'au moins deux dents, sans atteinte de la surface de l'émail (E,F).<sup>9</sup> Un critère supplémentaire, basé sur l'étendue de l'atteinte sur la surface dentaire a été ajouté par Gasparetto *et al.* (2003), avec différents scores. Le score 1 correspond à la présence de points pigmentés isolés ou regroupés en ligne discontinue, parallèle à la gencive marginale (G) ; le score 2 correspond à des lignes pigmentées continues et limitées à la moitié du tiers cervical de la couronne de la dent (H) ; le score 3 correspond à la présence de taches pigmentées s'étendant au-delà de la moitié du tiers cervical de la couronne dentaire (I).<sup>10</sup>

**Figure 3 : Les différentes classifications des BS**



(A) à (C) Critères selon Shourie, (D) à (F) selon Koch *et al.*, (G) à (I) selon Gasparetto *et al.*

Source : Zyla *et al.*, « Black stain and dental caries », 2015

Une **revue systématique** de la littérature sur les facteurs étiologiques impliqués dans les BS a été réalisée par Elisabeth Dursun et Jean-Pierre Attal, présentée et primée au Congrès de l'*European Association of Pediatric Dentistry* (EAPD, 2015).<sup>11</sup> Elle a consisté en une recherche électronique sur les bases de données suivantes : **Medline/Pubmed, Cochrane Library, ISI Web of Science et Embase**. Les mots clés en relation avec la recherche ont été : « black stain », « tooth » et « children ». L'équation de recherche finale a été la suivante : (black stain OR black stains OR black dyschromia OR black discoloration OR black extrinsic discoloration) AND (teeth OR dental OR tooth).

<sup>7</sup> Zyla *et al.*, « Black stain and dental caries: a review of the literature ».

<sup>8</sup> Shourie, « Mesenteric line or pigmented plaque: a sign of comparative freedom from caries ».

<sup>9</sup> Koch *et al.*, « Black stain and dental caries in schoolchildren in Potenza, Italy ».

<sup>10</sup> Gasparetto *et al.*, « Prevalence of black tooth stains and dental caries in Brazilian schoolchildren ».

<sup>11</sup> Dursun *et al.*, « Black stain in children: a systematic review ».

Les critères d'inclusion étaient les articles concernant : la prévalence, l'étiologie, le mécanisme de formation des BS et/ou les facteurs associés à leur formation (caries, plaque/microbiote salivaire, habitudes d'hygiène/alimentaires...).

Les critères d'exclusion étaient les articles du type cas cliniques, revues narratives ou les articles non rédigés en langue anglaise.

Aucune limite temporelle n'a été imposée. Les articles ont été sélectionnés, indépendamment par les deux auteurs, après lecture de leur titre, résumé et du contenu intégral.

D'autres articles ont été inclus par recherche manuelle à partir de la bibliographie des articles retenus.

Les articles ont été retenus si :

- l'étude répondait aux critères d'inclusion et d'exclusion et si elle était « bien menée »
- le « matériel et méthodes » utilisé, ainsi que les résultats étaient clairs.

Sur les **206 articles recensés**, après lecture intégrale de leurs contenus et selon les critères d'inclusion et de jugement : 26 articles ont été sélectionnés, et 5 autres ont été ajoutés manuellement. Ainsi, **31 articles** ont finalement été inclus pour la constitution de cette revue.

Il en est ressorti un certain nombre de **points intéressants** :

- La **prévalence** des BS depuis la fin des années 60, serait comprise entre 1,6 % et 18 %, sans différence entre les garçons et les filles (Garcia Martin, 2013, 3,1%<sup>12</sup>; Koch, 2001, 6,3%<sup>13</sup> ; Gasparetto, 2003, 14,8%<sup>14</sup> ; Heinrich-Weltzien, 2009, 16%<sup>15</sup> ; Bath, 2010, 18%<sup>16</sup> ; Chen, 2014, 9,9%<sup>17</sup>). Chen *et al.* ajoutent que le nombre de dents atteintes augmenterait avec l'âge, et que plus de dents seraient atteintes en denture permanente.<sup>18</sup>

- Concernant la **maladie carieuse**, França-Pinto (2012) a proposé l'hypothèse que les BS seraient un facteur protecteur contre le développement de la carie.<sup>19</sup> Plusieurs autres études ont déjà rapportées un nombre inférieur de caries chez les enfants avec BS (Shourie, 1947<sup>20</sup> ; Koch, 2001<sup>21</sup> ;

---

<sup>12</sup> Garcia Martin et al., « Prevalence of black stain and associated risk factors in preschool Spanish children ».

<sup>13</sup> Koch et al., « Black stain and dental caries in schoolchildren in Potenza, Italy ».

<sup>14</sup> Gasparetto et al., « Prevalence of black tooth stains and dental caries in Brazilian schoolchildren ».

<sup>15</sup> Heinrich-Weltzien, Monse, et van Palenstein Helderman, « Black stain and dental caries in Filipino schoolchildren ».

<sup>16</sup> Bhat, « Black tooth stain and dental caries among Udaipur school children ».

<sup>17</sup> Chen et al., « Factors associated with black tooth stain in chinese preschool children ».

<sup>18</sup> Chen et al.

<sup>19</sup> França-Pinto et al., « Association between Black Stains and Dental Caries in Primary Teeth ».

<sup>20</sup> Shourie, « Mesenteric line or pigmented plaque: a sign of comparative freedom from caries ».

Heinrich-Weltzien, 2009/2014<sup>22,23</sup> ; Bath, 2010<sup>24</sup> ; Chen, 2014<sup>25</sup> ; Schmuly, 2014<sup>26</sup>). Toutefois, d'autres auteurs n'ont pas mis en évidence de relation entre la prévalence carieuse et la présence de BS (Garcia-Martin, 2013<sup>27</sup> ; Gasparetto, 2003<sup>28</sup>).

- L'origine de la **coloration noire** proviendrait de réaction des bactéries avec le fer présent dans la salive, le fluide gingival (ou dans les saignements buccaux), entraînant la formation d'un précité noir de sulfures ferriques (Reid, 1977<sup>29</sup> ; Li, 2015<sup>30</sup>).

- Un certain nombre de **bactéries** ont été considérées comme directement impliquées. Les premières études supputaient que *Prevotella melaninogenica* était certainement étroitement liées aux pigments noirs retrouvés dans les BS.<sup>31,32</sup> Ensuite, d'autres études ont montré que la présence d'espèces *Actinomyces* pouvaient produire des pigments noirs, bien que ce soient des bactéries non pigmentaires.<sup>33,34</sup> Par ailleurs, dès le début des années 70, des auteurs ont soutenu que *Streptococcus mutans* serait moins présent chez les patients avec BS.<sup>35</sup> Li *et al.* (2015) ont constaté que la diversité microbienne était réduite dans la plaque et la salive des enfants atteints de BS par rapport à des enfants sains.<sup>36</sup>

- La salive des patients avec BS contiendrait une haute teneur en phosphate et en calcium, augmentant ainsi son pouvoir tampon, ce expliquerait la moindre susceptibilité à la carie.<sup>37</sup>

- D'autres facteurs ont semblé concomitants aux BS. Le **facteur alimentaire** jouerait un rôle avec une corrélation entre la présence des BS et un régime alimentaire riche en fer ou encore en produits

---

<sup>21</sup> Koch et al., « Black stain and dental caries in schoolchildren in Potenza, Italy ».

<sup>22</sup> Heinrich-Weltzien, Monse, et van Palenstein Helderma, « Black stain and dental caries in Filipino schoolchildren ».

<sup>23</sup> Heinrich-Weltzien, Bartsch, et Eick, « Dental caries and microbiota in children with black stain and non-discoloured dental plaque ».

<sup>24</sup> Bhat, « Black tooth stain and dental caries among Udaipur school children ».

<sup>25</sup> Chen et al., « Factors associated with black tooth stain in chinese preschool children ».

<sup>26</sup> Shmuly et al., « Can black extrinsic tooth discoloration predict a lower caries score rate in young adults? »

<sup>27</sup> Garcia Martin et al., « Prevalence of black stain and associated risk factors in preschool Spanish children ».

<sup>28</sup> Gasparetto et al., « Prevalence of black tooth stains and dental caries in Brazilian schoolchildren ».

<sup>29</sup> Reid, Beeley, et MacDonald, « Investigations into black extrinsic tooth stain ».

<sup>30</sup> Li et al., « Analysis of the microbiota of black stain in the primary dentition ».

<sup>31</sup> Reid, Beeley, et MacDonald, « Investigations into black extrinsic tooth stain ».

<sup>32</sup> Shah et al., « The porphyrin pigmentation of subspecies of bacteroides melaninogenicus ».

<sup>33</sup> Reid, Beeley, et MacDonald, « Investigations into black extrinsic tooth stain ».

<sup>34</sup> Theilade, Slots, et Fejerskov, « The ultrastructure of black stain on human primary teeth ».

<sup>35</sup> Slots, « The microflora of black stain on human primary teeth ».

<sup>36</sup> Li et al., « Analysis of the microbiota of black stain in the primary dentition ».

<sup>37</sup> Garan et al., « Salivary parameters and caries indices in children with black tooth stains ».

laitiers.<sup>38,39,40,41,42</sup> La **prise de médicaments**, notamment les suppléments en fer pendant la grossesse ou pendant l'enfance, a aussi semblé être corrélée à la présence de BS.<sup>43</sup> Enfin, concernant l'**hygiène**, selon certaines études, les patients avec BS auraient moins de plaque dentaire, mais il n'y aurait pas de lien significatif avec la fréquence du brossage ou l'utilisation de fluorures.<sup>44</sup> En revanche, d'autres études n'ont pas trouvé de corrélation entre l'hygiène et la présence de BS, mais une relation avec la prise de fluorures, qui les augmenteraient.<sup>45</sup> Enfin, d'autres ont suggéré que l'hygiène permettrait de limiter l'expansion des taches, mais n'empêcherait pas leur apparition.<sup>46</sup> Enfin, le **statut socio-économique** pourrait jouer un rôle : selon certains auteurs, les enfants issus de milieux défavorisés (faibles revenus, parents n'ayant pas fait d'études) seraient plus à risque de développer des BS.<sup>47</sup> A l'inverse, Chen *et al.* (2014) ont noté une corrélation entre des patients avec BS et des parents issus d'un niveau socio-économique plus élevé, avec une bonne éducation à l'hygiène, entraînant la sélection d'une flore bactérienne moins cariogène, mais à l'origine de l'apparition des BS.<sup>48</sup>

- Enfin, Nordbo *et al.* (1987) ont montré une concentration salivaire de **lactoferrine** élevée chez les sujets ayant tendance à former des colorations noires exogènes, mais sans décrire exactement la forme de ces colorations. Ils ont montré *in vitro* que l'association de fer, lactoferrine et d'acide tannique produisait une coloration noire de l'émail et de la dentine.<sup>49</sup> Des années après, Mesonjesi (2011) a suggéré que les BS seraient la conséquence de la présence de fer et de lactoferrine bovine, apportée par la consommation de laitages.<sup>50</sup> Il va jusqu'à émettre l'hypothèse qu'en cas d'absence d'apport de fer via des suppléments médicamenteux et chez un sujet ne présentant pas de

---

<sup>38</sup> Pushpanjali, Khanal, et Niraula, « The relationship of dental extrinsic stains with the concentration of trace elements in water sources in a district of Nepal ».

<sup>39</sup> França-Pinto *et al.*, « Association between Black Stains and Dental Caries in Primary Teeth ».

<sup>40</sup> Garcia Martin *et al.*, « Prevalence of black stain and associated risk factors in preschool Spanish children ».

<sup>41</sup> Chen *et al.*, « Factors associated with black tooth stain in chinese preschool children ».

<sup>42</sup> Mesonjesi, « Are extrinsic black stains of teeth iron-saturated bovine lactoferrin and a sign of iron deficient anemia or iron overload ? »

<sup>43</sup> Garcia Martin *et al.*, « Prevalence of black stain and associated risk factors in preschool Spanish children ».

<sup>44</sup> Shmuly *et al.*, « Can black extrinsic tooth discoloration predict a lower caries score rate in young adults? »

<sup>45</sup> Żyła *et al.*, « Black stain and dental caries: a review of the literature ».

<sup>46</sup> Heinrich-Weltzien, Monse, et van Palenstein Helderman, « Black stain and dental caries in Filipino schoolchildren ».

<sup>47</sup> França-Pinto *et al.*, « Association between Black Stains and Dental Caries in Primary Teeth ».

<sup>48</sup> Chen *et al.*, « Factors associated with black tooth stain in chinese preschool children ».

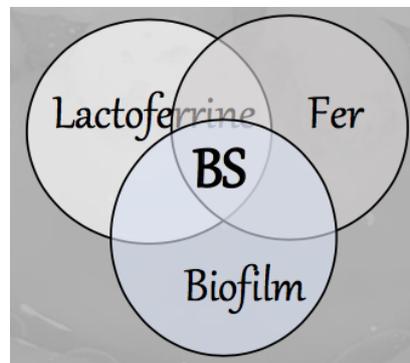
<sup>49</sup> Nordbø, Kolstø, et Eriksen, « Salivary lactoferrin in a selected group of subjects with exceptional extrinsic dental staining ».

<sup>50</sup> Mesonjesi, « Are extrinsic black stains of teeth iron-saturated bovine lactoferrin and a sign of iron deficient anemia or iron overload ? »

saignement gingival, les BS pourrait être l'indicateur d'une anémie hémolytique ou d'une thalassémie mineure, car le fer se retrouve en forte quantité dans la salive de ces sujets.<sup>51</sup>

C'est ainsi qu'une triade étiologique des BS a été proposée par Dursun *et al.*<sup>52</sup> (Figure 4). L'hypothèse serait que la lactoferrine, se liant au fer avec une haute affinité, capture le fer disponible dans la salive, puis se plaque sur le biofilm bactérien spécifique de ces patients, et relargue ce fer localement, qui se combine *in situ* aux sulfures d'hydrogène produits par les bactéries, et entraîne la formation de sulfures ferriques noirs.

**Figure 4 : Hypothèse d'une triade de facteurs interdépendants dans la formation des BS**



Source : Dursun *et al.*, « Black stain in children: a systematic review », 2016

L'objet de cette thèse est de mieux cerner l'étiologie de ces taches, en s'intéressant de façon approfondie à chacun des trois facteurs a priori impliqués. Dans une première partie, nous ferons le point sur le profil bactérien des patients avec BS, en essayant de déterminer quelle(s) serai(en)t l' (ou les) espèce(s) spécifique(s) à ces patients. Dans une seconde, nous listerons toutes les causes d'excès de fer dans la cavité buccale, aussi bien alimentaires, que médicamenteuses ou pathologiques. Dans une troisième, nous nous pencherons sur l'implication de la lactoferrine dans ce processus de BS. Enfin, dans une dernière, nous proposerons des pistes pour mener un protocole de recherche visant à confirmer ces hypothèses.

---

<sup>51</sup> Mesonjesi.

<sup>52</sup> Dursun *et al.*, « Black stain in children: a systematic review ».

# 1 : Bactéries associées aux « black stain »

---

Un certain nombre d'études ont été menées chez les patients atteints de BS, afin de mettre en évidence un biofilm spécifique qui pourrait expliquer leur formation. Dans ce chapitre, après un rappel sur le biofilm buccal, nous essaierons de synthétiser l'ensemble des études menées sur la composition du biofilm des patients avec BS et la composition de ces pigments noirs.

## 1.1. Généralités sur les biofilms buccaux

Chez l'homme, le **microbiote buccal**, encore appelé **flore buccale**, correspond à un ensemble de micro-organismes complexe et diversifié (*Tableau 1*), constitué de parasites eucaryotes, de levures, de mycoplasmes, de champignons et de plus de 500 espèces bactériennes (avec  $10^{10}$  bactéries dans sa totalité), dont la composition est évolutive dans le temps. La plaque bactérienne, appelée aussi **biofilm dentaire**, correspond à la coexistence de ces espèces adhérant aux surfaces dentaires.<sup>53</sup>

Ce biofilm est immergé dans deux liquides physiologiques : la salive au niveau supra-gingival et le fluide gingival (associé à la salive) au niveau sous-gingival. Il correspond donc à une communauté microbienne organisée dans une matrice extra-cellulaire complexe, composée de produits extra-cellulaires microbiens et de composants salivaires.<sup>54</sup>

---

<sup>53</sup> Chardin, Bonnaure-Mallet, et Barsotti, *Microbiologie en odonto-stomatologie*.

<sup>54</sup> Chardin, Bonnaure-Mallet, et Barsotti.

**Tableau 1 : Principaux genres bactériens de la plaque dentaire**

GENRES A GRAM POSITIF	GENRES A GRAM NEGATIF
<b>Cocci</b>	
<i>Peptococcus</i>	<i>Neisseria</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Veillonella</i>
<i>Streptococcus</i>	
<b>Bacilles</b>	
<i>Actinomyces</i>	<i>Actinobacillus</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Bacteroides</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Campylobacter</i>
<i>Eubacterium</i>	<i>Capnocytophaga</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>Fusobacterium</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>Haemophilus</i>
<i>Rotbia</i>	<i>Klebsiella</i>
	<i>Leptotrichia</i>
	<i>Prevotella</i>
	<i>Porphyromonas</i>
	<i>Pseudomonas</i>
	<i>Selenomonas</i>
	<i>Treponema</i>

Source : Auteur, d'après Chardin, Barsotti, Bonnaure-Mallet., *Microbiologie en odonto-stomatologie*, 2006

Son évolution au cours du temps passe d'une phase réversible à une phase irréversible, pour atteindre une phase de maturation. Le **tartre** est alors l'évolution d'un biofilm dentaire non éliminé qui s'est minéralisé.<sup>55</sup> Un certain nombre de bactéries trouvées dans le biofilm et dans le tartre (*Streptococcus salivarius*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii*, *Haemophilus* et *Corynebacterium mastruchotii*) présentent une minéralisation intra-cellulaire liée à une activité enzymatique : l'hydrolyse uréolytique (chez *Corynebacterium mastruchotii* il y a formation d'hydroxyapatite). Dans un environnement buccal basique, l'urée sécrétée dans la salive va être hydrolysée, ce qui augmente le pH de la plaque, et qui est nécessaire à la formation du tartre. Même si chez la plupart des individus, le nombre de ces bactéries est faible, leur activité est suffisante pour entraîner une précipitation des ions calcium et donc une minéralisation de la plaque en tartre.<sup>56</sup>

<sup>55</sup> Chardin, Bonnaure-Mallet, et Barsotti.

<sup>56</sup> Chardin, Bonnaure-Mallet, et Barsotti.

## 1.2. Microbiologie du biofilm des BS

Les premières études s'intéressant au phénomène remontent aux années 70 (Theilade *et al.*, 1973<sup>57</sup> ; Reid *et al.*, 1977<sup>58</sup>). Elles montrent qu'il s'agit d'un dépôt de micro-organismes organisés dans une matrice inter-microbienne pouvant se calcifier. Elles en concluent que ces colorations correspondent à un type spécifique de plaque dentaire, avec une flore bactérienne composée majoritairement de bacilles à Gram positif.

Depuis ces 20 dernières années, d'autres études ont recherché à déterminer les bactéries à l'origine des BS, avec des méthodes d'identification des bactéries, en utilisant de nouvelles technologies plus précises (Tableau 2).

**Tableau 2 : Bactéries retrouvées dans les différentes études chez les patients avec des BS**

Caractéristiques	Genre et espèces	Pigmentaire / Minéralisation	1	2	3	4	5	6
Cocci Gram <sup>+</sup> aérobies	<i>Streptococcus mutans</i>	non/non		- (S)	Φ (P)	Φ (P)	Φ (P)	
	<i>Streptococcus sobrinus</i>	non/non			Φ (P)	Φ (P)		
	<i>Streptococcus mitis</i>			++ (S)				
Bacilles Gram <sup>+</sup> aérobies	<i>Cardiobacterium</i>	non/non			++ (P)			
Bacilles Gram <sup>+</sup> anaérobies	<i>Actinomyces</i> spp.	non/oui		++ (P)	++ (P)	++ (P)	Φ (P)	++ (P)
	<i>Corynebacterium matruchotii</i>	non/oui			++ (P)			
Bacilles Gram <sup>-</sup> anaérobies	<i>Lactobacillus</i> spp.	non/non		- (S)		- (P)		
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	non/non			Φ (P)	++ (P)		++ (P)
	<i>Campylobacter</i>	non/non			- (P)			
	<i>Haemophilus</i>	non/oui			++ (P)			
Bacilles Gram <sup>-</sup> anaérobies	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	non/non				- (P)		
	<i>Fusobacterium periodontium</i>	non/non	+					
	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	oui/non				+		Φ (P)
	<i>Prevotella intermedia</i>	oui/non			Φ (P)	Φ (P)	Φ (P)	
	<i>Prevotella melanogenica</i>	oui/non						Φ (P)
	<i>Prevotella nigrescens</i>	oui/non					Φ (P)	
	<i>Tannerella forsythia</i>	non/non				++ (P)		
Spirochètes	<i>Leptotrichia buccalis</i>		+					
	<i>Treponema denticola</i>	non/non			++ (P)			

Source : Auteur

Légende du tableau :

1 : Li *et al.*<sup>59</sup> en 2016 par 16S rRNA *gene sequencing*

2 : Tripodi *et al.*<sup>60</sup> en 2016 par microscopie électronique à balayage et culture bactérienne

3 : Li *et al.*<sup>61</sup> en 2015 par 16S rRNA *gene sequencing*

<sup>57</sup> Theilade, Slots, et Fejerskov, « The ultrastructure of black stain on human primary teeth ».

<sup>58</sup> Reid, Beeley, et MacDonald, « Investigations into black extrinsic tooth stain ».

<sup>59</sup> Li *et al.*, « Oral microbial community typing of caries and pigment in primary dentition ».

<sup>60</sup> Tripodi *et al.*, « Black stains: a microbiological analysis and a view on familiarity and susceptibility to tooth decay of patients in childhood ».

4 : Heinrich-Weltzien *et al.*<sup>62</sup> en 2014 par PCR

5 : Costa *et al.*<sup>63</sup> en 2012 par PCR

6: Saba *et al.*<sup>64</sup> en 2006 par PCR

⊕ : pas de différence significative entre les patients avec ou sans BS

⊕⊕ : présence significativement plus importante chez les patients ayant des BS

⊕ : tendance à être plus présente chez les patients ayant des BS

⊖⊖ : présence significativement moins importante chez les patients ayant des BS

⊕⊖ : les résultats dépendant de paramètres additionnels

(S) : site de prélèvement initial dans la salive

(P) : site de prélèvement initial dans la plaque

\*\*\* : bactérie parodontopathogène

\*\* : bactérie cariopathogène

Les résultats de ces études sont différents, ce qui s'explique par le fait qu'elles ne comparent pas les mêmes bactéries et n'utilisent pas les mêmes méthodes de détection. Cela dit, toutes les récentes études microbiologiques semblent converger sur une grande quantité d'*Actinomyces spp*, et leur attribuent un rôle prépondérant dans la formation des BS. Ce résultat rejoint ceux de Theilade *et al.* et Reid *et al.* dans les années 70. Certaines de ces études relèvent la présence d'*Actinomyces spp*, *Haemophilus* et *Corynebacterium matruchotii*, bactéries capables de minéralisation intracellulaire. Ce phénomène de minéralisation pourrait expliquer la formation rapide et l'adhérence des black stains.<sup>65</sup>

Les bactéries du complexe rouge, présentes dans les biofilms buccaux de parodontite chronique, ont aussi été retrouvées : *Porphyromons gingivalis*, *Tanarella forsythia* et *Treponema denticola*; ainsi qu'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* présente dans les parodontites agressives. Un lien entre maladie parodontale et BS serait ainsi possible.<sup>66,67,68</sup>

---

<sup>61</sup> Li et al., « Analysis of the microbiota of black stain in the primary dentition ».

<sup>62</sup> Heinrich-Weltzien, Bartsch, et Eick, « Dental caries and microbiota in children with black stain and non-discoloured dental plaque ».

<sup>63</sup> Costa et al., « Biofilms of black tooth stains: PCR analysis reveals presence of *Streptococcus mutans* ».

<sup>64</sup> Saba et al., « Black stains in the mixed dentition ».

<sup>65</sup> Chardin, Bonnaure-Mallet, et Barsotti, *Microbiologie en odonto-stomatologie*.

<sup>66</sup> Heinrich-Weltzien, Bartsch, et Eick, « Dental caries and microbiota in children with black stain and non-discoloured dental plaque ».

<sup>67</sup> Li et al., « Analysis of the microbiota of black stain in the primary dentition ».

<sup>68</sup> Saba et al., « Black stains in the mixed dentition ».

En revanche, les bactéries favorisant le développement de caries seraient moins exprimées. Selon Slots (1974), *Streptococcus mutans* serait moins présent dans le biofilm des patients avec BS, mais les études récentes n'ont pas confirmé cette hypothèse.<sup>69</sup> Par ailleurs, *Fusobacterium nucleatum* et *Lactobacillus spp.* sont quantitativement moins présentes dans le biofilm des BS, alors qu'elles sont impliquées dans la formation des caries.<sup>70,71</sup> Une compétitivité entre les bactéries impliquées dans les BS et les bactéries cariopathogènes serait donc possible.

Li *et al.* (2015) ont utilisé une technologie innovante de séquençage des bactéries, la *next-generation sequencing of the bacterial 16S Rrna gene*.<sup>72</sup> Elle permet de détecter des espèces non détectables par les méthodes classiques (culture bactérienne, *Polymerase Chain Reaction (PCR)*), qui sont chronophages et sélectives sur les espèces bactériennes.<sup>73,74</sup> Cette étude a ainsi révélé la présence de *Cardiobacterium*, en faisant par ailleurs ressortir sa forte proportion dans la composition des BS comparé aux autres espèces bactériennes (*Figure 5*)<sup>75</sup>. *Cardiobacterium hominis* fait partie des HACEK (*Haemophilus spp.*, *Aggregatibacter spp.*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* et *Kingella kingae*), qui sont des bacilles aérobies à Gram négatif, qui résident normalement dans les voies respiratoires. Ce caractère aérobie est intéressant car la bactérie peut être à l'origine d'une libération d'acide citrique via son cycle de Krebs inachevé. En effet, certaines bactéries aérobies sont capables d'oxyder des composés organiques. Toutefois, d'autres ne parviennent pas jusqu'à ce terme, car ne disposent pas des enzymes nécessaires. Cela entraîne l'accumulation de différents acides intermédiaires, dont l'acide citrique.<sup>76</sup> Or cet acide pourrait jouer un rôle dans la formation BS, en contribuant au relargage de fer par la lactoferrine (*cf. Partie 3*).

---

<sup>69</sup> Slots, « The microflora of black stain on human primary teeth ».

<sup>70</sup> Heinrich-Weltzien, Bartsch, et Eick, « Dental caries and microbiota in children with black stain and non-discoloured dental plaque ».

<sup>71</sup> Chardin, Bonnaure-Mallet, et Barsotti, *Microbiologie en odonto-stomatologie*.

<sup>72</sup> Li *et al.*, « Analysis of the microbiota of black stain in the primary dentition ».

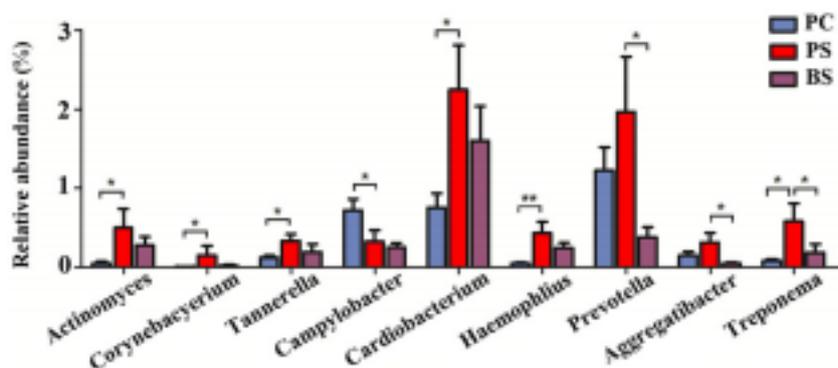
<sup>73</sup> Li *et al.*

<sup>74</sup> Saba *et al.*, « Black Stains in the Mixed Dentition : a PCR microbiological study of the etiopathogenic bacteria ».

<sup>75</sup> Li *et al.*, « Analysis of the microbiota of black stain in the primary dentition ».

<sup>76</sup> Davoust, « Le métabolisme bactérien ».

**Figure 5: Comparaisons de microbiote buccal présentant des teneurs significativement différentes dans la plaque dentaire du groupe avec BS (PS), le groupe témoin (PC) et les BS (BS)**



Source : Li *et al.*, « Analysis of the microbiota of black stain in the primary dentition », 2015

Une autre découverte importante faite par Li *et al.* (2016) montrent que la co-prolifération des espèces *Leptotrichia* et de *Fusobacterium* dans la plaque pourrait contribuer à la formation de pigments noirs sur les surfaces dentaires.<sup>77</sup> Cette étude a présenté un taux élevé de *Leptotrichia* et *Fusobacterium periodontium* dans des échantillons de plaque dentaire provenant de patients avec BS. *Fusobacterium periodontium* a déjà été isolée à partir de lésions parodontales avancées et est une bactérie pathogène opportuniste de la cavité de buccale. Des études génomiques sur la bactérie *Leptotrichia buccalis* montrent qu'elle peut exprimer les gènes impliqués dans la production de la résistance au bêta-lactame, qui pourrait protéger d'autres bactéries sensibles à la pénicilline en produisant l'enzyme bêta-lactamase, telle que *Fusobacterium spp.* Ces résultats indiquent que *L. buccalis* peut favoriser la colonisation buccale par *Fusobacterium spp.* au cours d'une infection ultérieure. *Fusobacterium spp.* peut se co-agréger avec des espèces anaérobies pigmentaires (*Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella nigrescens*). De même, la co-infection ou la co-culture de *Pseudomonas aeruginosa* peut induire la production de pigments de *Staphylococcus aureus*. Ces observations fournissent des éléments importants pour la compréhension du rôle potentiel des interactions bactériennes dans la formation de pigments dans la plaque. Ainsi, il est fortement attendu de confirmer ces résultats via de futures études *in vivo* ou *in vitro*. Néanmoins, la co-occurrence de *Leptotrichia* et *Fusobacterium* n'a été observée que chez environ la moitié des patients présentant des BS, suggérant que d'autres facteurs, tels que les habitudes alimentaires ou

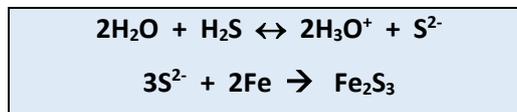
<sup>77</sup> Li *et al.*, « Oral microbial community typing of caries and pigment in primary dentition ».

les différences de génotype, pourraient également influencer la formation d'une pigmentation noire.<sup>78</sup>

### 1.3. Composition chimique des BS

Reid *et al.* (1977) ont suggéré que cette pigmentation noire et adhérente était probablement du sulfure ferrique ( $\text{Fe}_2\text{S}_3$ ), formé par la réaction entre le sulfure d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{S}$ ) produit par l'action bactérienne et le fer présent dans la salive ou l'exsudat gingival (*figure 6*).<sup>79,80,81</sup>

Figure 6 : Réaction chimique à l'origine de la formation du sulfure ferrique



Source: Auteur, D'après Reid *et al.*, « *Investigations into black extrinsic tooth stain* », 1977 et Theilade *et al.*, « *The ultrastructure of black stain on human primary teeth* », 1973

Parnas *et al.* (2013) ont remis en question cette hypothèse, expliquant la présence d'ions métalliques par une contamination liée aux instruments métalliques de prélèvement des BS. En effet, ils ont collecté les colorations noires à l'aide de curettes de graphite et des curettes en métal, puis analysé les échantillons par spectrométrie à dispersion d'énergie (EDS). Seuls les échantillons prélevés avec une curette métallique présentent des ions métalliques. Et à l'exception des niveaux de calcium et de phosphates, aucune différence significative n'a été trouvée entre la composition chimique des BS et la plaque dentaire.<sup>82</sup>

Pourtant Tantbirojn *et al.* (1998) avaient montré par spectrométrie à dispersion de longueur d'onde sur six dents permanentes humaines extraites, que ces pigments étaient fortement calcifiés, avec la présence de calcium et de phosphates en quantité importante, mais aussi qu'ils contenaient une quantité abondante de matière organique, avec des traces de fer et de cuivre. Ces traces de fer et de cuivre étaient observées dans des zones avec une forte concentration en soufre, suggérant la

---

<sup>78</sup> Li *et al.*

<sup>79</sup> Reid, Beeley, et MacDonald, « *Investigations into black extrinsic tooth stain* ».

<sup>80</sup> Theilade, Slots, et Fejerskov, « *The ultrastructure of black stain on human primary teeth* ».

<sup>81</sup> Reid, Beeley, et MacDonald, « *Investigations into black extrinsic tooth stain* ».

<sup>82</sup> Parnas *et al.*, « *Are there metallic traces in black extrinsic dental stain ?* »

formation possible de complexes de soufre et d'ions métalliques comme espèces colorantes dans les dépôts de BS.<sup>83</sup>

Zhang *et al.* (2017) ont été plus récemment dans ce sens, ne partageant pas le point de vue de Parnas *et al.*, considérant que les ions métalliques tels que le fer existent largement dans les aliments en tant qu'éléments mineurs et sont inévitablement présents à l'état de traces sur les dents.<sup>84</sup>

De nombreuses maladies bucco-dentaires sont corrélées au microbiote oral. Des études antérieures, y compris des examens de culture bactériologique traditionnels et de PCR, ont rapporté un microbiote spécifique dans la plaque dentaire de patients avec BS (Slots<sup>85</sup>, 1974, Saba *et al.* <sup>86</sup>, 2006, Heinrich-Weltzien *et al.* <sup>87</sup>, 2014). Dans leur étude, Zhang *et al.*<sup>88</sup> (2017) mettent également en évidence des gènes fonctionnels des bactéries susceptibles d'être impliquées dans les BS basées sur les résultats du séquençage du gène 16S rRNA à l'aide de l'étude par Investigation phylogénétique des communautés par reconstruction d'états non observés PICRUST (*Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States*). Le niveau de fer et le cuivre ont été observés par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS : *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) dans des échantillons de plaque dentaire de patients avec BS et d'autres sans BS. Le niveau de fer était significativement plus élevé dans les groupes avec BS que dans le groupe témoin, ce qui corrobore les résultats de Reid, suggérant un rôle du fer dans la pigmentation noire.<sup>89</sup> La teneur en cuivre des échantillons était beaucoup plus faible que celle en fer et sans différence significative entre les deux groupes (*Figure 7*). Le cuivre n'est donc probablement pas impliqué dans la formation des BS.

---

<sup>83</sup> Tantbirojn *et al.*, « Spatial chemical analysis of dental stain using wavelength dispersive spectrometry ».

<sup>84</sup> Zhang *et al.*, « A preliminary study on the relationship between iron and black extrinsic tooth stain in children ».

<sup>85</sup> Slots, « The microflora of black stain on human primary teeth ».

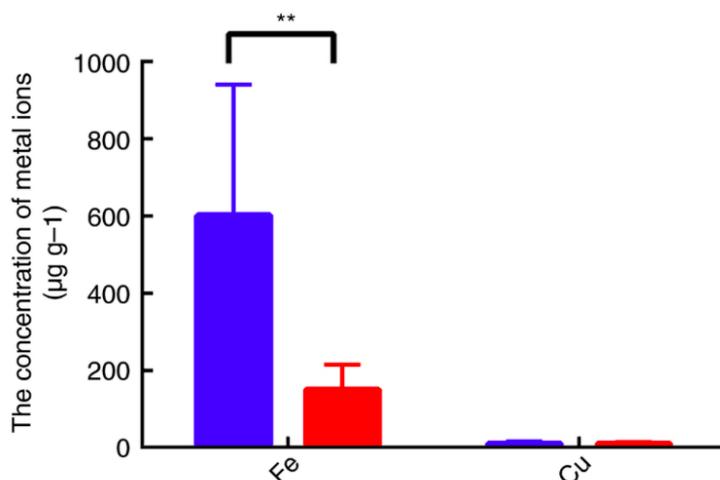
<sup>86</sup> Saba *et al.*, « Black stains in the mixed dentition ».

<sup>87</sup> Heinrich-Weltzien, Bartsch, et Eick, « Dental caries and microbiota in children with black stain and non-discoloured dental plaque ».

<sup>88</sup> Zhang *et al.*, « A preliminary study on the relationship between iron and black extrinsic tooth stain in children ».

<sup>89</sup> Reid, Beeley, et MacDonald, « Investigations into black extrinsic tooth stain ».

Figure 7 : Concentrations en Fer et en Cuivre des dépôts de BS (bleu) et du groupe témoin (rouge)



Source : Zhang *et al.* « A preliminary study on the relationship between Iron and black extrinsic tooth stain in children », 2017

C'est la première fois que l'ICP-MS est utilisée pour détecter des ions métalliques dans les dépôts noirs des BS. L'analyse quantitative avait une sensibilité assez élevée, avec un seuil de détection en fer de 0,12 µg/g. Les auteurs émettent l'hypothèse que Parnas *et al.*<sup>90</sup> (2013) n'ont pas trouvé de trace d'ions métalliques, probablement en raison de la plus faible sensibilité de l'EDS.

Enfin, ces résultats rejoignent ceux d'autres études qui avaient déjà suggéré le rôle du fer dans la formation des BS. Une étude au Népal a trouvé une corrélation positive entre les niveaux de fer dans la distribution de l'eau et ces taches (Pushpanjali *et al.*, 2004).<sup>91</sup> Une autre étude a rapporté une corrélation entre les BS et la consommation régulière d'aliments riches en fer (Garcia Martin *et al.*, 2013).<sup>92</sup>

<sup>90</sup> Parnas *et al.*, « Are there metallic traces in black extrinsic dental stain ? »

<sup>91</sup> Pushpanjali, Khanal, et Niraula, « The relationship of dental extrinsic stains with the concentration of trace elements in water sources in a district of Nepal ».

<sup>92</sup> Garcia Martin *et al.*, « Prevalence of black stain and associated risk factors in preschool Spanish children ».

## **2 : Sources possibles du fer dans la cavité buccale**

---

La présence de fer serait ainsi l'un des trois co-facteurs nécessaires à l'apparition des BS. L'objet de ce chapitre est de dresser la liste - a priori - exhaustive des causes d'apport excessif/notable en fer dans la cavité buccale, c'est-à-dire : dans la salive, le fluide gingival ou le sang. Les bases concernant le fer et son homéostasie seront aussi rappelées.

### **2.1. Définition, fonction et rôles**

Le fer est un minéral jouant un rôle essentiel dans l'organisme. Il est nécessaire à la fabrication de l'hémoglobine (protéine présente dans les globules rouges qui permet de transporter l'oxygène), de la myoglobine (protéine du muscle permettant de stocker l'oxygène), d'enzymes impliquées dans la respiration et de l'ADN. La majorité du fer de l'organisme (70%) est sous forme dite « héminique » (associé à l'hémoglobine), le reste étant sous forme dite « non héminique » (forme de transport et de réserve).<sup>93</sup>

#### **2.1.1. L'homéostasie du fer**

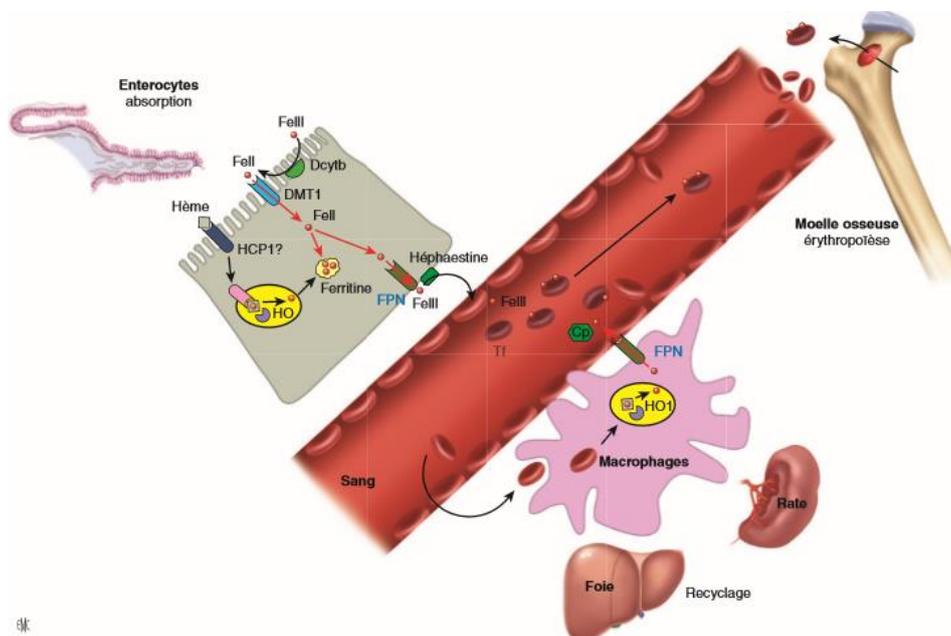
Le fer dans l'organisme est continuellement recyclé entre les sites d'absorption (duodénum), d'utilisation (moelle osseuse) et de stockage (foie, rate), ainsi qu'entre les différents compartiments intra-cellulaires (*Figure 8*).<sup>94</sup>

---

<sup>93</sup> Beaumont et Karim, « Métabolisme du fer : physiologie et pathologie ».

<sup>94</sup> Beaumont et Karim.

**Figure 8 : Homéostasie du fer au niveau moléculaire**



Source : Revenant et Doyen, « Métabolisme du fer : physiologie et pathologie », 2016

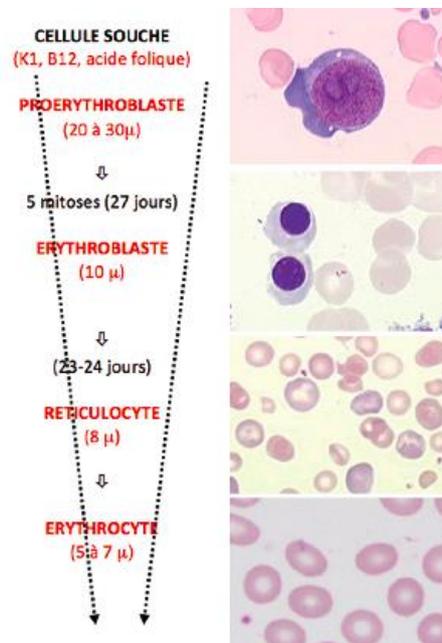
Il est absorbé par les entérocytes duodénaux présents au sommet des villosités intestinales. Ces entérocytes captent le fer issu de l'alimentation à leur pôle apical et l'exportent vers le plasma à leur pôle baso-latéral. Au pôle apical, le fer non hémique est réduit (par la réductase membranaire Dcytb) et transporté à travers les membranes par un cotransporteur du fer et des protons (DMT1/Nramp2). Le fer hémique est absorbé efficacement via un mécanisme encore mal connu impliquant probablement le transporteur HCP-1 et l'hème oxygénase. Ces deux formes sont soit stockées dans la ferritine et éliminées lors de la desquamation des entérocytes, soit transloquées au pôle basolatéral, exportées par la ferroportine (FPN) et oxydées en  $Fe^{3+}$  par l'héphestine, une ferroxidase membranaire. Le fer est ensuite fixé par la transferrine dans le plasma et distribué dans l'organisme.<sup>95</sup>

Le fer du plasma provient aussi en grande partie du recyclage du fer hémique par les macrophages du foie et de la rate. Les globules rouges sénescents sont phagocytés par les macrophages, l'hème est dégradé par l'hème oxygénase et le fer exporté vers le plasma par FPN, oxydé par la céruloplasmine (Cp), une ferroxidase circulante, et prise en charge par la transferrine (Tf).

<sup>95</sup> Beaumont et Karim.

La majorité du fer plasmatique est distribuée aux précurseurs des globules rouges de la moelle osseuse de l'érythropoïèse (Figure 9).<sup>96</sup>

**Figure 9 : Rappel de l'érythropoïèse**



Source : Casassus, « Attention : toutes les macrocytoses ne sont pas dues à un manque de vitamine ! », 2015

### 2.1.2. La ferritine : protéine de stockage du fer

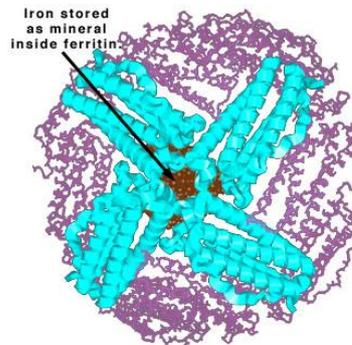
La ferritine est la protéine physiologique de mise en réserve du fer mobilisable en réponse aux besoins de l'organisme : elle est localisée majoritairement dans les monocytes-macrophages du foie, de la rate et de la moelle osseuse. Elle est également présente dans le cytosol des hépatocytes, des éléments figurés (leucocytes, érythrocytes), de cellules du cœur, du pancréas, du poumon, du testicule, du rein et du placenta. La concentration de ferritine sérique est le reflet des réserves tissulaires de fer directement mobilisables.

La ferritine a une masse moléculaire d'environ 450 000 daltons. C'est une protéine d'aspect sphérique (Figure 10), constituée d'une coque protéique (diamètre extérieur 12 à 13 nm) délimitant

<sup>96</sup> Beaumont et Karim.

une cavité centrale dans laquelle le fer est stocké sous forme de micelles d'oxyde de fer hydraté et phosphaté (pouvant contenir jusqu'à 4000 atomes).<sup>97</sup>

**Figure 10 : Structure moléculaire de la ferritine**



Source: Washington University, « This is a three-dimensional representation showing ferritin, the iron-storage protein in the body. Ferritin has a spherical shape, and iron (brown) is stored as a mineral inside the sphere »,

1999

La coquille protéique est un hétéropolymère de 24 sous-unités réalisé par l'assemblage en proportions variables de deux sous-unités différentes : H et L. La sous-unité H possède une activité catalytique ferroxidase qui oxyde le  $\text{Fe}^{2+}$  en  $\text{Fe}^{3+}$  et qui est nécessaire à la captation du fer par la molécule de ferritine. La sous-unité L catalyse la formation du noyau ferrique au sein de la coquille protéique.<sup>98</sup>

La ferritine est aussi présente dans le plasma en faible quantité. En dehors d'une cytolyse aigue, la ferritine sérique est glycosylée et pauvre en fer, contrairement à la ferritine tissulaire. La synthèse de ferritine sérique est régulée au niveau post-transcriptionnel par le fer, et son dosage reflète le stock en fer (1  $\mu\text{g/L}$  de ferritine dans le plasma correspond à 10 mg de fer en réserve) : **la ferritine constitue un paramètre de choix dans l'évaluation des réserves de fer.**<sup>99</sup>

Cependant, de nombreuses situations pathologiques peuvent augmenter le taux de ferritine sérique en dehors de la surcharge en fer, comme des processus tumoraux, des processus inflammatoires ou des phénomènes de lyse cellulaire. La **ferritine érythrocytaire** présente un grand intérêt dans ces conditions, car elle reflète l'état du statut en fer de l'organisme sans être influencée

---

<sup>97</sup> Revenant et Doyen, « Ferritine ».

<sup>98</sup> Beaumont et Karim, « Métabolisme du fer : physiologie et pathologie ».

<sup>99</sup> Beaumont et Karim.

par ces différents facteurs. Elle résulte d'un équilibre entre les apports de fer et leur utilisation pour la synthèse de l'hémoglobine.<sup>100</sup>

### 2.1.3. La transferrine : protéine de transport plasmatique du fer

La transferrine est une protéine qui permet le transport plasmatique du fer. Elle lie deux atomes de  $Fe^{3+}$  avec une haute affinité et cette fixation nécessite la présence d'un ion carbonate ou bicarbonate.

C'est une molécule bilobée, chaque lobe pouvant fixer un atome de fer. Dans les conditions normales, la **saturation de la transferrine est de l'ordre de 30%** et quatre formes moléculaires distinctes sont présentes dans le plasma : l'apotransferrine, la transferrine ayant fixé deux atomes de fer, et deux formes comportant seulement un atome de fer par molécule, à l'extrémité C-terminale ou à l'extrémité N-terminale.<sup>101</sup>

La transferrine est synthétisée et sécrétée principalement par le foie, et dans une moindre mesure par les cellules de Sertoli, les oligodendrocytes, le plexus choroïdes et les cellules neuronales.

Elle appartient à une famille de protéines de transport du fer qui partagent de fortes homologues de séquence avec l'ovotransferrine (présente dans le blanc de poulet), la mélanotransferrine (anciennement connue sous le nom d'antigène tumoral p97) et la lactoferrine. Cette dernière est une glycoprotéine aux multiples fonctions, dont la principale est de fixer le fer avec une affinité supérieure à celle de la transferrine (*cf. Partie 3*).

### 2.1.4. L'hepcidine : hormone de régulation du métabolisme du fer

L'hepcidine est une hormone peptidique de 25 acides aminés, principalement produite par le foie. Elle est hyposidérémiant et régule négativement l'absorption intestinale et le recyclage du fer par les macrophages, permettant ainsi d'éviter tout excès du métal.

Elle agit en inhibant l'export de fer à la membrane des cellules en interagissant avec la ferroportine, l'exporteur de fer, entraînant son internalisation puis sa dégradation dans le lysosome. L'augmentation du fer sérique est détectée par les hépatocytes qui sécrètent en retour plus d'hepcidine en produisant ainsi une boucle de rétro-contrôle.

L'inactivation du gène de l'hepcidine chez la souris ou des mutations de ce gène chez l'homme entraîne une surcharge en fer des parenchymes et une déplétion des réserves en fer macrophagique.

---

<sup>100</sup> Beaumont et Karim.

<sup>101</sup> Beaumont et Karim.

## 2.2. Apport de fer par voie alimentaire

Le fer dans l'organisme dépend exclusivement des apports alimentaires. Son absorption digestive dépend de sa biodisponibilité, des nutriments qui l'accompagnent et de sa forme moléculaire. Sa qualité de fer héminique ou non héminique et les facteurs régulant son absorption déterminent le taux de fer dans l'organisme, plus que sa quantité en tant que telle.<sup>102</sup>

Le fer héminique se trouve dans les viandes, poissons, volailles et abats. Son absorption intestinale, de 20 à 30 %, est peu influencée par les autres aliments, le pH ou les sécrétions digestives. Le calcium, contenu notamment dans les produits laitiers, peut cependant la diminuer.<sup>103,104</sup>

Le fer non héminique se présente sous forme de fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) au sein de nombreuses protéines alimentaires : enzymes, transferrine, ferritine, hémossidérine. Il est présent dans les végétaux, le lait et les œufs, mais également le foie (sous forme de ferritine). Pour être absorbé, il doit être chélaté par des acides aminés ou des sucres, ou être converti en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). Il en résulte une absorption intestinale de 2 à 5 % seulement.<sup>105</sup> L'acide ascorbique et les viandes stimulent son absorption en favorisant la réduction de  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  ou en chélatant le fer non héminique. Les phytates (céréales complètes, légumes) et les polyphénols (thé, café, légumes, notamment épinards, aubergines et haricots noirs) se lient au fer et limitent son absorption.<sup>106,107</sup>

Dans les formules infantiles, l'utilisation de sels ferreux et l'adjonction de vitamine C améliorent l'absorption du fer qui varie de 10 à 20%. En effet, une dose de 75 mg de vitamine C au cours d'un repas permet d'augmenter l'absorption jusqu'à 12%. Dans les céréales infantiles enrichies en fer ferreux, l'ajout d'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) permet de réduire l'effet inhibant des phytates.<sup>108,109</sup> Enfin, une source de viande, de volaille ou de poisson, augmente l'absorption du fer non héminique.<sup>110</sup>

---

<sup>102</sup> Beaumont et Karim.

<sup>103</sup> Tounian et Chouraqui, « Fer et nutrition ».

<sup>104</sup> Collings et al., « The absorption of iron from whole diets: a systematic review ».

<sup>105</sup> Collings et al., « The Absorption of Iron from Whole Diets »

<sup>106</sup> Tounian et Chouraqui, « Fer et nutrition ».

<sup>107</sup> Hurrell et Egli, « Iron bioavailability and dietary reference values ».

<sup>108</sup> Hurrell et Egli,

<sup>109</sup> Tounian et Chouraqui, « Fer et nutrition ».

<sup>110</sup> Desbonnet, « Les aliments riches en fer contre l'anémie ».

Le fer contenu dans le lait de la mère est particulièrement bien absorbé grâce notamment à sa liaison à la lactoferrine et à la présence de récepteurs entérocytaires à cette dernière, qui facilitent l'absorption du fer qui lui est lié. Un taux d'absorption d'environ 50% est habituellement retenu.<sup>111</sup>

L'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) présente sur son site une table de composition nutritionnelle détaillée des aliments génériques consommés en France (Table Ciqua). Les fiches nutritionnelles regroupent les teneurs en différents constituants (glucides, protéines, lipides et acides gras, vitamines, minéraux...) ainsi que les valeurs énergétiques des aliments. Les données sont toujours proposées en mg pour 100 g d'aliment.<sup>112</sup> Cette liste d'aliments est très précise, non exhaustive, mais n'est pas représentative de ce que les Français consomment en moyenne dans leurs assiettes.

Ainsi, la teneur en fer des principaux aliments et la quantité de fer absorbée pour un coefficient d'absorption donné en dehors de toute carence martiale figurent sur le *tableau 3*, proposé par Tounian et Chouraqui (2017). Si certains végétaux comme les haricots, épinards ou lentilles sont plus riches en fer que les produits carnés, leur très faible coefficient d'absorption les rend difficilement utilisables comme source de fer. Ainsi, 100 g d'épinards permettent l'absorption de quatre fois moins de fer que la même quantité de viande de porc, alors qu'ils sont deux fois plus riches en fer.<sup>113</sup>

**Tableau 3 : Teneur en fer moyenne et quantité de fer absorbée selon le coefficient d'absorption des principales sources alimentaires**

	Teneur en fer (mg/100 g)	Coefficient d'absorption (%)	Quantité de fer absorbée (mg/100 g)
Boudin noir	23	20-30	4,6-6,9
Chocolat noir	10,7	2-5	0,21-0,54
Céréales pour petit déjeuner (moyenne)	7,8	2-5	0,16-0,39
Rognons	6,8	20-30	1,4-2,0
Chevreuil	6,1	20-30	1,2-1,8
Pigeon rôti	5,9	20-30	1,2-1,8
Foie de veau	5,1	20-30	1,0-1,5

<sup>111</sup> Tounian et Chouraqui, « Fer et nutrition ».

<sup>112</sup> Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, « Le fer ».

<sup>113</sup> Tounian et Chouraqui, « Fer et nutrition ».

	<b>Teneur en fer (mg/100 g)</b>	<b>Coefficient d'absorption (%)</b>	<b>Quantité de fer absorbée (mg/100 g)</b>
Caille	4,4	20-30	0,9-1,3
Abricot sec	4,3	2-5	0,09-0,22
Foie de génisse	4	20-30	0,8-1,2
Canard rôti	3,4	20-30	0,7-1,0
Viande de cheval	3,2	20-30	0,60-0,96
Viande de bœuf	3,0	20-30	0,60-0,90
Tofu	2,9	2-5	0,06-0,15
Steak haché de boeuf 20 % MG	2,5	20-30	0,50-0,75
Lapin	2,3	20-30	0,46-0,69
Haricots rouges	2,3	2-5	0,05-0,12
Bettes cuites	2,3	2-5	0,05-0,12
Viandes (moyenne)	2,2	20-30	0,44-0,66
Viande d'agneau	2,1	20-30	0,42-0,63
Raisins secs	2,1	2-5	0,04-0,11
Épinards cuits	2,1	2-5	0,04-0,11
Pruneaux	2,0	2-5	0,04-0,10
Guf	1,8	2-5	0,04-0,09
Dinde rôtie	1,8	20-30	0,36-0,54
Charcuterie (moyenne)	1,7	20-30	0,34-0,51
Haricots blancs	1,7	2-5	0,03-0,09
Mûre	1,7	2-5	0,03-0,09
Sardine	1,7	20-30	0,34-0,51
Hareng	1,6	20-30	0,32-0,48
Lentilles	1,6	2-5	0,03-0,08
Légumes secs (moyenne)	1,6	2-5	0,03-0,08
Baguette	1,5	2-5	0,03-0,08
Légumes cuits (moyenne)	1,3	2-5	0,03-0,07
Laits de croissance	1,3	10-20	0,13-0,26
Cuisse de poulet	1,2	20-30	0,24-0,36
Viande de veau	1,2	20-30	0,24-0,36
Laitages au lait de suite	1,1	10-20	0,11-0,22
Viande de porc	1,1	20-30	0,22-0,33

	Teneur en fer (mg/100 g)	Coefficient d'absorption (%)	Quantité de fer absorbée (mg/100 g)
Laits de suite (2e âge)	0,9	10-20	0,09-0,18
Frites	0,9	2-5	0,02-0,05
Laits pour nourrissons (ier âge)	0,6	10-20	0,06-0,12
Poisson pané	0,5	20-30	0,10-0,15
Poisson (en moyenne)	0,5	20-30	0,10-0,15
Blanc de poulet	0,4	20-30	0,08-0,12
Pomme de terre à l'eau	0,3	2-5	< 0,01
Fromages (moyenne)	0,2	2-5	< 0,01
Fruits (moyenne)	0,2	2-5	< 0,01
Cabillaud	0,1	20-30	0,02-0,03
Yaourts	0,1	2-5	< 0,01
Lait de chèvre entier	0,08	2-5	< 0,01
Lait de vache entier	0,05	2-5	< 0,01

Source : Tounian et al, « Fer et nutrition », 2017

On estime qu'un aliment contient une teneur haute en fer quand il couvre au moins 15% des recommandations des ANC pour 100 g de produit. Nous avons, par ailleurs, contacté une nutritionniste Mme Béatrice BENAVENT-MARCO, qui nous a listé les 10 aliments les plus riches en fer qu'elle recommande à ses patients pour couvrir leurs besoins et que l'on peut retrouver quotidiennement dans nos assiettes :

1. Le boudin noir
2. Le chocolat noir
3. Les palourdes, praires, coquillages
4. Rognons, foie, gésiers et autres abats
5. Bœuf, canard et autres viandes
6. Les céréales
7. Les lentilles
8. Les pois cassés
9. Pâtés et charcuterie
10. Anchois, sardines, harengs

Les Apports Nutritionnels Conseillés (ANC) en fer satisfaisant les besoins de la grande majorité de la population ont été estimés par l'ANSES à 16 mg/j pour les femmes et 9 mg/j pour les hommes et de 7 à 14 mg/j chez les enfants de 3 à 17 ans.<sup>114</sup> Il existe un accroissement des besoins chez la femme enceinte, avec un apport estimé à 20 mg/j.<sup>115</sup> En France, l'étude INCA2 (Étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires, 2006-2007) révèle des apports moyens en fer de 11,6 mg/j chez les femmes, de 14,7 mg/j chez les hommes (soit un apport supérieur à celui recommandé) et d'environ 10 mg/j chez les enfants.<sup>116</sup>

### 2.3. Données physiologiques de l'homéostasie du fer

La mesure du fer sérique, de la transferrine et du calcul du coefficient de saturation de la transferrine, ainsi que la mesure de la ferritine sérique sont les méthodes biochimiques courantes de l'évaluation du stock martial. Elles se font généralement via des analyses sanguines.<sup>117</sup>

Les analyses biologiques médicales permettent : d'établir un diagnostic, de surveiller un traitement, de dépister, de prévenir ou de contribuer à des données épidémiologiques.

Les données biologiques fournies par les laboratoires ne peuvent être interprétées que par comparaison à des normes établies à partir de résultats observés dans une population saine, c'est-à-dire de sujets en « bonne santé », sans signe de pathologie sous-jacente. Le *tableau 4* récapitule les valeurs usuelles, par sexe et par âge, relatives aux analyses liées à l'homéostasie du fer. Elles peuvent varier selon les méthodes de dosages utilisées. Elles sont exprimées en unité SI (la correspondance avec les unités conventionnelles est indiquée).

---

<sup>114</sup> Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, « Le fer ».

<sup>115</sup> Beaumont et Karim, « Métabolisme du fer : physiologie et pathologie ».

<sup>116</sup> Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, « Le fer ».

<sup>117</sup> Beaumont et Karim, « Métabolisme du fer : physiologie et pathologie ».

**Tableau 4 : Valeurs usuelles de l'homéostasie du fer en fonction de l'âge et du sexe**

Molécules Dosées	Milieu biologique	Sexe, âge	Valeurs usuelles (unités SI)	Facteur de conversion en « unité conventionnelle »
Fer	P – S	E	11 à 24 µmol/L	µmol/L × 55,55 = µg/L µmol/l × 5,555 = µg/%
		A	F 9 à 30 µmol/L      H 12 à 30 µmol/L	
Ferritine	S	N 2 à 6 mois	40 à 220 µg/L	
		N > 6 mois et E	15 à 80 µg/L	
		A	F 20 à 150 µg/L      H 30 à 300 µg/L	
Transferrine	S	E < 4 ans	1,70 à 3,50 g/L	mg/L × 25 = µmol/L
		E – A	2,20 à 4,0 g/L	
		A > 60 ans	1,8 à 3,1 g/L	
Hepcidine	U		Entre 10 et 200 ng/mg de créatinine	
Volume globulaire moyen (VGM)			80 à 100 fL*	
Hématocrite	Sg	F	40 à 54 %	
		H	37 à 45 %	
Hémoglobine	Sg	F	12 à 16 g %	
		H	13 à 18 g %	
Hématies	Sg	Nv-né	4,0 à 6,0 T/L**	
		E > 1 an	3,6 à 5,0 T/L**	
		A (F)	3,8 à 4,8 T/L**	
		A (H)	4,5 à 5,5 T/L**	
Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)			28 à 32 pg/hématie	
Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)			30 à 35 g/%	
Zn-protoporphyrine			< 715 nmol/L, soit < 2,5 µg/g d'hémoglobine (<	

érythrocytaire			400 µg /L)	
Récepteur soluble de la transferrine (Rtf)	S	A	0,8 à 1,75 mg/L	

Source : Auteur, d'après données eVidal

#### Légende du tableau :

P : plasma - S : sérum - U : urines - Sg : sang - Nv né : nouveau-né - N : nourrisson - E : enfant  
- A : adulte - H : homme - F : femme.

\* fL = 10<sup>-15</sup>L

\*\* T/L= 10<sup>12</sup>/L

Les valeurs normales du **fer sérique** sont comprises entre 9 à 30 µmol/L chez la femme et 12 à 30 µmol/L chez l'homme. La concentration de la **transferrine** est comprise entre 2 et 4 g/L chez l'adulte : elle permet de calculer la capacité totale de fixation du fer (CTF), sachant que chaque molécule de transferrine peut fixer deux atomes de fer.

$$\text{CTF} = \text{Transferrine (g/L)} \times 25 \text{ µmol fer/L}$$

Le **coefficient de saturation** est le rapport entre le fer sérique et la CTF. Les valeurs normales sont de 15 à 40% : des taux dépassant 50% chez la femme et 55% chez l'homme sont de bons indicateurs d'une surcharge en fer.<sup>118</sup>

La mesure de la **ferritine sérique** par dosage immuno-enzymatique a des valeurs normales de 20 à 300 µg/L. Elle augmente avec la surcharge en fer, mais aussi lors d'états inflammatoires et la cytolysse hépatique.

Le **dosage d'hepcidine** sérique peut constituer un complément important : par tests ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ou par la spectrométrie de masse.<sup>119</sup>

Ainsi, l'exploration des carences est détectée par :

- le dosage du fer, de la ferritine sérique et de la saturation de la transferrine (dosages habituels)
- le dosage des formes solubles du Récepteur soluble de la transferrine (Rtf) et de la protoporphyrine zinc : deux marqueurs sensibles de la carence en fer érythrocytaire.
- la diminution de la concentration en hémoglobine des réticulocytes

<sup>118</sup> Beaumont et Karim, « Métabolisme du fer : physiologie et pathologie ».

<sup>119</sup> Ganz et al., « Immunoassay for human serum hepcidin ».

- le dosage de l'hepcidine sérique : pour distinguer l'anémie ferriprive (hepcidine indétectable) de l'anémie inflammatoire (hepcidine élevée).

L'exploration des surcharges en fer se réalise par :

- les dosages habituels (fer, ferritine sérique, saturation de la transferrine)
- le dosage du fer dans le foie par IRM hépatique, ou par la recherche d'un excès de fer dans le cœur par IRM cardiaque.<sup>120</sup>

Enfin, Jagannathan *et al.* (2012) s'intéressent au dosage de ferritine salivaire, comme éventuel marqueur de l'anémie ferriprive. Ils rapportent un taux de ferritine salivaire significativement plus élevé chez des enfants atteints d'anémie ferriprive (153,24 µg/dL) comparé à des enfants sains (93,87 µg/dL).<sup>121</sup> Ce dosage a été réalisé par une technique **immunoenzymatique** en phase solide avec un kit Ferritin type ELISA disponible dans le commerce (Orgentec Diagnostika GmbH, Allemagne). D'autres organismes commerciaux vendent ce type de kit (prix entre 300 et 500 euros pour un kit de 96 tests).

## 2.4. Variations pathologiques

### 2.4.1. Déficit d'apport en fer

Trois stades de déficience en fer sont distingués, selon la sévérité :

- 1) La déplétion des réserves : caractérisée par une baisse isolée de la ferritine, inférieure à 12 µg/L, sans déficit de l'érythropoïèse
- 2) La déplétion des réserves tissulaires s'accompagnant d'une atteinte de l'érythropoïèse : caractérisée par une hypoferritinémie associée à une baisse du fer sérique et à une saturation de la transferrine. A ce stade, plusieurs paramètres érythrocytaires sont anormaux : une diminution du volume globulaire moyen (VGM), une diminution de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCHM) et une augmentation du taux de Zn-protoporphyrine érythrocytaire.
- 3) L'anémie ferriprive *stricto sensu* : caractérisée par une anémie microcytaire et hypochrome, ainsi qu'une diminution de la concentration d'hémoglobine.

- Les étiologies sont diverses : une insuffisance d'apport, une malabsorption digestive, une augmentation des besoins (nourrisson, croissance, grossesse...), des pertes sanguines excessives,

---

<sup>120</sup> Beaumont et Karim, « Métabolisme du fer : physiologie et pathologie ».

<sup>121</sup> Jagannathan et al., « Salivary ferritin as a predictive marker of iron deficiency anemia in children ».

notamment hémorragiques répétées ou distillantes (hémorragies minimes chroniques), avec une perte de 10 à 20 mL de sang par jour. Les causes sont gynécologiques chez la femme (métrorragies et les ménorragies) ou digestives (hémorroïdes, hernies hiatales, gastrites hémorragiques, ulcères gastroduodénaux, varices œsophagiennes, rectocolite hémorragique, angiodysplasies intestinales, polypes coliques et cancers gastrointestinaux).

- Les premiers signes fonctionnels sont une fatigabilité anormale et une dyspnée d'effort et la pâleur le premier signe physique objectif, amenant le patient à consulter.

- L'hémogramme montre une diminution de la concentration d'hémoglobine (< 12 g/dL chez la femme ; < 13 g/dL chez l'homme). Le nombre de globules rouges n'est pas toujours diminué, du moins dans les premiers temps. L'hypochromie (teneur et concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine TCMH < 25 pg et CCMH < 28g/dL) est toujours présente. Le fer sérique est abaissé (< 12 µmol/L), le coefficient de saturation de la transferrine également nettement, ainsi que la ferritine plasmatique.<sup>122</sup>

#### **2.4.2. Pathologies génétiques et/ou héréditaires à l'origine d'une déficience en fer**

- L'anémie microcytaire hypochrome génétique : due à un déficit de production d'hémoglobine par les érythrocytes, résultant soit d'une anomalie de synthèse de globine (hémoglobinopathie), soit d'une anomalie de synthèse de l'hème. Le déficit d'enzymes de la chaîne de biosynthèse de l'hème donne lieu à des porphyries ou une anémie sidéroblastique.

- L'anémie sidéroblastique héréditaire : un défaut d'utilisation du fer par les érythroblastes entraîne **son accumulation dans les mitochondries.**

- L'anémie hypochrome non sidéroblastique héréditaire, liées à des mutations génétiques.

#### **2.4.3. Surcharges en Fer**

On distingue classiquement deux catégories de surcharge en fer : les **surcharges acquises** et les **hémochromatoses héréditaires** ou secondaires (*Tableau 5*).

##### **2.4.3.1. Les hémochromatoses**

Les hémochromatoses sont dues à une absorption excessive du fer alimentaire au niveau du duodénum, entraînant une accumulation progressive de fer dans l'organisme.

Le diagnostic, basé sur des signes cliniques de surcharge en fer et l'augmentation du coefficient de saturation de la transferrine, passe aujourd'hui par des techniques de biologie

---

<sup>122</sup> Beaumont et Karim, « Métabolisme du fer : physiologie et pathologie ».

moléculaire à la recherche de mutation du gène HFE.<sup>123</sup> La surcharge se traduit par une accumulation dans les organes cibles : le système endocrinien, les articulations, la peau, le foie et le pancréas et cœur, avec les signes suivants :

- Fatigue chronique
- Douleurs articulaires : aux doigts, poignets et hanches
- Mélanodermie : brunissement de la peau, aspect grisâtre du visage, des grosses articulations et des organes génitaux
- Atrophie dermique et ichtyose : amincissement cutané avec aspect squameux ou en « écailles de poisson »
- Raréfaction des cheveux et des poils pubiens.<sup>124</sup>

Les différents types d'hémochromatoses héréditaires sont décrits dans le *tableau 5*.

**Tableau 5 : Classification des surcharges en fer de type hémochromatoses héréditaires**

Dénomination	Gène impliqué	Signes cliniques	Age d'apparition	Fréquence	Traitement
<b>HEMOCHROMATOSE HEREDITAIRES</b>					
Hémochromatose HFE1	HFE	Non spécifique au début, Complications tardives et l'absence de traitement	H 40 à 50 ans 55 ans	0,2 à 0,8%	Saignées
Hémochromatose juvénile HFE2a	Hémojuvéline	Signes sévères (Décompensation cardiaque favorisée par prise de vitamine C). Décès avant 35 ans	Dès l'enfance	Très rare	Saignées
Hémochromatose juvénile HFE2b	Hepcidine	Insuffisance antehypophysaire Cardiopathie	20 ans	Très rare	Saignées
HFE3	Tfr2	Signes comparables à HFE1	< 30 ans	Rare	Saignées
HFE4	Ferroportine	Surcharge importante au niveau du système réticuloendothélial	> 40 ans	Rare	Saignées mal tolérées parfois
HFE5	BMP6	Signes modérées d'hémochromatose à l'expression tardive	Adulte	Rare	?
Hémochromatose néonatale	?	Cirrhose insuffisance hépatocellulaire	À la naissance	Rare	Transplantation hépatique
Déficit héréditaire en céruléoplasmine	Gène céruléoplasmine	Diabète à surcharge parenchymateuse en fer et CSS bas	Dès l'enfance	Rare	Chélateur du fer
Atransferrinémie	Gène transferrine	Anémie hypochrome microcytaire associée à une surcharge parenchymateuse en fer (atteinte cardiaque et hépatique)	Enfance	Exceptionnelle	Chélateur du fer

Source : Dehan *et al.*, « Rôle du laboratoire dans le diagnostic et le suivi des hémochromatoses héréditaires »,

2007

<sup>123</sup> Dehan *et al.*, « Rôle du laboratoire dans le diagnostic et le suivi des hémochromatoses héréditaires ».

<sup>124</sup> Rochette et Brissot, « L'hémochromatose ».

#### 2.4.3.2. Les surcharges acquises

Parmi les elle, on recense :

- **Les maladies chroniques du foie**
  - La maladie alcoolique du foie : le vin rouge et autres boissons alcoolisées prises en excès contiennent du fer et les globules rouges du malade alcoolique sont fragiles, petits et prématurément détruits, ce qui libère du fer se déposant dans tous les organes. L'alcool altère le foie et donc la fabrication de la transferrine. Enfin, s'ajoute le fer apporté par les transfusions nécessaires à cause des hémorragies gastriques. Il en résulte une hyperferritinémie, qui peut atteindre 1000 à 2000 ng/mL.
  - L'hépatite chronique en particulier due au virus C. L'hyperferritinémie est environ de 800 à 1 000 ng/mL, la saturation de la transferrine est normale.
  - Les cirrhoses du foie.
  
- **Les maladies du sang** qui atteignent soit les globules rouges, soit l'hémoglobine qu'ils contiennent (comme les thalassémies ou anémies hémolytiques), soit la moelle osseuse. Les anémies dites hémolytiques tenant à l'aspect du globule rouge qui devient fragile et éclate. Dans tous les cas de maladies du sang, il y a une surcharge en fer par les transfusions surtout et par hyperabsorption digestive réflexe, pour compenser le manque de globules rouges.
  
- **La porphyrie cutanée tardive** peut être classée comme un cas particulier des maladies du sang. Il s'agit d'un déficit d'une enzyme de l'hémoglobine entraînant une surcharge en fer importante. Les signes cliniques se manifestent par une sensibilité extrême de la peau avec formation de bulles sur les mains, le visage et le dos.
  
- **Le syndrome polymétabolique** qui regroupe de nombreuses perturbations métaboliques chez l'adulte et qui s'accompagne d'une hyperferritinémie avec surcharge en fer du foie modérée (l'hyperferritinémie peut atteindre 800 ng/mL à 1500 ng/mL).

**Tableau 6 : Classification des surcharges en fer de type surcharges en fer secondaires**

Etiologie	Mécanisme	Facteurs associés/aggravants de la surcharge	Traitement surcharge
<b>SURCHARGES EN FER SECONDAIRES</b>			
Surcharge d'apport	Apport excessifs et prolongés de fer par os et intraveineuse	Trouble du métabolisme martial associé (mutation HFE, dysérythropièse)	Arrêt de l'apport
Hémopathies (dysérythropièse, anémies hémolytiques chroniques, maladie du globule rouge, thalassémies)	Hyperabsorption digestive du fer réactionnelle à l'état d'érythropièse inefficace	Transfusion répétées	Diminution de l'absorption de fer (thé, chélateurs)
Porphyrie cutanée tardive	Inconnu	Cofacteurs nécessaires (alcool, oestrogènes, hépatopathie mutation C282Y)	Traitement porphyrie Saignées
Hépatopathies chroniques toxiques (alcool) ou infectieuses (virus hépatotropes type hépatite C)	Multiple diminution de la durée de vie des globules rouges et déficit en transferrine et anastomose porto cave	Surcharge en fer favorisée par la présence de mutation C282Y hétérozygote	Traitement de l'hépatopathie
Syndrome métabolique irrrose	Association surcharge hépatique modérée en fer et troubles métaboliques divers (surpoids, diabète)	Présence fréquente (2/3 patients) de mutation HFE à l'état hétérozygote	Correction des troubles métaboliques Intérêt des saignées discuté (permettraient prévention athérome et cancer, favorisées par excès de fer)

Source : Dehan *et al.*, « Rôle du laboratoire dans le diagnostic et le suivi des hémochromatoses héréditaires », 2007

#### 2.4.3.3. Autres altérations du métabolisme du fer

- **Etats inflammatoires** : Les états inflammatoires s'accompagnent généralement d'une anémie modérée normo- ou légèrement microcytaire, et caractérisée sur le plan biologique par un fer sérique bas, une ferritinémie et une hepcidine sérique augmentée.
- **Autres** : déficits enzymatiques érythrocytaires (pyruvate kinase), désérythropièse congénitale, anémie de Blackfan-Diamond, érythroblastopénie chronique, certaines insuffisances médullaires globales, certains syndromes myélodysplasiques, hémopathies malignes traitées par chimiothérapie et transfusions itératives.

#### 2.4.3.4. Interprétation des variations pathologiques lors d'analyses sanguines

Le *tableau 7* récapitule les causes d'augmentation ou de diminution des examens de routine (fer sérique, transferrine, coefficient de saturation de la transferrine, ferritine sérique) prescrit lors de l'évaluation du stock martial.

**Tableau 7 : Variations pathologiques du bilan martial de première intention**

Analyse	Diminution	Augmentation
Fer sérique	Anémie ferriprive Syndromes inflammatoires Infections Cancers Etat de choc Infarctus du myocarde Insuffisance rénale chronique	Surcharges en fer héréditaires, acquises Hépatites, cirrhoses Ethylisme Déficit en folates ou vitamine B12 Hémolyses (in vitro ou in vivo) Leucémies aiguës Syndrome myélodysplasique
Transferrine	Surcharge en fer Syndrome inflammatoire Infections Insuffisance hépatocellulaire Néphropathie Cancers Malnutrition Atransferrinémie constitutionnelle	Anémie ferriprive Grossesse Contraceptifs oraux
Coefficient de saturation de la transferrine	Déplétion martiale Anémie ferriprive grossesse Inflammation Infections	Surcharges Anémies hypersidérémiques Alcool Cytolyse (musculaire, hépatique, hématies)
Ferritine sérique	Déplétion des réserves	Surcharge en fer Administration intraveineuse de fer Syndromes inflammatoires Pathologie hépatique Ethylisme Cancers viscéraux Lymphomes, maladie de Hodgkin Hémoglobinopathies Leucémies aiguës Hyperthyroïdies Traitement hormonal thyroïdiens Syndrome hyperferritinémie cataracte Maladie de Still Syndrome d'activation macrophagique

Source : Dehan *et al.*, « Rôle du laboratoire dans le diagnostic et le suivi des hémochromatoses héréditaires », 2007

## 2.5. Apport de fer par voie médicamenteuse

Le traitement des carences en fer consiste en apport de sels ferreux, mieux absorbés que les sels ferriques, par voie orale (ex : ascorbate, citrate, fumarate, gluconate, etc.) à la dose de **150 à 200 mg par jour** chez le grand enfant et l'adulte, et adapté au poids et à l'âge chez le nourrisson et petit

enfant (**10 mg/kg par jour**).<sup>125</sup> L'administration de fer par voie intraveineuse est de plus en plus utilisée, surtout en cas de malabsorption ou d'intolérance au fer per os, ou en cas d'anémie inflammatoire, en situation post-chirurgicale ou en réanimation.<sup>126</sup>

D'après le VIDAL, 29 médicaments commercialisés en France contiennent du fer en substance active, dont 16 contenant la substance active seule. L'annexe 1 rassemble l'ensemble de ces spécialités médicamenteuses, leur composition en fer, leurs indications et posologies courantes.

Une pathologie entraînant une surcharge en fer ou une carence supplée par une prise médicamenteuse, peut être à l'origine d'apport en fer dans la cavité buccale des patients atteints de BS. Ainsi, il convient soit de noter ces informations lors de l'entretien médical. En cas d'absence de pathologie ou de prise de médicament, il faudra rechercher une autre source, d'origine alimentaire. Enfin, si aucun apport alimentaire riche en fer n'est a priori rapporté, la présence de BS pourrait à l'inverse être le signe d'une pathologie liée au fer, non encore dépistée.

---

<sup>125</sup> Beaumont et Karim, « Métabolisme du fer : physiologie et pathologie ».

<sup>126</sup> Beaumont et Karim, « Métabolisme du fer : physiologie et pathologie »

## 3 : Sources possibles de lactoferrine dans la cavité buccale

---

### 3.1. Structure de la lactoferrine et interaction avec le fer

La lactoferrine est une glycoprotéine qui appartient à la famille des transferrines, isolée pour la première fois en 1960. Elle est produite par des cellules épithéliales des muqueuses chez diverses espèces de mammifères, y compris les humains. Cette glycoprotéine se trouve dans les sécrétions muqueuses, dont les larmes, la salive, les sécrétions vaginales, le sperme, les sécrétions nasales et bronchiques, la bile et les fluides gastro-intestinaux, l'urine et surtout le lait et le colostrum, ce qui en fait la deuxième protéine la plus abondante dans le lait maternel, après les caséines. Elle se retrouve également dans les fluides corporels tels que le plasma sanguin et le liquide amniotique.

Elle présente une homologie de sa structure primaire avec la transferrine à 59% et une conformation spatiale presque similaire. Leurs sites de liaison sont identiques : elles contiennent deux sites qui leur permettent chacun de fixer un ion ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ). En revanche, elle possède une plus grande affinité de liaison au fer que la transferrine.<sup>127</sup>

De par leur charge de surface différente (pHi de 8,4-9 pour la lactoferrine et de 5,4-5,9 pour la transferrine), la stabilité de fixation du fer ferrique de la lactoferrine en fonction du pH est supérieure. Il faut en effet un pH inférieur à 2 pour dissocier le fer de la lactoferrine, alors qu'un pH inférieur à 6 suffit pour la transferrine.<sup>128</sup> C'est la seule transferrine capable de retenir ce métal sur une large gamme de pH, y compris un pH extrêmement acide. La lactoferrine a donc une affinité pour le fer sensiblement supérieure à celle de la transferrine à pH neutre

La lactoferrine (*Figure 11*) est une protéine glycosylée de 80 kDa, constituée de 700 acides aminés. Elle se compose d'une chaîne polypeptidique simple repliée en deux lobes symétriques (lobes N et C), hautement homologues (33-41% d'homologie). Cette chaîne comprend les acides aminés 1-332 pour le lobe N et 344-703 pour le lobe C et est constituée de structures en feuilles en hélice  $\alpha$  et en plis  $\beta$  qui créent deux domaines pour chaque lobe (domaines I et II). Ces deux lobes sont reliés par une région charnière contenant les parties d'une hélice  $\alpha$  entre les acides aminés 333 et 343 dans la lactoferrine humaine, ce qui lui confère une plus grande flexibilité. Chaque lobe peut lier un atome de métal **en synergie avec l'ion carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ )**.<sup>129</sup> Le bicarbonate est essentiel pour la fixation du fer. La présence de citrate peut déplacer le bicarbonate de la lactoferrine, qui du coup, relargue le fer. Le citrate entre en compétition avec la lactoferrine pour le fer mais il le fixe sous une

---

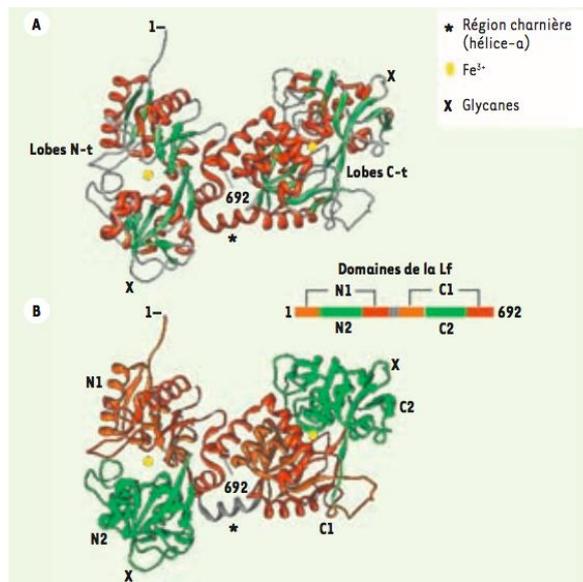
<sup>127</sup> González-Chávez, Arévalo-Gallegos, et Rascón-Cruz, « Lactoferrin: structure, function and applications ».

<sup>128</sup> Pierce, Legrand, et Mazurier, « La lactoferrine ».

<sup>129</sup> González-Chávez, Arévalo-Gallegos, et Rascón-Cruz, « Lactoferrin: structure, function and applications ».

forme qui le laisse disponible pour les bactéries.<sup>130</sup> La fixation du fer dépend ainsi du rapport bicarbonate/citrate. Du fait de cette fixation réversible du  $\text{Fe}^{3+}$ , la lactoferrine peut exister sous une forme libre de  $\text{Fe}^{3+}$  (l'apo-lactoferrine) ou associée à l'ion  $\text{Fe}^{3+}$  (l'holo-lactoferrine). Les deux sont de conformation tridimensionnelle différente : l'apo-lactoferrine a une conformation ouverte, tandis que l'holo-lactoferrine est une conformation fermée, avec une plus grande résistance à la protéolyse.<sup>131</sup>

**Figure 11 : Structure tridimensionnelle de la lactoferrine**



Source : Pierce *et al.*, « La lactoferrine : une protéine multifonctionnelle », 2009

Légende :

A. Structure bilobée de la molécule avec les hélices  $\alpha$  (en orange) et les feuillets  $\beta$  (en vert). Les acides aminés N-t et C-t sont indiqués.

B. Organisation en 4 domaines : N1 et N2, ainsi que C1 et C2 pour les lobes N-t et C-t. Les sites de fixation du fer sont localisés aux interfaces entre chaque paire de domaines (en jaune)

<sup>130</sup> Sériey, *Le tarissement des vaches laitières : une période-clé pour la santé, la production et la rentabilité du troupeau*.

<sup>131</sup> González-Chávez, Arévalo-Gallegos, et Rascón-Cruz, « Lactoferrin: structure, function and applications ».

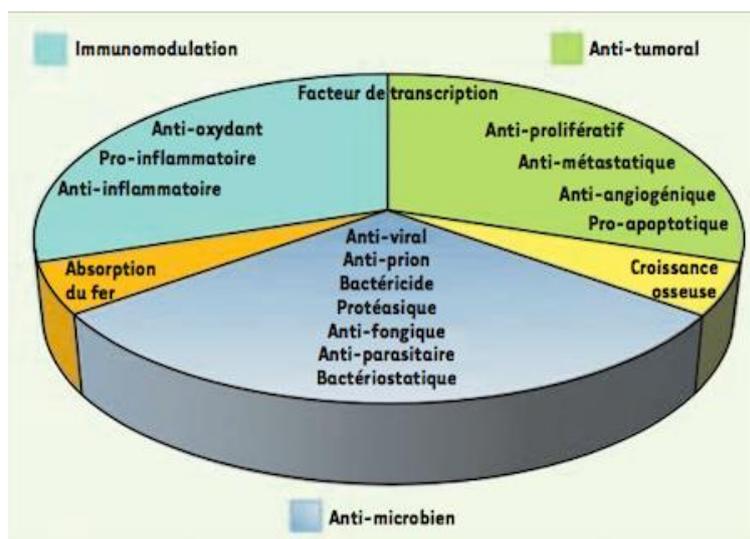
## 3.2 Propriétés de la lactoferrine

### 3.2.1. La lactoferrine humaine

La lactoferrine est une protéine multifonctionnelle impliquée dans des processus physiologiques, comme la régulation de l'absorption du fer dans l'intestin ou la réponse immunitaire par son action d'immuno-modulatrice, mais elle présenterait également des propriétés anti-inflammatoires et anti-tumorales (Figure 12).<sup>132</sup>

Elle est considérée comme un élément clé dans la première ligne de défense de l'hôte, du fait de sa capacité à répondre à une variété de changements physiologiques et environnementaux.

Figure 12 : Présentation des multiples fonctions de la lactoferrine



Source : Pierce *et al.*, « La lactoferrine : une protéine multifonctionnelle », 2009

Mais sa protection contre l'infection microbienne est à ce jour, sa fonction la plus étudiée. Elle repose principalement sur deux mécanismes. Le premier est la séquestration du fer présent sur les sites d'infection, qui prive le micro-organisme de ce nutriment, créant ainsi un effet bactériostatique. Le second est son interaction directe avec l'agent infectieux. En effet, ses acides aminés positifs peuvent interagir avec des molécules anioniques présentes sur certaines surfaces bactériennes, virales, fongiques et parasitaires, provoquant une lyse cellulaire.

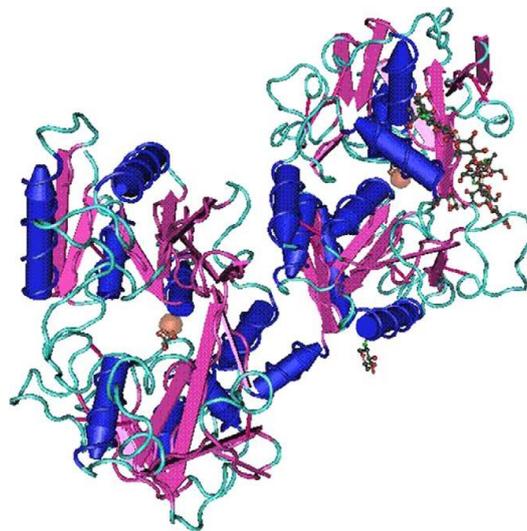
<sup>132</sup> Pierce, Legrand, et Mazurier, « La lactoferrine ».

Compte tenu de toutes ces actions, la lactoferrine est considérée comme un nutraceutique et depuis plusieurs décennies, les chercheurs ont travaillé sur les méthodes les plus simples d'en produire. Aujourd'hui, elle peut être obtenue sous forme de lactoferrine native isolée principalement du lait.<sup>133</sup>

### 3.2.2. La lactoferrine bovine

La lactoferrine bovine (*Figure 13*) est également une glycoprotéine liant le fer, d'environ 77 kDa, naturellement présente dans le lait de vache. Elle se compose d'une seule chaîne polypeptidique de 689 acides aminés. Elle présente globalement les mêmes caractéristiques que la lactoferrine humaine.

**Figure 13 : Structure tridimensionnelle de la lactoferrine bovine bi-ferrique à 2,8 Angstroms**



Source : Shanbacher *et al.*, "Bovine mammary lactoferrin: implications from messenger ribonucleic acid (mRNA) sequence and regulation contrary to other milk proteins", 1992

Mesonjesi en 2012 suggère que la présence de BS serait corrélée à une forte consommation de lait et/ou de fromage, naturellement riche en lactoferrine bovine. Originaire d'Albanie, où la consommation en produits laitiers est importante, il a mené une étude sur 94 de ses patients atteints de BS, âgés de 7 à 53 ans, en évaluant leur consommation quotidienne en produits laitiers. Il en conclut un lien possible entre BS et fréquente consommation de lait et fromages. A noter que la quantité en lactoferrine bovine intacte des spécialités laitières et fromagères dépend de leur procédé

---

<sup>133</sup> González-Chávez, Arévalo-Gallegos, et Rascón-Cruz, « Lactoferrin: structure, function and applications ».

de fabrication. Elle est notamment plus forte dans les fromages à base de lait cru, car peu dénaturée, ce qui est le cas de la plupart des fromages en Albanie.<sup>134</sup>

**Tableau 8 : Consommation de produits laitiers chez les patients atteints de *black stain***

Produits laitiers (par jour)	Fromage ≥ 50 g/j	Fromage < 50 g/j	Fromage + 1 verre de lait ou plus
Nombre de patients (parmi les 94 patients)	90 (soit 95,8%)	4 (soit 4,2%)	39 (soit 41,5%)

Source : Mesonjesi, « Are extrinsic black stains of teeth iron-saturated bovine lactoferrin and a sign of iron deficient anemia or iron overload ? », 2012

La fixation du fer dans la salive par la lactoferrine bovine, adhérente aux dents même à des pH très bas, pourrait donc expliquer l'apparition des BS chez des patients avec un régime alimentaire à dominance laitière ou fromagère.

La notion de protéine native ou dénaturée est très importante ici. En effet, si la lactoferrine bovine intervient dans le phénomène des BS, il faut qu'elle exerce pleinement ses propriétés de captation du fer. Or les procédés de pasteurisation et de stérilisation auxquels sont soumis les aliments peuvent perturber les fonctions de la lactoferrine. D'après un rapport de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) en 2010, sur l'autorisation de mise sur le marché de la lactoferrine, l'agence s'interroge sur l'équivalence nutritionnelle entre la lactoferrine bovine native et la lactoferrine plus ou moins dénaturée.<sup>135</sup> Schwarcz *et al.* (2008) montrent que la pasteurisation du lait est susceptible d'induire une modification de la structure tertiaire de la lactoferrine bovine et donc ses propriétés<sup>136</sup>. En effet, ils ont examiné ses changements de conformation lors d'une exposition à la chaleur, en utilisant des techniques spectroscopiques, telles que le dichroïsme circulaire et la spectroscopie de fluorescence. Les données de dichroïsme circulaire à 70° C montrent que la structure secondaire de la lactoferrine est affectée de façon drastique et irréversible lorsque la température est progressivement augmentée. Le même effet est observé lorsque la température est progressivement augmentée de 25° à 105° par spectroscopie de fluorescence. Toutefois, en simulant

<sup>134</sup> Mesonjesi, « Are extrinsic black stains of teeth iron-saturated bovine lactoferrin and a sign of iron deficient anemia or iron overload ? »

<sup>135</sup> Agence française de sécurité sanitaire des aliments, « Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'évaluation du rapport d'évaluation initiale des autorités néerlandaises concernant la mise sur le marché d'un nouvel ingrédient alimentaire : lactoferrine bovine ».

<sup>136</sup> Schwarcz et al., « Conformational changes in bovine lactoferrin induced by slow or fast temperature increases ».

le processus de pasteurisation, la structure de la lactoferrine n'est pas affectée. Ainsi, la lactoferrine serait sensible aux augmentations graduelles de température, mais la pasteurisation conduirait probablement à une conformation distincte, non indigène, mais non complètement dénaturée.

Une revue récente sur la lactoferrine bovine apporte de nouvelles réponses concernant la stabilité de la lactoferrine bovine, introduite sous forme de poudre dans les préparations alimentaires industrielles.<sup>137</sup> Les résultats d'une étude ont montré que les poudres de lactoferrine séchées par atomisation et lyophilisation avaient une dénaturation négligeable (<2%). Leur activité antioxydante était similaire à celle de lactoferrine fraîchement filtré par membrane. Bien que les températures d'entrée et de sortie du procédé de séchage par pulvérisation se situent dans les limites de la température de dénaturation de la lactoferrine native, le temps de séchage et d'exposition très court a permis d'éviter la dénaturation pendant le séchage par pulvérisation. La combinaison d'une température basse et d'un temps de congélation et de séchage raisonnable lors du procédé de lyophilisation a également évité la dénaturation. Le résultat de cette étude impliquait que les industries pouvaient produire des poudres de lactoferrine bovine sans perdre leur intégrité structurelle et leurs propriétés fonctionnelles en choisissant des paramètres de processus de séchage par atomisation et par lyophilisation convenablement optimisés.<sup>138</sup>

### **3.3. Source alimentaire de lactoferrine bovine**

Les laitages constituent la source principale de lactoferrine bovine apportés chaque jour dans l'organisme par les prises alimentaires. Un laitage est un aliment à base de lait (beurre, fromage, crème, yaourt, desserts lactés). Nous nous sommes intéressés aux sources alimentaires pouvant apporter de la lactoferrine bovine native, pour expliquer son interaction dans le phénomène des BS.

La pasteurisation est la première étape dans le procédé de fabrication des produits laitiers. Elle a pour but d'éliminer un certain nombre de micro-organismes indésirables pour l'homme. Le lait est placé au contact de plaques chaudes pendant 15 s, le temps de le faire chauffer progressivement à la température de 72°C, température à laquelle les micro-organismes non désirés disparaissent.<sup>139</sup>

Les spécialités laitières et fromagères au lait cru ne sont pas soumises à ce processus de pasteurisation. Le lait cru est un lait fragile. Il est embouteillé directement à la ferme, après la traite des vaches, où il est soumis à des contrôles stricts, puis déposé en magasin, au rayon frais. On le reconnaît à son bouchon jaune. Le lait cru se conserve au maximum 72 heures au frais après mise en

---

<sup>137</sup> Wang et al., « Lactoferrin ».

<sup>138</sup> Wang et al.

<sup>139</sup> Centre national interprofessionnel de l'économie laitière, « Le circuit et les différentes étapes de la fabrication du lait ».

bouteille.<sup>140</sup> Une spécialité laitière au lait cru est un produit vivant fabriqué avec du lait de vache, de brebis ou de chèvre, qui n’a pas subi de traitement thermique supérieur à 40°C. De ce fait, la flore lactique originelle qu’il contient, très diversifiée, est préservée de même que les systèmes enzymatiques qui jouent un rôle complexe à toutes les étapes de la fabrication et de l’affinage. Au sein de l’Union Européenne, l’appellation d’origine protégée (AOP) est le seul rempart contre les pressions d’industriels souhaitant la généralisation du fromage au lait pasteurisé. On compte en France 45 fromages, 3 beurres et 2 crèmes bénéficiant d’une Appellation d’Origine Protégée (AOP) à base de lait cru (*Tableau 9*).<sup>141</sup> Ces spécialités laitières contiennent donc de la lactoferrine bovine native, non dénaturée et complètement effective dans son rôle de captation du fer.

**Tableau 9 : Spécialités françaises AOP à base lait cru**

Noms des spécialités françaises AOP à base de lait cru		
Lait de vache	Lait de brebis	Lait de chèvre
<b>Fromages :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Abondance</li> <li>- Beaufort</li> <li>- Bleu d’auvergne</li> <li>- Bleu de Gex Haut-Jura</li> <li>- Bleu des Causes</li> <li>- Bleu du Vercors – Sassenage</li> <li>- Brie de Meaux</li> <li>- Brie de Melun</li> <li>- Camembert de Normandie</li> <li>- Cantal</li> <li>- Chaource</li> <li>- Comté</li> <li>- Epoisses</li> <li>- Fourme d’Ambert</li> <li>- Fourme de Montbrisson</li> <li>- Laguiole</li> <li>- Langres</li> <li>- Livarot</li> <li>- Maroilles</li> <li>- Mont d’or</li> <li>- Morbier</li> <li>- Munster</li> <li>- Neufchâtel</li> <li>- Pont – l’Eveque</li> <li>- Reblochon</li> <li>- Saint – nectaire</li> <li>- Salers</li> <li>- Tome des Bauge</li> </ul> <b>Beurres et Crèmes :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Beurre Charentes – Poitou</li> <li>- Beurre et crème d’Isigny</li> <li>- Beurre et crème de Bresse</li> </ul>	<b>Fromages :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Brocciu</li> <li>- Ossau – Iraty</li> <li>- Roquefort</li> </ul>	<b>Fromages :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Banon</li> <li>- Chabichou du Poitou</li> <li>- Charolais</li> <li>- Chavignol</li> <li>- Chevrotin</li> <li>- Mâconnais</li> <li>- Pélardon</li> <li>- Picodon</li> <li>- Pouligny Saint Pierre</li> <li>- Rigotte de Condrieu</li> <li>- Rocamadour</li> <li>- Sainte Maure de Touraine</li> <li>- Selles sur Cher</li> <li>- Valençay</li> </ul>

<sup>140</sup> Centre national interprofessionnel de l’économie laitière.

<sup>141</sup> Centre national interprofessionnel de l’économie laitière.

Source : Auteur, d'après Centre national interprofessionnel de l'économie laitière, « Le circuit et les différentes étapes de la fabrication du lait »

Toutefois, comme le montre l'étude de Schwarcz *et al.* (2008), la fonctionnalité de la lactoferrine bovine des aliments pasteurisée n'est pas certaine.<sup>142</sup> Il ne faut donc pas écarter les autres sources potentielles de lactoferrine bovine qui peuvent jouer un rôle dans le processus de formation des BS. D'après le site <https://www.produits-laitiers.com>, nous pouvons inclure d'autres catégories d'aliments potentiellement riches en lactoferrine bovine : les laits, les crèmes, les beurres, les fromages, les yaourts et les desserts lactés (composés d'au moins 50% de lait).<sup>143</sup>

La lactoferrine bovine peut aussi être ajoutée à des préparations alimentaires industrielles. En effet, la dernière commission européenne mentionnant l'autorisation de mise sur le marché de la lactoferrine bovine date du 22 novembre 2012. Le Journal officiel de l'Union Européenne stipule l'autorisation de la mise sur le marché de la lactoferrine bovine pour les usages alimentaires indiqués dans le *tableau 10* et aux doses maximales qui y sont notées. Ce document mentionne que la lactoferrine bovine est « isolée du lait écrémé par un procédé d'échanges d'ion suivi de plusieurs étapes d'ultrafiltration. Le produit ainsi obtenu est séché par atomisation et tamisé, de manière que les grosses particules en soient éliminées ». Le produit obtenu se présente sous une forme de « poudre rose clair quasiment inodore ». Ce document précise aussi que toute source alimentaire mise sur le marché contenant de la lactoferrine bovine doit faire l'objet de la mention « lactoferrine de lait de vache » sur l'étiquette des denrées qui en contiennent et proposent un tableau (*Tableau 10*) de catégorie de denrées alimentaires pouvant en contenir.

---

<sup>142</sup> Schwarcz *et al.*, « Conformational changes in bovine lactoferrin induced by slow or fast temperature increases ».

<sup>143</sup> Centre national interprofessionnel de l'économie laitière, « Le circuit et les différentes étapes de la fabrication du lait ».

**Tableau 10 : Usages de la lactoferrine bovine sur le marché européen**

USAGES DE LA LACTOFERRINE BOVINE (LFb)	
Catégorie de denrées alimentaires	Doses maximales de LFb
Préparations pour nourrissons et préparations de suite (prêtes à la consommation)	100 mg/100 ml
Denrées alimentaires à base de produits laitiers destinées aux enfants en bas âge (prêtes à la consommation)	200 mg/100 g
Préparations à base de céréales (état solide)	670 mg/100 g
Denrées alimentaires destinées à des fins médicales spéciales	Jusqu'à 3 g/jour, en fonction des besoins de l'individu
Boissons à base de lait	200 mg/100 g
Mélanges en poudre à base de lait pour boissons (prêts à la consommation)	330 mg/100 g
Boissons à base de lait fermenté (boissons au yaourt comprises)	50 mg/100 g
Boissons non alcoolisées	120 mg/100 g
Produits à base de yaourt	80 mg/100 g
Produits à base de fromage	2 000 mg/100 g
Crèmes glacées	130 mg/100 g
Gâteaux et pâtisseries	1 000 mg/100 g
Confiseries	750 mg/100 g
Gommes à mâcher	3 000 mg/100 g

Source : Commission européenne, « Décision d'exécution de la commission autorisant la mise sur le marché de la lactoferrine bovine en tant que nouvel ingrédient alimentaire en application du règlement (CE) n° 258/97 du Parlement européen et du conseil », 22 novembre 2012

Une grande gamme de produits alimentaires peuvent en contenir, en particulier les gommes à mâcher (3000 mg/100 g), devant les produits à base de fromage (2000 mg/100g) et la catégorie « gâteaux et pâtisseries » (1000 mg/100 g).

L'AFSSA avait publié un document officiel le 3 juin 2010, concernant l'autorisation de mise sur le marché français de la lactoferrine bovine par des pétitionnaires néerlandais. Des valeurs proches de celles publiées par le Journal Officiel de l'Union Européenne en 2012 sont retrouvées. Elles sont notées en mg/100 g de produit. De même, la lactoferrine était introduite dans de nombreux produits (*Tableau 11*).

**Tableau 11 : Catégories de produits et taux d'enrichissement maximaux en lactoferrine bovine envisagés par le pétitionnaire néerlandais**

Catégories de produits	Concentration maximale en lactoferrine bovine (mg/100g)
Nutrition infantile – Préparations pour nourrissons et préparations de suite	100
Nutrition infantile – Laits de croissance	200
Nutrition infantile – Aliments de sevrage	667
Addfms* – Formules liquides et en poudre	125
Addfms – Nutrition entérale et parentérale	50
Addfms – Autres	800
Nutrition du sportif – Formules liquides et en poudre	303
Nutrition du sportif – Barres énergétiques	4000
Boissons sans alcool	120
Gâteaux et pâtisseries	1000
Produits fromagers	2000
Lait et produits laitiers	200
En-cas	1200
Confiseries	750

Source : Agence française de sécurité sanitaire des aliments, « Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'évaluation du rapport d'évaluation initiale des autorités néerlandaises concernant la mise sur le marché d'un nouvel ingrédient alimentaire : lactoferrine bovine », juin 2010

L'AFSSA note que le pétitionnaire ne justifie pas l'affirmation selon laquelle son procédé de production ne dénature pas la lactoferrine bovine dans ce rapport et s'interroge sur l'équivalence nutritionnelle entre la lactoferrine bovine native et la lactoferrine plus ou moins dénaturée.<sup>144</sup>

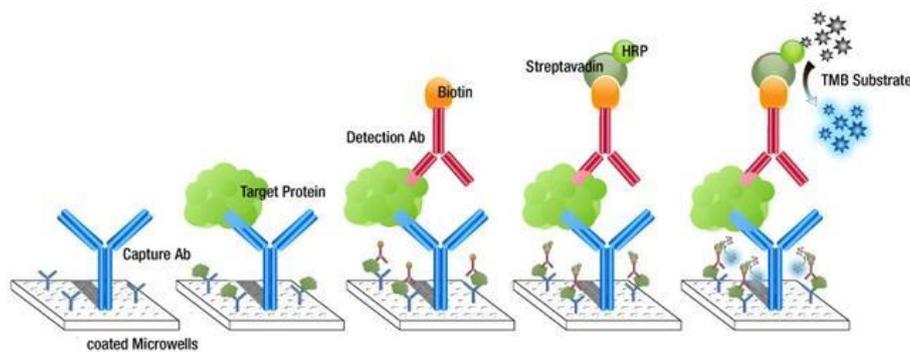
### 3.4 Voies et méthodes de dosage de la lactoferrine bovine

Le dosage de la lactoferrine est possible grâce à des techniques immuno-enzymatiques, comme la technique ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*). C'est un test immunologique destiné à détecter et/ou doser une protéine dans un liquide biologique. Le test immuno-enzymatique le plus largement utilisé est le test ELISA de type sandwich. Il a été développé à partir d'un sérum de lapin immunisé contre la lactoferrine bovine. Les immunoglobulines (IgG) de ce sérum ont été purifiées par chromatographie d'échanges d'ions. Une fraction des IgG a été marquée à la peroxydase (IgG-HRP). Les plaques ELISA sont sensibilisées avec les IgG purifiées et stabilisées. Elles sont fournies prêtes-à-l'emploi. Lors des essais, les standards et les échantillons sont incubés dans les puits des plaques sensibilisées. La lactoferrine bovine présente est capturée par les IgG anti-Blf (Blf :

<sup>144</sup> Agence française de sécurité sanitaire des aliments, « Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'évaluation du rapport d'évaluation initiale des autorités néerlandaises concernant la mise sur le marché d'un nouvel ingrédient alimentaire : lactoferrine bovine ».

lactoferrine bovine). Après l'étape de lavage, les IgG-HRP sont distribuées dans les puits. Celles-ci réagissent avec le complexe formé lors de l'étape précédente. La distribution d'un substrat chromogène (TMB) permet alors de révéler l'ensemble formé (Figure 14). Après addition de la solution d'arrêt, les densités optiques sont lues à 450 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques. La concentration en lactoferrine bovine est proportionnelle à la densité optique mesurée.

**Figure 14 : Principe d'un dosage immuno-enzymatique par un test ELISA de type sandwich**



Source : ID Biotech, « ELISA bLF kit : manuel d'utilisation », 2008

Les kits ELISA destinés au dosage de la lactoferrine bovine sont largement commercialisés et diffusés sur les plateformes internet par les laboratoires. Le coût d'une plaque contenant 96 puits est aux alentours de 400 à 600 euros en moyenne.

### **Hypothèse du rôle de la lactoferrine bovine dans le phénomène des BS**

Plaçons-nous dans la situation d'un patient avec une surcharge en fer : l'excès dans la cavité buccale serait présent soit dans la salive, soit dans le fluide gingival (ce qui expliquerait la localisation des BS à la marge de la gencive) ou soit dans le sang, en cas de saignement.

Lors de l'apport de lactoferrine par l'alimentation, notamment les produits laitiers, celle-ci se fixerait préférentiellement avec une haute adhérence sur la plaque dentaire grâce à ses 4 chaînes glycanes.<sup>145</sup> En effet, on retrouve dans la pellicule acquise exogène des complexes enzymatiques : les glycosyltransférases. Les glycanes, très collants se fixent de manière spécifique aux glycosyltransférases. Ainsi les protéoglycanes, comme la lactoferrine bovine, ont une plus grande adhérence dans la formation de ces complexes car elle présente plusieurs chaînes de glycanes.

<sup>145</sup> Mesonjesi, « Are extrinsic black stains of teeth iron-saturated bovine lactoferrin and a sign of iron deficient anemia or iron overload ? »

Elle fixe avec une haute affinité le fer présent en excès, plus que la transferrine et peut-être probablement plus que la lactoferrine humaine jusqu'à saturation.

En cas de présence d'acide citrique à concentration élevée, celui-ci va entrer en compétition avec le bicarbonate de la lactoferrine, qui relarguerait alors son fer. Or justement, le citrate est le produit de la première étape du cycle de Krebs, que l'on peut retrouver chez les bactéries aérobies, notamment *Cardiobacterium*, bactérie retrouvée de manière prépondérante selon Li dans les BS (2015). D'autres bactéries, pourraient alors produire, en présence de ce fer, des dépôts de sulfure ferrique, à l'origine de ces précipités noirs.

## 4 : Proposition d'un protocole de recherche

---

Dans ce dernier chapitre, nous proposerons une ébauche de protocole d'étude visant à confirmer l'hypothèse de l'association de trois facteurs dans le processus de formation des BS.

### 4.1. Informations relevées chez des patients avec BS

#### 4.1.1. Entretien clinique

Nous avons élaboré un questionnaire (*Annexe 2*) visant à valider l'hypothèse d'une triade étiologique à l'origine de la formation des BS. Celui-ci sera rempli lors de la consultation : le praticien guidera l'entretien et aidera le patient à y répondre.

- **Généralités**

Cette première partie permet de recueillir des informations sur l'origine du patient, ses antécédents médicaux, mais aussi familiaux concernant la présence de BS, sachant que certains auteurs ont souligné que les parents ou la fratrie d'un enfant atteint pouvaient aussi en présenter.<sup>146,147</sup>

- **Éléments concernant les périodes pré/néo/post-natales**

Cette partie recherche le lien significatif, souligné par certaines études, entre la présence de BS et la supplémentation en fer des mères pendant la grossesse.<sup>148</sup> Elle s'intéresse aussi à la transmission de flore bactérienne de la mère à l'enfant lors de l'accouchement, notamment par voie naturelle, également mise en évidence dans la littérature.<sup>149</sup>

- **Apports en fer**

Cette partie recherche les sources potentielles de fer via l'alimentation ou les médicaments, en référence aux différentes études établissant un lien entre le fer et la formation des BS.<sup>150</sup> Un tableau

---

<sup>146</sup> Tripodi et al., « Black stains: a microbiological analysis and a view on familiarity and susceptibility to tooth decay of patients in childhood ».

<sup>147</sup> Bandon, Chabane-Lemboub, et Gall, « Les colorations dentaires noires exogènes chez l'enfant ».

<sup>148</sup> Garcia Martin et al., « Prevalence of black stain and associated risk factors in preschool Spanish children ».

<sup>149</sup> Dogra et al., « Dynamics of infant gut microbiota are influenced by delivery mode and gestational duration and are associated with subsequent adiposity ».

<sup>150</sup> Garcia Martin et al., « Prevalence of black stain and associated risk factors in preschool Spanish children ».

recense par catégorie les aliments les plus riches en fer, établi à partir de la table CiQual.<sup>151</sup> L'ensemble des spécialités médicamenteuses avec du fer en substance active sont aussi référencées.

- **Apport de lactoferrine**

Pour évaluer les apports quotidiens en lactoferrine bovine, via l'alimentation, la fréquence de consommation de produit laitiers journalière est recherchée. Un tableau rassemble l'ensemble des spécialités fromagères au lait cru, dans lesquelles la lactoferrine bovine n'a pas subi de déformation de conformation lors de processus de pasteurisation ou stérilisation industrielle, et donc avec de pleines propriétés de captation du fer (*cf. Annexe 2*). La fréquence de consommation de gomme à mâcher peut paraître surprenante, mais comme précédemment rapporté, le rapport du Journal officiel de l'Union européenne met en évidence, sa forte concentration en lactoferrine.<sup>152</sup>

- **Hygiène**

Enfin, des questions concernant l'hygiène bucco-dentaire du patient, en rapport avec les études déjà citées recherche un lien entre une hygiène perfectible et les BS.<sup>153,154</sup>

#### 4.1.2. Examen clinique

- **Examen extra-oral**

Le praticien va rechercher tout signe physique d'anémie ou de surcharge en fer : pâleur faciale, mélanodermie, peau du visage d'aspect grisâtre, peau fine (atrophie) avec un aspect squameux ou en écailles de poisson (ichtyose) et raréfaction des cheveux.

- **Examen intra-oral**

Un schéma dentaire des faces linguales et faces vestibulaires permet le tracé de la localisation des BS. L'indice d'hygiène du patient sera relevé selon une évaluation binaire (1 : présence / 2 : absence) décrite par O'Leary *et al.* (1972) sur les 4 faces la dent (vestibulaire, linguale, mésiale et

---

<sup>151</sup> Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, « Le fer ».

<sup>152</sup> Commission européenne, Décision d'exécution de la commission du 22 novembre 2012 autorisant la mise sur le marché de la lactoferrine bovine en tant que nouvel ingrédient alimentaire en application du règlement (CE) no 258/97 du Parlement européen et du Conseil.

<sup>153</sup> Shmuly *et al.*, « Can black extrinsic tooth discoloration predict a lower caries score rate in young adults? »

<sup>154</sup> Żyła *et al.*, « Black stain and dental caries: a review of the literature ».

distale)<sup>155</sup>, ainsi que l'état de surface amélaire, l'indice CAOD et une évaluation qualitative de la salive.

### **4.1.3. Journal alimentaire**

Une enquête alimentaire correspond au relevé de l'ensemble des ingestas en vue d'établir des statistiques dans le cadre d'une enquête épidémiologique ou la prescription d'un régime. Cette méthode fait appel le plus souvent au remplissage d'un semainier quand le recueil des données porte sur une période de 7 jours, afin d'appréhender la moyenne des consommations quotidiennes.

Dans notre étude, le patient notera sur un semainier tous ses ingestas, y compris les habitudes médicales (médicaments), nocives (tabagisme, drogues), les manies (onychophagies, succion du pouce, etc.), ou les produits d'hygiène (dentifrice, bain de bouche, fil dentaire, bossettes...) transitant par la cavité buccale (*Annexe 3*). Les données obtenues sont souvent approximatives, avec une marge d'erreur parfois très large. Le risque d'omission, de sous ou sur-estimation, ou de prise de conscience par le patient de certaines habitudes alimentaires et donc de modification de ses habitudes, entraîne des imprécisions ou biais dans le recueil des données. Néanmoins, dans notre étude, cet outil pourrait aider confirmer ou infirmer certaines hypothèses étiologique des BS (source de lactoferrine, source de fer ou suppléments).

## **4.2. Tests cliniques à réaliser par le praticien**

### **4.2.1. Mise en évidence de la quantité de salive et de son pouvoir tampon**

A l'aide du CRT® Buffer (Ivoclar Vivadent), le praticien réalisera un prélèvement de salive pour déterminer son pouvoir tampon à l'aide d'une bandelette de test munie d'un indicateur spécial. Une heure au minimum avant la réalisation du test, le patient ne doit pas : manger ou boire, mâcher de chewing-gum, fumer, se brosser les dents, utiliser de bain de bouche. La sécrétion salivaire du patient est stimulée en lui donnant une tablette de paraffine à mâcher. La salive est recueillie dans un gobelet gradué pendant 5 min (taux de sécrétion salivaire : normale :  $\geq 1$  mL de salive/min ; faible :  $< 0,7$  mL de salive/min). A l'aide d'une pipette, le praticien dépose de la salive sur toute la partie test de la bandelette CRT® Buffer. Après 5 min de réaction, le pouvoir tampon est déterminé en se référant à la fiche d'interprétation.

---

<sup>155</sup> O'Leary, Drake, et Naylor, « The plaque control record ».

#### **4.2.2. Mise en évidence du facteur carioprotecteur des BS**

Un autre test pourra être effectué : le CRT® Bacteria (Ivoclar Vivadent) pour évaluer le nombre de *Streptocoques mutans* et de lactobacilles dans la salive. La procédure de recueil de la salive est également la même que celle décrite pour le test CRT® Buffer à l'aide de pipette, la salive est déposée sur des plaques de gélose (solution nutritive de bactéries). Les tubes de test sont conservés en position verticale dans un incubateur pendant 48 heures à 37 °C. Les résultats sont obtenus en comparant la densité des colonies de *Streptocoques mutans* ou de lactobacilles avec la représentation correspondante de la fiche d'interprétation jointe au kit. Un résultat supérieur à 105 bactéries lactobacilles et *Streptocoques mutans* par mL de salive indique un risque carieux élevé. Ce test peut être effectué également avec de la plaque dentaire.

### **4.3. Prélèvements à analyser en laboratoire**

#### **4.3.1. Dosage de la lactoferrine bovine**

- **Issue de la plaque dentaire**

De la plaque dentaire serait prélevée en grattant la surface de la dent à l'aide d'une lame en céramique stérile, en prenant soin de ne pas faire saigner la gencive, car le sang affecterait les résultats. Les échantillons seraient soigneusement placés dans des récipients en plastique stériles individuels étiquetés au nom du patient et conservés à 37°C. Ces échantillons seraient analysés en laboratoire par un test ELISA de reconnaissance de lactoferrine bovine.

- **Issue de la salive**

Deux millilitres de salive non stimulée seraient collectés, après 60 min sans manger ni boire, sans tabac ni gomme à mâcher. La cavité buccale serait rincée avec de l'eau distillée dé-ionisée. Les patients laisseraient la salive s'accumuler dans le plancher buccal pendant 2 min et ils expectoreraient la salive non stimulée dans un récipient stérile, étiqueté et conservé à 37°C jusqu'à analyse. Ces échantillons seraient analysés en laboratoire par un test ELISA de reconnaissance de lactoferrine bovine.

#### 4.3.2. Dosage de la lactoferrine humaine

Il pourrait être intéressant de chercher à mesurer la lactoferrine humaine, pour réaliser la proportion de présence de celle-ci, en plus de la lactoferrine bovine, chez les patients avec BS. Il existe des kits pour détecter la lactoferrine humaine, de la même façon que la lactoferrine bovine. Toutefois, il est difficile, compte tenu des informations fournies sur les kits, de savoir s'ils sont chacun très spécifique de la lactoferrine recherchée, ou si l'un et l'autre peuvent détecter de manière plus ou moins marquée l'autre type de lactoferrine.

#### 4.3.3. Dosage de la ferritine salivaire

Deux millilitres de salive non stimulée seraient collectés. Après 60 min sans manger ni boire, sans tabac ni gomme à mâcher. La cavité buccale serait rincée avec de l'eau distillée dé-ionisée. Les patients laisseraient la salive s'accumuler dans le plancher buccal pendant 2 min et ils expectoreraient la salive non stimulée dans un récipient stérile, étiqueté et conservé à 37°C jusqu'à analyse. Après la collecte, les échantillons seraient répartis en aliquotes et centrifugés à 2500 tr/min pendant 5 min, pour obtenir des échantillons de salive exempts de gros débris particulaires et de viscosité réduite, pour une analyse plus précise et reproductible. Le surnageant serait conservé à -30°C jusqu'à l'analyse.<sup>156</sup> Le taux de ferritine salivaire serait analysé par **dosage immuno-enzymatique** en phase solide avec un kit Ferritin type ELISA disponible dans le commerce (Orgentec Diagnostika GmbH, Allemagne).

#### 4.3.4. Dosage du fer sérique

Idéalement, un prélèvement sanguin, après consentement éclairé, permettrait le dosage du fer sérique, de la transferrine, du calcul du coefficient de saturation de la transferrine, ainsi que la mesure de la ferritine sérique. Toutes les techniques courantes de dosage du fer procèdent par colorimétrie. Il est important d'utiliser un chromogène ayant un haut coefficient d'extinction moléculaire, comme le férène S compte tenu des faibles concentrations à mesurer. L'évaluation d'une surcharge en fer ou d'une anémie serait faite en fonction des valeurs physiologiques de références, et des variations pathologiques couramment observées pour ces valeurs (cf. *Tableau 4* et *Tableau 7*).

---

<sup>156</sup> Jagannathan et al., « Salivary ferritin as a predictive marker of iron deficiency anemia in children ».

## Conclusion

---

Les colorations noires exogènes ou BS sont un sujet passionnant qui intrigue par le manque de réponses quant à la compréhension de leur mécanisme de formation. En effet, du fait de l'absence d'incidence sur la vitalité des dents ou de conséquences sur la santé bucco-dentaire, elles ne figurent pas au premier rang des sujets abordés au cours de notre formation et poussent lentement la communauté scientifique à s'orienter sur ce thème de recherche.

La littérature scientifique concernant ce phénomène, bien que décrite depuis un siècle, est en effet peu fournie, et l'on commence seulement à trouver quelques éléments de réponses grâce aux avancées technologiques récentes. De nombreuses problématiques sont soulevées et offre un champ de possible ouvert quant aux hypothèses proposées.

Cette thèse nous a permis de mieux comprendre les trois facteurs qui pourraient être impliqués dans la formation des BS. Les paramètres complexes de ces derniers sont à prendre en compte avec rigueur pour l'élaboration d'un protocole de recherche sur l'étiologie des BS.

Nous espérons que cette thèse pourra être le support d'une future étude pilote concernant les BS. Elle fournit un ensemble de données nécessaires à la compréhension des différents facteurs potentiellement impliqués. À ce jour, aucune étude n'a testé le dosage de la lactoferrine bovine et son interaction avec le fer et la flore bactérienne des patients atteints. A notre connaissance, aucune étude n'a évalué le stock martial des patients par prélèvement sanguins, afin de mettre en évidence le présence d'une pathologie systémique entraînant des surcharges en fer. Ces différentes pistes étiologiques sont intéressantes, et mériteraient de plus amples recherches. Les BS pourraient être le signe précoce de ces pathologies, ce qui représente un intérêt majeur quant à la détection de telles maladies, souvent détectées à des stades avancés.

Une autre approche de recherche pour confirmer nos hypothèses serait de sélectionner des patients présentant des surcharges en fer et de les soumettre à des consommations contrôlées quantitativement en produits à haute teneur en lactoferrine, pour voir si des BS se forment plus ou moins en bouche, compte tenu du profil bactérien de ces patients également.

## Bibliographie

---

- Agence française de sécurité sanitaire des aliments. « Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'évaluation du rapport d'évaluation initiale des autorités néerlandaises concernant la mise sur le marché d'un nouvel ingrédient alimentaire : lactoferrine bovine ». Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2010. <https://www.anses.fr/fr/system/files/NUT2010sa0112.pdf>.
- Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. « Le fer ». Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, 27 mai 2016. <https://www.anses.fr/fr/content/le-fer>.
- Bandon, D., A. Chabane-Lemboub, et M. Le Gall. « Les colorations dentaires noires exogènes chez l'enfant : black-stains ». *Archives de pédiatrie* 18, n° 12 (2011): 1343-47. <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2011.07.014>.
- Beaumont, C., et Z. Karim. « Métabolisme du fer : physiologie et pathologie ». *EMC Hématologie*. 74172. Elsevier Masson, 2016. <http://www.em-premium.com.frodon.univ-paris5.fr/article/1095351/>.
- Bhat, S. « Black tooth stain and dental caries among Udaipur school children ». *International journal of public health dentistry* 1, n° 1 (2010): 13-17.
- Centre national interprofessionnel de l'économie laitière. « Le circuit et les différentes étapes de la fabrication du lait ». Les produits laitiers. Consulté le 2 novembre 2017. <https://www.produits-laitiers.com/le-circuit-de-fabrication-du-lait/>.
- Chardin, H., M. Bonnaure-Mallet, et O. Barsotti. *Microbiologie en odonto-stomatologie*. Paris : Maloine, 2006.
- Chen, X., J. Zhan, H. Lu, W. Ye, W. Zhang, W. Yang, et X. Feng. « Factors associated with black tooth stain in chinese preschool children ». *Clinical oral investigations* 18, n° 9 (2014): 2059-66. <https://doi.org/10.1007/s00784-013-1184-z>.
- Collings, R., L. J. Harvey, L. Hooper, R. Hurst, Tracey J. Brown, J. Ansett, M. King, et S. J. Fairweather-Tait. « The absorption of iron from whole diets: a systematic review ». *The american journal of clinical nutrition* 98, n° 1 (2013): 65-81. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.050609>.
- Commission européenne. Décision d'exécution de la commission du 22 novembre 2012 autorisant la mise sur le marché de la lactoferrine bovine en tant que nouvel ingrédient alimentaire en application du règlement (CE) no 258/97 du Parlement européen et du Conseil, Pub. L. No. C(2012) 8404, Journal officiel de l'Union européenne (2012). <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:327:0046:0048:FR:PDF>.

- Costa, M. T., M. L. Dorta, F. Ribeiro-Dias, et F. C. Pimenta. « Biofilms of black tooth stains: PCR analysis reveals presence of *Streptococcus mutans* ». *Brazilian dental journal* 23, n° 5 (2012): 555-58.
- Davoust, P. « Le métabolisme bactérien ». Consulté le 24 novembre 2017.  
[http://www.ecosociosystemes.fr/metabolisme\\_bacterien.html](http://www.ecosociosystemes.fr/metabolisme_bacterien.html).
- Dehan, C., H. Delacour, F. Terrier, V. Gardet, et J.-L. Koeck. « Rôle du laboratoire dans le diagnostic et le suivi des hémochromatoses héréditaires ». *Revue francophone des laboratoires* 37, n° 394 (2008): 41-49. <https://doi.org/101019-200704714>.
- Desbonnet, M. « Les aliments riches en fer contre l'anémie ». *Passeportsanté.net*, 1 janvier 2012.  
[http://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/Dietes/Fiche.aspx?doc=anemie\\_diete](http://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/Dietes/Fiche.aspx?doc=anemie_diete).
- Dogra, S., O. Sakwinska, S.-E. Soh, C. Ngom-Bru, W. M. Brück, B. Berger, H. Brüssow, et al. « Dynamics of infant gut microbiota are influenced by delivery mode and gestational duration and are associated with subsequent adiposity ». *mBio* 6, n° 1 (2015): 19-14.  
<https://doi.org/10.1128/mBio.02419-14>.
- Dursun, E., P. Monsarrat, C. Pujade, M. Daou, et J.-P. Attal. « Black stain in children: a systematic review ». In *13th Congress of the European academy of paediatric dentistry*. Nancy : Springer, 2016.
- França-Pinto, C. C., M. S. Cenci, M. B. Correa, A. R. Romano, M. A. Peres, K. G. Peres, A. Matijasevich, I. S. Santos, A. J. D. Barros, et F. F. Demarco. « Association between black stains and dental caries in primary teeth: Findings from a brazilian population-based birth cohort ». *Caries Research* 46, n° 2 (2012): 170-76. <https://doi.org/10.1159/000337280>.
- Ganz, T., G. Olbina, D. Girelli, E. Nemeth, et M. Westerman. « Immunoassay for human serum hepcidin ». *Blood* 112, n° 10 (2008): 4292-97. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-02-139915>.
- Garan, A., S. Akyüz, L. K. Oztürk, et A. Yarat. « Salivary parameters and caries indices in children with black tooth stains ». *The journal of clinical pediatric dentistry* 36, n° 3 (2012): 285-88.
- Garcia Martin, J. M., M. Gonzalez Garcia, J. Seoane Leston, S. Llorente Pendas, J. J. Diaz Martin, et M. J. Garcia-Pola. « Prevalence of black stain and associated risk factors in preschool Spanish children ». *Pediatrics international: official journal of the japan pediatric society* 55, n° 3 (2013): 355-59. <https://doi.org/10.1111/ped.12066>.
- Gasparetto, A., C. A. Conrado, S. M. Maciel, E. Y. Miyamoto, M. Chicarelli, et R. L. Zanata. « Prevalence of black tooth stains and dental caries in Brazilian schoolchildren ». *Brazilian dental journal* 14, n° 3 (2003): 157-61.
- González-Chávez, S. A., S. Arévalo-Gallegos, et Q. Rascón-Cruz. « Lactoferrin: structure, function and applications ». *International journal of antimicrobial agents* 33, n° 4 (2009): 301.e1-301.e8. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.07.020>.

- Heinrich-Weltzien, R., B. Bartsch, et S. Eick. « Dental caries and microbiota in children with black stain and non-discoloured dental plaque ». *Caries research* 48, n° 2 (2014): 118-25. <https://doi.org/10.1159/000353469>.
- Heinrich-Weltzien, R., B. Monse, et W. van Palenstein Helderman. « Black stain and dental caries in Filipino schoolchildren ». *Community dentistry and oral epidemiology* 37, n° 2 (2009): 182-87. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.2008.00458.x>.
- Hurrell, R., et I. Egli. « Iron bioavailability and dietary reference values ». *The american journal of clinical nutrition* 91, n° 5 (2010): 1461S-1467S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.28674F>.
- Jagannathan, N., C. Thiruvengadam, P. Ramani, P. Premkumar, A. Natesan, et H. J. Sherlin. « Salivary ferritin as a predictive marker of iron deficiency anemia in children ». *The journal of clinical pediatric dentistry* 37, n° 1 (2012): 25-30.
- Koch, M. J., M. Bove, J. Schroff, P. Perlea, F. García-Godoy, et H. J. Staehle. « Black stain and dental caries in schoolchildren in Potenza, Italy ». *Journal of dentistry for children* 68, n° 5-6 (2001): 353-55, 302.
- Le Reste, M. « Les pathologies bucco-dentaires ». *Actualités pharmaceutiques*, 49, n° 495 (2010): 15-19. [https://doi.org/10.1016/S0515-3700\(10\)70665-0](https://doi.org/10.1016/S0515-3700(10)70665-0).
- Li, Y., Q. Zhang, F. Zhang, R. Liu, H. Liu, et F. Chen. « Analysis of the microbiota of black stain in the primary dentition ». *Plos one* 10, n° 9 (2015): 1-12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137030>.
- Li, Y., C.-G. Zou, Y. Fu, Y. Li, Q. Zhou, B. Liu, Z. Zhang, et J. Liu. « Oral microbial community typing of caries and pigment in primary dentition ». *BMC genomics* 17 (2016): 558. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2891-z>.
- Mesonjesi, Ilir. « Are extrinsic black stains of teeth iron-saturated bovine lactoferrin and a sign of iron deficient anemia or iron overload? » *Medical hypotheses* 79, n° 2 (2012): 219-21. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2012.04.044>.
- Nordbø, H., A. B. Kolstø, et H. M. Eriksen. « Salivary lactoferrin in a selected group of subjects with exceptional extrinsic dental staining ». *Journal of oral pathology* 16, n° 8 (1987): 392-94.
- O'Leary, T. J., R. B. Drake, et J. E. Naylor. « The plaque control record ». *Journal of Periodontology* 43, n° 1 (1972): 38. <https://doi.org/10.1902/jop.1972.43.1.38>.
- Parnas, L., M. Chevion, E. Berenshtein, S. Faibis, et M. Moskovitz. « Are there metallic traces in black extrinsic dental stain? » *Quintessence international* 44, n° 5 (2013): 427-32. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a29149>.
- Pierce, A., D. Legrand, et J. Mazurier. « La lactoferrine : une protéine multifonctionnelle ». *Médecine/sciences* 25, n° 4 (s. d.): 361-69. <https://doi.org/10.1051/medsci/2009254361>.

- Pushpanjali, K., S.S. Khanal, et S. R. Niraula. « The relationship of dental extrinsic stains with the concentration of trace elements in water sources in a district of Nepal ». *Oral health & preventive dentistry* 2, n° 1 (2004): 33-37.
- Reid, J. S., J. A. Beeley, et D. G. MacDonald. « Investigations into black extrinsic tooth stain ». *Journal of dental research* 56, n° 8 (1977): 895-99.  
<https://doi.org/10.1177/00220345770560081001>.
- Revenant, M.-C., et C. Doyen. « Ferritine ». *EMC Biologie médicale*. Elsevier Masson, 2007.  
<http://www.em-premium.com.frodon.univ-paris5.fr/article/61081/resultatrecherche/1>.
- Rochette, J., et P. Brissot. « L'hémochromatose ». Orphanet, 2006.
- Ronay, V., et T. Attin. « Black stain : a review ». *Oral health & preventive dentistry* 9, n° 1 (2011): 37-45.
- Saba, C., M. Solidani, F. Berlutti, A. Vestri, L. Ottolenghi, et A. Polimeni. « Black stains in the mixed dentition: a PCR microbiological study of the etiopathogenic bacteria ». *The journal of clinical pediatric dentistry* 30, n° 3 (2006): 219-24.
- Schwarcz, W. D., L. Carnelocce, J. L. Silva, A. C. Oliveira, et R. B. Gonçalves. « Conformational changes in bovine lactoferrin induced by slow or fast temperature increases ». *Biological Chemistry* 389, n° 8 (2008): 1137-42.
- Sérieys, F. *Le tarissement des vaches laitières : une période-clé pour la santé, la production et la rentabilité du troupeau*. Paris : France Agricole Editions, 1997.
- Shah, H. N., R. Bonnett, B. Mateen, et R. A. Williams. « The porphyrin pigmentation of subspecies of bacteroides melaninogenicus ». *The biochemical journal* 180, n° 1 (1979): 45-50.
- Shmuly, T., A. Zini, M. Yitschaky, et O. Yitschaky. « Can black extrinsic tooth discoloration predict a lower caries score rate in young adults? » *Quintessence International* 45, n° 5 (2014): 439-44.  
<https://doi.org/10.3290/j.qi.a31535>.
- Shourie, K. L. « Mesenteric line or pigmented plaque: a sign of comparative freedom from caries ». *Journal of the american dental association (1939)* 35, n° 11 (1947): 805-7.
- Slots, J. « The microflora of black stain on human primary teeth ». *Scandinavian journal of dental research* 82, n° 7 (1974): 484-90.
- Tantbirojn, D., W. H. Douglas, C. C. Ko, et P. L. McSwiggen. « Spatial chemical analysis of dental stain using wavelength dispersive spectrometry ». *European journal of oral sciences* 106, n° 5 (1998): 971-76.
- Theilade, J., J. Slots, et O. Fejerskov. « The ultrastructure of black stain on human primary teeth ». *Scandinavian journal of dental research* 81, n° 7 (1973): 528-32.
- Tounian, P., et J. -P. Chouraqui. « Fer et nutrition ». *Archives de pédiatrie* 24, n° 5, Supplément (2017): 5S23-5S31. [https://doi.org/10.1016/S0929-693X\(17\)24006-8](https://doi.org/10.1016/S0929-693X(17)24006-8).

- Tripodi, D., D. Martinelli, M. Pasini, M. R. Giuca, et S. D'Ercole. « Black stains: a microbiological analysis and a view on familiarity and susceptibility to tooth decay of patients in childhood ». *European journal of paediatric dentistry* 17, n° 4 (2016): 261-66.
- Wang, B., Y. P. Timilsena, E. Blanch, et B. Adhikari. « Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion ». *Critical reviews in food science and nutrition*, 2017, 1-17. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1381583>.
- Zhang, F., Y. Li, Z. Xun, Q. Zhang, H. Liu, et F. Chen. « A preliminary study on the relationship between iron and black extrinsic tooth stain in children ». *Letters in applied microbiology* 64, n° 6 (2017): 424-29. <https://doi.org/10.1111/lam.12728>.
- Żyła, T., B. Kawala, J. Antoszevska-Smith, et M. Kawala. « Black stain and dental caries: a review of the literature ». *Biomed research international* 2015 (2015): 1-6. <https://doi.org/10.1155/2015/469392>.

## Table des figures

---

Figure 1 : Présence de BS en denture temporaire .....	4
Figure 2 : Différentes localisations de BS en denture permanente .....	4
Figure 3 : Les différentes classifications des BS.....	6
Figure 4 : Hypothèse d'une triade de facteurs interdépendants dans la formation des BS .....	10
Figure 5: Comparaisons de microbiote buccal présentant des teneurs significativement différentes dans la plaque dentaire du groupe avec BS (PS), le groupe témoin (PC) et les BS (BS).....	16
Figure 6 : Réaction chimique à l'origine de la formation du sulfure ferrique .....	17
Figure 7 : Concentrations en Fer et en Cuivre des dépôts de BS (bleu) et du groupe témoin (rouge) .	19
Figure 8 : Homéostasie du fer au niveau moléculaire.....	21
Figure 9 : Rappel de l'érythropoïèse .....	22
Figure 10 : Structure moléculaire de la ferritine .....	23
Figure 11 : Structure tridimensionnelle de la lactoferrine .....	40
Figure 12 : Présentation des multiples fonctions de la lactoferrine .....	41
Figure 13 : Structure tridimensionnelle de la lactoferrine bovine bi-ferrique à 2,8 Angstroms .....	42
Figure 14 : Principe d'un dosage immuno-enzymatique par un test ELISA de type sandwich .....	49

## Table des tableaux

---

Tableau 1 : Principaux genres bactériens de la plaque dentaire .....	12
Tableau 2 : Bactéries retrouvées dans les différentes études chez les patients avec des BS.....	13
Tableau 3 : Teneur en fer moyenne et quantité de fer absorbée selon le coefficient d'absorption des principales sources alimentaires .....	26
Tableau 4 : Valeurs usuelles de l'homéostasie du fer en fonction de l'âge et du sexe.....	30
Tableau 5 : Classification des surcharges en fer de type hémochromatoses héréditaires.....	34
Tableau 6 : Classification des surcharges en fer de type surcharges en fer secondaires .....	36
Tableau 7 : Variations pathologiques du bilan martial de première intention .....	37
Tableau 8 : Consommation de produits laitiers chez les patients atteints de <i>black stain</i> .....	43
Tableau 9 : Spécialités françaises AOP à base lait cru.....	45
Tableau 10 : Usages de la lactoferrine bovine sur le marché européen.....	47
Tableau 11 : Catégories de produits et taux d'enrichissement maximaux en lactoferrine bovine envisagés par le pétitionnaire néerlandais .....	48

## Annexes

ANNEXE 1 : Médicaments contenant du fer commercialisés en France

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
MÉDICAMENTS CONTENANT LA SUBSTANCE ACTIVE SEULE					
ASCOFER 33 mg gél	Ascorbate ferreux	245 mg/gélules (soit en fer ferreux : 33 mg ou 0,6 mmol/gélule)	Anémie par carence martiale. Traitement préventif de la carence martiale de la femme enceinte.	Adulte et enfant de plus de 30 kg : 3 à 6 gélules/jour. Femme enceinte : 1-2 gélules/j pendant les 6 derniers mois de la grossesse. Enfant de 20 à 30 kg : 3-4 gélules/j.	Elle doit être suffisante, 3 à 6 mois, pour corriger l'anémie et restaurer les réserves en fer qui, chez l'adulte, sont d'environ 1000 mg.
FER AP-HP 0,5 mg gél nouveau-né	Sulfate ferreux heptahydrate	0,5 mg/gélule	Prévention des carences en fer (apports insuffisants en fer) responsables de certaines formes d'anémie, chez le nouveau-né	Traitement préventif de la carence martiale (apport insuffisant en fer) du nouveau-né prématuré ou de faible poids de naissance : Dose recommandée 2-2,5 mg de fer/kg/ j, à adapter selon la teneur en fer du lait industriel, si utilisé. Traitement préventif de la carence martiale du nourrisson né à terme : - en cas d'allaitement exclusif, dose recommandée de 1 mg de fer/kg/j. - en cas d'allaitement artificiel ou d'allaitement mixte, dose selon la teneur en fer du lait utilisé.	La durée du traitement est généralement de 3 à 6 mois, voire 1 an.

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
FER ARROW 100 mg/5 ml sol inj	Hydroxyde ferrique-saccharose	100 mg/5 ml	Traitement de l'anémie chez l'insuffisant rénal chronique hémodialysé Situation pré-opératoire dans un programme de don de sang autologue Traitement des anémies aiguës en post-opératoire immédiat · en Traitement des anémies hyposidérémiques par carence martiale (Hb < 10,5 g/dl) liées aux maladies inflammatoires chroniques sévères de l'intestin.	Posologie maximale totale en situation préopératoire 15 mg/kg. Posologie par injection maximum 300 mg chez l'adulte.	La durée d'administration ne doit pas excéder le temps de restauration des réserves de fer.

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
FERINJECT 50 mg/ml sol inj p perf	Carboxymaltose ferrique	Flacon de 2 ml : 100 mg de fer sous forme de carboxymaltose ferrique.	Traitement de la carence martiale, lorsque les préparations orales de fer ne sont pas efficaces ou ne peuvent pas être utilisées.	Besoins individuels en fer à déterminer à partir du poids corporel et du taux d'hémoglobine.	Taux d'Hb réévalué au moins 4 semaines après la dernière administration afin de laisser le temps à l'érythropoïèse et à l'utilisation du fer. Si le patient nécessite une nouvelle supplémentation en fer, les besoins en fer doivent être recalculés.

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
FER MYLAN 100 mg/5 ml sol diluer p perf	Hydroxyde ferrique-saccharose	100 mg / 5 ml sol diluer p perf	Chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique Avant une opération pour un programme d'autotransfusion en association avec de "l'érythropoïétine". Après une opération chez les patients ayant une anémie aiguë. Chez les patients atteints d'anémies par manque de fer liées aux maladies inflammatoires chroniques sévères de l'intestin.	Maximum 300 mg (3 ampoules) chez l'adulte.	S'assurera que le taux de fer est suffisant avant d'arrêt.

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
FER PANPHARMA 100 mg/5 ml sol diluer p perf	Hydroxyde ferrique- saccharose	100 mg/5 ml	<p>Cette solution injectable de fer pour voie I.V. est indiquée :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>·en traitement de l'anémie chez l'insuffisant rénal chronique hémodialysé, en pré-dialyse ou en dialyse péritonéale, lorsqu'un traitement par fer oral s'est révélé insuffisant ou mal toléré;</li> <li>·en situation pré-opératoire: chez les patients inclus dans un programme de don de sang autologue en association avec l'érythropoïétine, à condition qu'ils aient une anémie modérée (Hb entre 9 et 11 g/100 ml), et que leur ferritinémie initiale soit inférieure à 150 µg/l;</li> <li>·en traitement des anémies aiguës en post-opératoire immédiat chez les patients ne pouvant pas recevoir d'alimentation orale.</li> <li>·en traitement des anémies hyposidérémiques par carence martiale (Hb &lt; 10,5 g/100 ml) liées aux maladies inflammatoires chroniques sévères de l'intestin lorsque le traitement par voie orale n'est pas adapté.</li> </ul>	<p>La posologie par injection ne doit pas dépasser 300 mg chez l'adulte. La dose totale à administrer et le rythme des injections dépendent du poids, du taux d'hémoglobine, de la ferritinémie basale et de la perte de fer attendue.</p>	<p>La durée du traitement ne doit pas excéder le temps de restauration des réserves de fer.</p>

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
FERROSTRANE 0,68 % sirop	Sodium ferédétate		Il est préconisé dans le traitement des anémies dues à un manque de fer et en traitement préventif de la carence en fer chez la femme enceinte ou le nourrisson de plus de 1 mois.	<p>En traitement curatif:            Chez l'adulte:            100 à 200 mg de fer métal par jour, soit 15 à 30 ml par jour.            En traitement préventif:            Chez la femme enceinte: de l'ordre de 50 mg de fer métal par jour, soit 5 à 10 ml par jour, pendant les deux derniers trimestres de la grossesse (ou à partir du 4ème mois).</p> <p>Utilisation chez les nourrissons et les enfants            En traitement curatif :            Chez le nourrisson à partir de 1 mois et chez l'enfant de moins de 30 kg (environ 10 ans): 6 à 10 mg de fer métal par kg et par jour, soit en moyenne:            - Nourrisson de 5 à 8 kg (environ 1 à 6 mois): 5 à 10 ml par jour,            - Nourrisson de 8 à 12 kg (environ 6 à 30 mois): 10 à 15 ml par jour,            - Enfant de 12 à 20 kg (environ 30 mois à 6 ans): 15 à 20 ml par jour,            - Enfant, de 20 à 30 kg (environ 6 à 10 ans): 20 à 25 ml par jour            Chez l'enfant à partir de 30 kg (environ 10 ans):            100 à 200 mg de fer métal par jour, soit 15 à 30 ml par jour.            En traitement préventif :            Chez le nourrisson à partir de 1 mois: 6 à 10 mg de fer métal par kg et par jour, soit:            - Nourrisson de 5 à 8 kg (environ 1 à 6 mois): 5 à 10 ml par jour,            - Nourrisson de 8 à 12 kg (environ 6 à 30 mois): 10 à 15 ml par jour.</p>	Elle doit être suffisante, 3 à 6 mois, pour corriger l'anémie et restaurer les réserves en fer qui, chez l'adulte, sont d'environ 1000 mg.

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
FER SANDOZ 100 mg/5 ml sol diluer p perf	Hydroxyde ferrique-saccharose	100 mg/5 ml	<p>Ce médicament est préconisé :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· en traitement de l'anémie chez l'insuffisant rénal chronique hémodialysé, en pré-dialyse ou en dialyse péritonéale, lorsqu'un traitement par fer oral s'est révélé insuffisant ou mal toléré,</li> <li>· en situation pré-opératoire : chez les patients inclus dans un programme de don de sang autologue en association avec l'érythropoïétine, à condition qu'ils aient une anémie modérée (Hb entre 9 et 11 g/dl), et que leur ferritinémie initiale soit inférieure à 150 µg/ml,</li> <li>· en traitement des anémies aiguës en post-opératoire immédiat chez les patients ne pouvant pas recevoir d'alimentation orale,</li> <li>· en traitement des anémies hyposidérémiques par carence martiale (Hb &lt; 10,5 g/dl) liées aux maladies inflammatoires chroniques sévères de l'intestin lorsque le traitement par voie orale n'est pas adapté.</li> </ul>	<p>La posologie maximale en situation pré-opératoire ne doit pas dépasser 15 mg/kg.</p> <p>La posologie par injection ne doit pas dépasser 300 mg (3 ampoules) chez l'adulte.</p>	La durée d'administration ne doit pas excéder le temps de restauration des réserves de fer.

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
FUMAFER 33 mg/1 g pdre oral	Fumarate ferreux	100 mg par c. doseuse rase soit en fer : 33 mg ou 0,558 mmol/c. doseuse rase	Anémie par carence martiale. Traitement préventif de la carence martiale de la femme enceinte. Traitement préventif de la carence martiale du nourrisson prématuré, jumeau ou né de mère carencée.	Réservé à la femme enceinte et au nourrisson de 5 à 12 kg (environ 1 à 30 mois). Traitement préventif ou curatif : Nourrisson de 5 à 12 kg : 6 à 10 mg de fer métal par kg et par jour, soit à titre indicatif : de 5 à 8 kg (environ de 1 à 6 mois) : 1 à 2 cuillères doseuses rases de poudre par jour ; de 8 à 10 kg (environ de 6 à 12 mois) : 2 à 3 cuillères doseuses rases de poudre par jour ; de 10 à 12 kg (environ de 12 à 30 mois) : 3 à 4 cuillères doseuses rases de poudre par jour. Traitement préventif : Femme enceinte : de l'ordre de 50 mg de fer métal par jour, soit 1 à 2 cuillères doseuses rases de poudre par jour, pendant les deux derniers trimestres de la grossesse (ou à partir du 4e mois).	Elle doit être suffisante (3 à 6 mois) pour corriger l'anémie et restaurer les réserves en fer qui, chez l'adulte, sont d'environ 1 g.
FUMAFER 66 mg cp pellic	Fumarate ferreux	200mg par comprimé soit en fer : 66 mg ou 1,177 mmol/cp	Anémie par carence martiale. Traitement préventif de la carence martiale de la femme enceinte.	Réservé à l'adulte et à l'enfant à partir de 10 ans. Traitement curatif : Adulte et enfant à partir de 30 kg (environ 10 ans) : 100 à 200 mg de fer métal par jour, soit 2 à 3 comprimés par jour. Traitement préventif : Femme enceinte : 1 comprimé par jour, pendant les deux derniers trimestres de la grossesse (ou à partir du 4 e mois).	Elle doit être suffisante (3 à 6 mois) pour corriger l'anémie et restaurer les réserves en fer qui, chez l'adulte, sont d'environ 1 g.

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
TARDYFERON 50 mg cp enr	Sulfate ferreux	50mg par comprimé	Traitement préventif de la carence martiale de la femme enceinte, lorsqu'un apport alimentaire suffisant en fer ne peut être assuré.	1 comprimé par jour, soit 50 mg, à partir du 4e mois de grossesse.	
TARDYFERON 80 mg cp pellic	Sulfate ferreux	80mg par comprimé (sous forme de sulfate ferreux desséché : 247,25 mg/cp)	Tardyferon est indiqué chez les adultes et les enfants âgés de plus de 6 ans. Traitement curatif de l'anémie par carence martiale. Traitement préventif de la carence martiale de la femme enceinte, lorsqu'un apport alimentaire suffisant en fer ne peut être assuré.	Traitement curatif : Enfant à partir de 6 ans : 1 comprimé (équivalent à 80 mg de Fe 2+) par jour. Enfant à partir de 10 ans et adulte : 1 à 2 comprimés (équivalent à 80-160 mg de Fe 2+) par jour. Traitement préventif : Femme enceinte : 1 comprimé (équivalent à 80 mg de Fe 2+) par jour ou tous les 2 jours pendant les 2 derniers trimestres de la grossesse (ou à partir du 4e mois).	Elle doit être suffisante pour corriger l'anémie et restaurer les réserves en fer qui, chez l'adulte, sont de 600 mg pour la femme et de 1200 mg pour l'homme. Anémie par carence martiale : 3 à 6 mois en fonction de la déplétion des réserves, éventuellement prolongé si la cause de l'anémie n'est pas contrôlée. Un contrôle de l'efficacité n'est utile qu'après au moins 3 mois de traitement : il doit porter sur la réparation de l'anémie (Hb, VGM) et sur la restauration des stocks de fer (fer sérique et saturation de la sidérophiline).
TIMOFEROL 50 mg cp enr	Sulfate ferreux	50mg par comprimé (sous forme de sulfate ferreux desséché : 136 mg/cp ou gél)	Anémie par carence martiale. Traitement préventif de la carence martiale de la femme enceinte.	Réservé à l'adulte et à l'enfant de plus de 6 ans. Traitement curatif : Enfant de plus de plus de 6 ans : 50 mg de fer métal par jour, soit 1 comprimé par jour. Adulte et enfant de plus de 12 ans : 100 à 200 mg de fer métal par jour, soit 2 à 4 comprimés ou gélules par jour. Traitement préventif : Femme enceinte : 50 mg par jour, soit 1 comprimé ou 1 gélule par jour, pendant les 2 derniers trimestres de la grossesse (soit à partir du 4e mois).	Elle doit être suffisante, 3 à 6 mois, pour corriger l'anémie et restaurer les réserves en fer qui, chez l'adulte, sont d'environ 1000 mg. Un contrôle de l'efficacité est utile après 3 mois de traitement : il doit porter sur la correction de l'anémie (Hb, VGM) et sur la restauration des stocks de fer (fer sérique et saturation de la sidérophiline).

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
TIMOFEROL gél	Sulfate ferreux	50mg par comprimé (sous forme de sulfate ferreux desséché : 136 mg/cp ou gél)	Anémie par carence martiale. Traitement préventif de la carence martiale de la femme enceinte.	Réservé à l'adulte et à l'enfant de plus de 12 ans. Traitement curatif : Enfant de plus de plus de 6 ans : 50 mg de fer métal par jour, soit 1 comprimé par jour. Adulte et enfant de plus de 12 ans : 100 à 200 mg de fer métal par jour, soit 2 à 4 comprimés ou gélules par jour. Traitement préventif : Femme enceinte : 50 mg par jour, soit 1 comprimé ou 1 gélule par jour, pendant les 2 derniers trimestres de la grossesse (soit à partir du 4e mois).	Elle doit être suffisante, 3 à 6 mois, pour corriger l'anémie et restaurer les réserves en fer qui, chez l'adulte, sont d'environ 1000 mg. Un contrôle de l'efficacité est utile après 3 mois de traitement : il doit porter sur la correction de l'anémie (Hb, VGM) et sur la restauration des stocks de fer (fer sérique et saturation de la sidérophiline).
VELPHORO 500 mg cp à croquer	Oxyhydroxyde sucro-ferrique	50mg par comprimé	Velphoro est indiqué pour le contrôle du taux de phosphate sérique chez les patients adultes atteints de néphropathie chronique (NPC) sous hémodialyse (HD) ou sous dialyse péritonéale (DP). Velphoro doit être utilisé dans le cadre d'une approche thérapeutique multiple, qui peut inclure un supplément en calcium, de la 1,25-dihydroxy vitamine D3 ou l'un de ses analogues, ou des calcimimétiques pour contrôler le développement de l'ostéodystrophie rénale.	La dose de départ recommandée de Velphoro est de 1500 mg de fer (3 comprimés) par jour, à répartir sur les repas de la journée.	Le taux de phosphate sérique doit être surveillé et la dose de Velphoro augmentée ou diminuée par incréments de 500 mg de fer (1 comprimé) par jour toutes les 2 à 4 semaines jusqu'à ce qu'un taux acceptable de phosphate sérique soit atteint, avec ensuite une surveillance régulière.

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
VENOFER 20 mg/ml sol inj IV	Hydroxyde ferrique-saccharose	100 mg par flacon (sous forme de complexe d'hydroxyde ferrique-saccharose : 2,7 g/flacon)	<p>Cette solution injectable de fer pour voie IV est indiquée :</p> <p>En traitement de l'anémie chez l'insuffisant rénal chronique hémodialysé, en pré-dialyse ou en dialyse péritonéale, lorsqu'un traitement par fer oral s'est révélé insuffisant ou mal toléré ;</p> <p>En situation préopératoire : chez les patients inclus dans un programme de don de sang autologue en association avec l'érythropoïétine, à condition qu'ils aient une anémie modérée (Hb entre 9 et 11 g/100 ml) et que leur ferritinémie initiale soit inférieure à 150 µg/l ;</p> <p>En traitement des anémies aiguës en post-opératoire immédiat chez les patients ne pouvant pas recevoir d'alimentation orale ;</p> <p>En traitement des anémies hyposidérémiques par carence martiale (Hb &lt; 10,5 g/100 ml) liées aux maladies inflammatoires chroniques sévères de l'intestin lorsque le traitement par voie orale n'est pas adapté.</p>	<p>La posologie par injection ne doit pas dépasser 300 mg chez l'adulte.</p> <p>La dose totale à administrer et le rythme des injections dépendent du poids, du taux d'hémoglobine, de la ferritinémie basale et de la perte de fer attendue.</p>	La durée du traitement ne doit pas excéder le temps de restauration des réserves de fer.

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
MÉDICAMENTS CONTENANT LA SUBSTANCE ACTIVE EN ASSOCIATION					
DISULONE cp séc	Fer oxalate	200mg par comprimé	Traitement de la lèpre (maladie de Hansen). Traitement de certaines dermatoses à médiation neutrophilique. Traitement de la polychondrite atrophiante. Traitement des dermatoses bulleuses auto-immunes, telles que dermatite herpétiforme, dermatose bulleuse auto-immune à IgA linéaire, pemphigoïde des muqueuses... Lupus bulleux. Prophylaxie primaire et secondaire de la pneumocystose en cas d'intolérance au cotrimoxazole	La posologie moyenne est de 100 mg par jour.	Ce traitement sera poursuivi plusieurs années
ELEVIT Vitamine B9 cp pellic	Fumarate ferreux	60mg par comprimé	Prévention ou correction des troubles en rapport avec un régime alimentaire carencé ou déséquilibré au cours de la grossesse et de l'allaitement.	Un comprimé par jour.	Le traitement est recommandé tout au long de la grossesse et de l'allaitement.
FERO-GRAD VITAMINE C 500 cp enr	Sulfate ferreux	Sulfate ferreux. 325,00 mg Quantité correspondante en fer :105,00 mg	Il est préconisé dans le traitement des anémies dues à un manque de fer chez l'adulte et en traitement préventif de la carence en fer chez la femme enceinte.	RESERVE A L'ADULTE Traitement curatif: • Chez l'adulte: en moyenne 1 à 2 comprimés par jour. Traitement préventif: • Chez la femme enceinte: en moyenne 1 comprimé par jour, pendant les deux derniers trimestres de la grossesse (ou à partir du 4ème mois).	Elle doit être suffisante pour corriger l'anémie et restaurer les réserves en fer (de l'ordre de 3 à 6 mois).

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
INOFER 100 mg cp pellic	Succinate ferreux	100mg/cp (soit en fer : 32,5 mg/cp)	Anémie par carence martiale. Traitement préventif de la carence martiale de la femme enceinte.	Traitement curatif : Adulte et enfant à partir de 30 kg (environ 10 ans) : 65 à 97,5 mg de fer métal par jour, soit 2 à 3 comprimés par jour. Enfant de 20 à 30 kg (environ 6 à 10 ans) : 1,5 à 2 mg de fer métal par kg et par jour, soit en moyenne 1 à 2 comprimés par jour. Traitement préventif : Femme enceinte : 1 à 2 comprimés par jour, pendant les deux derniers trimestres de la grossesse (ou à partir du 4 e mois).	Elle doit être suffisante, 3 à 6 mois, pour corriger l'anémie et restaurer les réserves en fer qui, chez l'adulte, sont d'environ 1000 mg.
NUTRYELT sol diluer p perf	Gluconate ferreux	7 988,2 par ampoule (µg/10 ml) soit 1 000 µg/10 ml de fer par ampoule	Nutryelt est utilisé dans le cadre d'un protocole nutritionnel par voie intraveineuse pour couvrir les besoins de base ou modérément augmentés en oligoéléments au cours de la nutrition parentérale. Nutryelt est indiqué chez l'adulte seulement.	La posologie journalière recommandée chez des patients ayant des besoins de base ou modérément augmentés est d'une ampoule (10 ml) de Nutryelt.	
PEDIAVEN AP-HP G15 sol p perf	Sulfate ferreux heptahydrate	500 µg de fer pour 100ml	Support de base à une nutrition parentérale de l'enfant en état stable sans déséquilibre nutritionnel lorsque l'alimentation orale ou entérale est impossible, insuffisante ou contre-indiquée et pour des périodes courtes (jusqu'à 2 semaines).	La posologie est individuelle et varie en fonction de l'âge, du poids, des besoins métaboliques et énergétiques, ainsi que de l'état clinique du patient.	Jusqu'à 2 semaines
PEDIAVEN AP-HP G20 sol p perf	Sulfate ferreux heptahydrate	500 µg de fer pour 100ml	Les indications sont celles de la nutrition parentérale lorsque l'alimentation entérale est impossible, insuffisante ou contre-indiquée.	La posologie est individuelle et varie en fonction de l'âge, du poids, des besoins métaboliques et énergétiques, ainsi que de l'état clinique du patient.	Jusqu'à 2 semaines

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
PEDIAVEN AP-HP G25 sol p perf	Sulfate ferreux heptahydrate	1000 µg de fer pour 100ml	Les indications sont celles de la nutrition parentérale lorsque l'alimentation entérale est impossible, insuffisante ou contre-indiquée.	La posologie est individuelle et varie en fonction de l'âge, du poids, des besoins métaboliques et énergétiques, ainsi que de l'état clinique du patient.	Jusqu'à 2 semaines
SUPLIVEN sol diluer p perf	Chlorure ferrique hexahydrate	5,40 mg pour 1 ampoule (10 ml)	Apport en oligo-éléments par voie intraveineuse pour couvrir les besoins de base ou modérément augmentés au cours de la nutrition parentérale.	Adultes : La posologie journalière recommandée de Suppliven chez un patient adulte pour couvrir les besoins de base ou modérément augmentés est de 10 ml Enfants ≥ 15 kg : 0,1 ml de Suppliven par kg et par jour.	
SUPRADYN RECHARGE 50+ cp	Fer	7mg par comprimé	Supradyn Recharge 50 + est un complément alimentaire, à utiliser en complément d'une alimentation variée et équilibrée, et d'un mode de vie sain.	1 comprimé par jour	La durée d'utilisation recommandée est de 30 jours,
TARDYFERON B9 cp pellic	Sulfate ferreux	Fer : 50 mg par comprimé (sous forme de sulfate ferreux desséché : 154,53 mg/cp)	Traitement préventif des carences en fer et en acide folique en cas de grossesse lorsqu'un apport alimentaire suffisant ne peut être assuré.	1 comprimé par jour soit 50 mg de fer élément et 350 µg d'acide folique pendant les 2 derniers trimestres de la grossesse (ou à partir du 4e mois).	A partir du 4ème mois jusqu'à la fin de la grossesse

Nom du médicament	Substance(s) active(s)	Dosage en fer	Indications	Posologie commune	Durée du traitement
TOT'HEMA sol buv en ampoule	Gluconate ferreux	Fer : 50 mg par ampoule (sous forme de gluconate ferreux : 399,73 mg/amp)	Traitement curatif de l'anémie par carence martiale de l'adulte, de l'enfant et du nourrisson. Traitement préventif et curatif de la carence martiale de la femme enceinte, du nourrisson prématuré, jumeau ou né de mère carencée, quand un apport alimentaire en fer suffisant ne peut être assuré.	En traitement curatif de la carence martiale et de l'anémie par carence martiale : Adulte : 100 à 200 mg de fer métal par jour, soit 2 à 4 ampoules par jour. Nourrisson à partir de 1 mois et enfant : 5 à 10 mg de fer métal/kg/jour. En traitement préventif de la carence martiale : Femme enceinte : 50 mg de fer métal par jour, soit 1 ampoule par jour, pendant les 2 derniers trimestres de la grossesse (ou à partir du 4e mois).	Elle doit être suffisante pour corriger l'anémie et restaurer les réserves en fer qui, chez l'adulte, sont de 600 mg chez la femme et de 1200 mg chez l'homme. Anémie par carence martiale : 3 à 6 mois en fonction de la déplétion des réserves, éventuellement prolongé si la cause de l'anémie n'est pas contrôlée. Un contrôle de l'efficacité n'est utile qu'après au moins 3 mois de traitement : il doit porter sur la réparation de l'anémie (Hb, VGM) et sur la restauration des stocks de fer.
TRACUTIL sol diluer p perf	Chlorure ferreux	695,8 mg/ml. Teneur en : FER 35 MICROMOL/10ML ou 2000 MICROGRAMME(S)/10ML	Ce médicament est utilisé comme source d'oligo-éléments au cours de la nutrition parentérale chez l'adulte.	1 ampoule/jour	Adapter selon rapport bénéfiques/risques

**Annexe 2 : Questionnaire**

**GÉNÉRALITÉS**

Nom : ..... Prénom : .....

Sexe :  Féminin  Masculin

Date de naissance (jj/mm/aa) :  /  /

Age du patient : .....

Lieu de naissance : département pour la France  ou Pays : .....

Origine ethnique : .....

Pathologie(s) connu(es) : .....

Présences de problèmes digestifs (si oui, précisez les symptômes et fréquences) :

Médications en cours :

Médications antérieures (noms, moment du traitement et durée du traitement) :

Le patient présente :

- une fatigue anormale
- une dyspnée d'effort : essoufflement, troubles du rythme
- douleurs des doigts et/ou d'autres articulations

Frères/sœurs avec des taches noires : .....

Autre personne du cercle familial avec des taches noires : .....

**ELEMENTS CONCERNANT LES PÉRIODES PRE/NEO/POST-NATALES**

Médications pendant grossesse :

.....  
.....  
.....

Supplémentations en fer lors de la grossesse ?  OUI  NON

Si oui, préciser le nom du médicament, la posologie, le moment et la durée du traitement :

.....  
.....

Type de naissance :  naturelle  césarienne

Allaitement :  OUI  NON

Si oui, préciser la durée et la fréquence d'allaitement :

.....  
.....

Si oui, préciser l'éventuelle prise de médication pendant la période d'allaitement :

.....  
.....  
.....

**APPORTS EN FER**

Le patient fait-il des anémies ?  OUI  NON

Si oui, depuis quand est-il diagnostiqué anémique ?

.....

Le patient prend-il des supplémentations en fer ?  OUI  NON

Si oui, préciser le nom du médicament, la posologie, le moment et la durée du traitement :

.....  
.....

Parmi les médicaments suivants, cochez ceux que le patient a déjà pris.

Noms du médicament	Quand ?	Durée du traitement
ASCOFER 33 mg gél		
FER AP-HP 0,5 mg gél nouveau-né		
FER ARROW 100 mg/5 ml sol inj		
FERINJECT 50 mg/ml sol inj p perf		
FER MYLAN 100 mg/5 ml sol diluer p perf		
FER PANPHARMA 100 mg/5 ml sol diluer p perf		
FERROSTRANE 0,68 % sirop		
FER SANDOZ 100 mg/5 ml sol diluer p perf		
FUMAFER 33 mg/1 g pdre oral		
FUMAFER 66 mg cp pellic		
TARDYFERON 50 mg cp enr		
TARDYFERON 80 mg cp pellic		
TIMOFEROL 50 mg cp enr		
TIMOFEROL gél		
VELPHORO 500 mg cp à croquer		
VENOFER 20 mg/ml sol inj IV		
DISULONE cp séc		
ELEVIT Vitamine B9 cp pellic		
FERO-GRAD VITAMINE C 500 cp enr		
INOFER 100 mg cp pellic		
NUTRYELT sol diluer p perf		
PEDIAVEN AP-HP G15 sol p perf		
PEDIAVEN AP-HP G20 sol p perf		
PEDIAVEN AP-HP G25 sol p perf		
SUPPLIVEN sol diluer p perf		
SUPRADYN RECHARGE 50+ cp		
TARDYFERON B9 cp pellic		
TOT'HEMA sol buv en ampoule		
TRACUTIL sol diluer p perf		

**Sources alimentaires de fer :**

Quels types d'eau consomme le patient ?  Eau du robinet  Eau minérale

Pour l'eau minérale, préciser la marque ou le nom de la source consommé(e) :

.....

.....

Entourer les aliments consommés régulièrement, préciser la quantité et la fréquence des prises :

Aliments	≤ 1 fois par jour	≥ 1 fois par jour (précisez le nombre de prise journalière)	Plusieurs fois par semaine (précisez)
<input type="checkbox"/> Algues : ao-nori, nori, laitue de mer, wakamé, dulse, spiruline, kombu, graciliaire...			
<input type="checkbox"/> Epices séchées : - thym - basilic - menthe - marjolaine - herbe de provence - persil - sarriette - origan - romarin - sauge			
<input type="checkbox"/> Poudre de : - meloukhia - curcuma - fenugrac - gingembre - poivre noir, blanc, gris - curry - cardamome - piment de cayenne - cannelle			
<input type="checkbox"/> Graines de : - cumin - fenouil - coriandre - carvi - soja entières - sésame - luzerne - lin - orge entière crue - pavot			

- chia séchée - germe de blé - graine de cucurbitacées - sésame grillé décortiqué - graine de sésame			
<input type="checkbox"/> Abats : - boudin noir - foie (canard, porc, poulet, bœuf, lapin, agneau...) - rognon (agneau, bœuf) - gésier - cœur de : dinde, bœuf - foie gras de canard			
Autres épices/aromates : - paprika - feuille de laurier - thym frais - clou de girofle - safran - sauge fraîche			
<input type="checkbox"/> Chocolat noir ou cacao, chocolat noir fourré praliné tablette			
<input type="checkbox"/> Farines : - son de riz, de blé - levure chimique			
Fruits de mer : - moule crue - palourde - poulpe cuit - fruits de mer cuits surgelés - moule en bocal ou boîte de conserves - huître plate crue			
<input type="checkbox"/> Barre céréalière			
<input type="checkbox"/> Olive noire en saumure			
<input type="checkbox"/> Aromates frais : - menthe fraîches - romarin frais			
<input type="checkbox"/> Céréales pour petit déjeuner			
<input type="checkbox"/> Préparation pour mousse au chocolat			
<input type="checkbox"/> Jaune d'œuf en poudre			
<input type="checkbox"/> Légumineuse : - lentille corail, - haricot blanc - haricot - flageolet vert, - haricot mungo			

- fève - haricot rouge - lentille - lentille verte			
<input type="checkbox"/> Quinoa			
<input type="checkbox"/> Charcuterie : - bresaola - pâté ou terrine de campagne - pâté de foie de porc			
<input type="checkbox"/> Biscuit sec au beurre au chocolat sablé galette ou palet			
<input type="checkbox"/> Anchois au sel			
<input type="checkbox"/> Gaufrette fourrée fruits à coque			
<input type="checkbox"/> Pêche séchées			
<input type="checkbox"/> Biscuits secs à teneur garantie en vitamines et minéraux			
<input type="checkbox"/> Glace ou crème glacée, bâtonnet enrobé de chocolat			
<input type="checkbox"/> Poudre cacaotée			
<input type="checkbox"/> Viandes : - bœuf braisé - lapin - cerf - chevreuil - bœuf - cheval			
<input type="checkbox"/> Chewing gum			

**Sources alimentaire en lactoferrine/laitages :**

Le patient boit-il du lait chaque jour ?  OUI  NON

Si oui, précisez :

- Le nombre de verre par jour/la fréquence de consommation :

.....

.....

- Quel type de lait ? (lait demi-écrémé, écrémé, cru...) :

.....

.....

Parmi les spécialités fromagères suivantes, cocher celles consommées régulièrement. Préciser en dessous la fréquence (1 portion par jour, 3 fois par jour, plusieurs fois par semaine...) :

Exemple d'une portion :



Spécialités Fromagères	≤ 1 portion par jour	≥ 1 portion par jour (préciser le nombre de prise journalière)	Plusieurs fois par semaine (préciser)
<input type="checkbox"/> Abondance			
<input type="checkbox"/> Beaufort			
<input type="checkbox"/> Beurre Charentes Poitou			
<input type="checkbox"/> Beurre et Crème d'Isigny			
<input type="checkbox"/> Beurre et Crème de Bresse			
<input type="checkbox"/> Bleu d'Auvergne			
<input type="checkbox"/> Bleu de Gex			
<input type="checkbox"/> Brie de Meaux			
<input type="checkbox"/> Brie de Melun			
<input type="checkbox"/> Camembert de Normandie			
<input type="checkbox"/> Cantal			
<input type="checkbox"/> Chaource			
<input type="checkbox"/> Comté			
<input type="checkbox"/> Epoisses			
<input type="checkbox"/> Fourme d'Ambert			
<input type="checkbox"/> Laguiole			
<input type="checkbox"/> Langres			
<input type="checkbox"/> Livarot			
<input type="checkbox"/> Maroilles			
<input type="checkbox"/> Mont d'Or			
<input type="checkbox"/> Morbier			
<input type="checkbox"/> Munster			
<input type="checkbox"/> Neuchâtel			

<input type="checkbox"/> Pont l'Evêque			
<input type="checkbox"/> Reblochon			
<input type="checkbox"/> Saint Nectaire			
<input type="checkbox"/> Salers			
<input type="checkbox"/> Tomes des Bauges			
<input type="checkbox"/> Brocciu			
<input type="checkbox"/> Ossau Iraty			
<input type="checkbox"/> Roquefort			
<input type="checkbox"/> Banon			
<input type="checkbox"/> Chabichou du Poitou			
<input type="checkbox"/> Charolais			
<input type="checkbox"/> Chavignol			
<input type="checkbox"/> Chevrotin			
<input type="checkbox"/> Maconnais			
<input type="checkbox"/> Pelardon			
<input type="checkbox"/> Picodon			
<input type="checkbox"/> Pouligny saint pierre			
<input type="checkbox"/> Rigotte de Condrieu			
<input type="checkbox"/> Rocamadour			
<input type="checkbox"/> Saint Maure de Touraine			
<input type="checkbox"/> Selles sur Cher			
<input type="checkbox"/> Valençay			

Le patient mâche-t-il régulièrement des gommages à mâcher ?  OUI  NON

Si oui, à quelle fréquence et sur quelle durée (quelques minutes ? plusieurs heures ? lesquelles ?) :

.....

.....

## EXAMEN DENTAIRE

### Hygiène bucco-dentaire :

- Nombre de brossage par jour :.....

- Moment du brossage : combien de temps après la prise alimentaire ?

.....

- Utilisation d'un dentifrice fluoré :  Oui  Non

- Utilisation de bains de bouche :  Oui  Non

Si oui, lesquels :.....

- Fréquence des séances de détartrage :

- Etes- vous fumeur ?  OUI  NON

- Si oui, veuillez préciser le nombre de cigarettes/ paquet par jour :

.....

### Examen extra-oral :

Le patient présente :

une pâleur faciale

mélanodermie (brunissement de la peau)

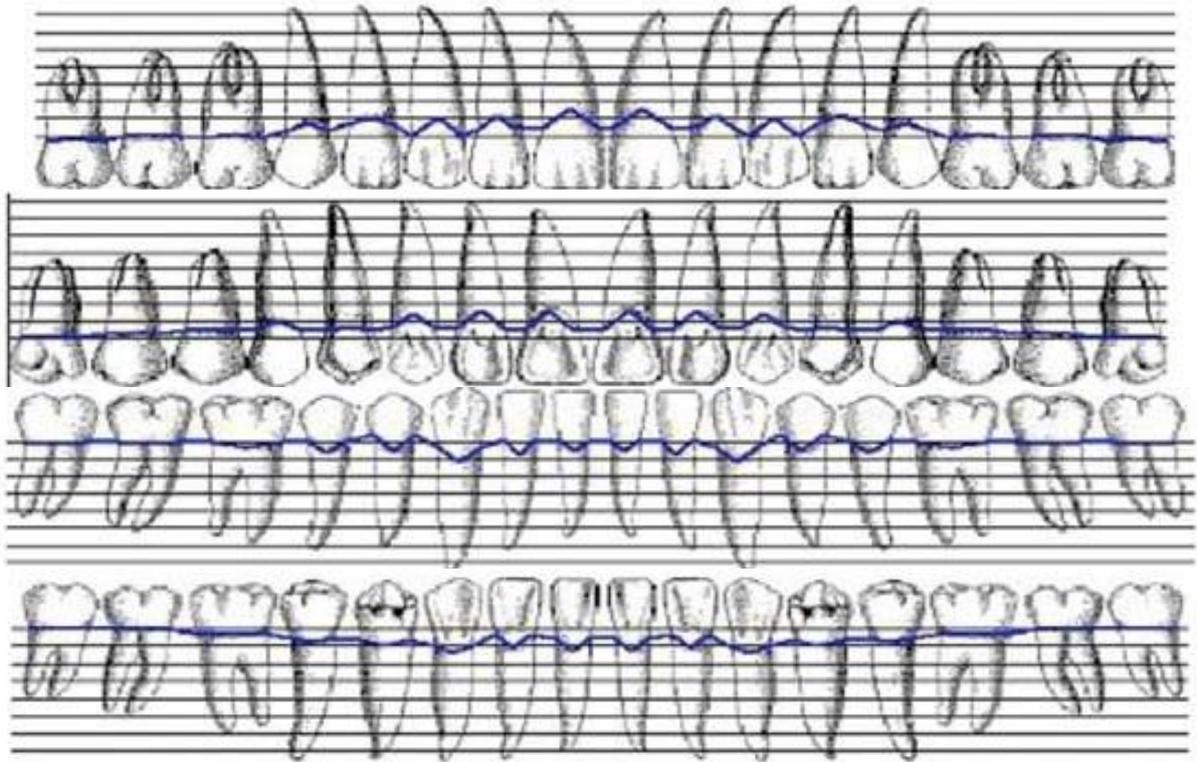
peau avec un aspect grisâtre, métallique sur le visage

peau fine (atrophie) avec un aspect squameux ou en écailles de poisson (ichtyose)

raréfaction des cheveux

**Examen intra-oral :**

Dents atteintes : (dessiner une cartographie des taches du patient préciser si dent temporaire)



Indice de plaque (préciser si dent temporaire) :

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
<input type="checkbox"/>															
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

Score indice de plaque : .....

Etat de surface dentaire :

Lisse  Poreuse/Rugueuse  Autre

Si autre, précisez :

.....  
 .....

Score CAOD/caod (préciser si dent temporaire) :

18	17	16	15	14	13	12	11
48	47	46	45	44	43	42	41

21	22	23	24	25	26	27	28
31	32	33	34	35	36	37	38

Salive quantité et qualité : .....

### **Annexe 3 : Enquête alimentaire à destination du patient atteint de BS**

Veillez remplir ce journal dans la plus grande neutralité. Aucun jugement ne sera fait quant à vos habitudes alimentaires, la démarche est de comprendre si votre alimentation peut avoir un lien avec vos colorations dentaires.

Prenez le temps, calmement, de noter après chaque prise alimentaire, les aliments que vous avez consommés, à quelle heure et dans quelles quantités.

Veillez également noter tout élément pouvant transiter dans votre bouche :

- Gommages à mâcher
- Cafés, thés
- Grignotages en dehors des repas (notez ce que vous prenez)
- Eau (marque)
- Médicament
- Tabac, cigarettes électroniques
- Drogues
- Hygiène (dentifrice, bain de bouche, fil dentaire, etc.)
- Habitudes, pratiques, manies (ronger les ongles, succion du pouce, etc.)

*MERCI POUR VOTRE PARTICIPATION RIGOREUSE*

Exemple de tableau à remplir ci-après

	Jour de la semaine
6.00	
7.00	
8.00	
9.00	
10.00	
11.00	
12.00	
13.00	
14.00	
15.00	
16.00	
17.00	
18.00	
19.00	
20.00	
21.00	
22.00	
NOCTURNE	

Vu, le Directeur de thèse

Vu, le Doyen de la Faculté de Chirurgie dentaire  
de l'Université Paris Descartes

Docteur Élisabeth DURSUN

Professeur Louis MAMAN

Vu, le Président de l'Université Paris Descartes  
Professeur Frédéric DARDEL  
Pour le Président et par délégation,

Le Doyen Louis MAMAN



# Étiologie des colorations noires exogènes de l'émail (black stain)

## Résumé :

Les colorations noires exogènes, ou « *black stain* » (BS) sont des colorations noires des surfaces dentaires souvent rencontrées chez le jeune patient. Sans conséquences pour la santé dentaire, elles représentent un véritable problème esthétique pour les patients atteints. La prévalence de ce phénomène n'est pas négligeable en Europe, et chaque praticien sera donc amené un jour à prendre en charge des patients avec ce type de colorations. Ces colorations sont décrites par la littérature scientifique depuis plus d'un siècle, et pourtant leur étiologie n'a pas encore été déterminée avec certitude. Une revue systématique de la littérature a proposé une hypothèse étiologique pouvant dévoiler le processus de formation des BS. Elles seraient le résultat de l'association de trois facteurs : une flore bactérienne spécifique, du fer et de lactoferrine. L'objectif de cette thèse est de mieux comprendre l'étiologie de ces taches, en s'intéressant de façon approfondie à chacun de ces facteurs. Nous avons alors orienté nos recherches sur les diverses pathologies systémiques pouvant entraîner une surcharge en fer dans l'organisme, mais aussi les sources d'apport possible de fer et de lactoferrine par l'alimentation ou par voie médicamenteuse, ainsi que les espèces bactériennes en présence. Ces informations essentielles nous permettront de proposer des pistes pour un protocole de recherche, et notamment l'établissement d'un questionnaire à remplir avec le praticien à destination des patients atteints. Les différentes pistes de recherche proposées permettront d'étudier le rôle respectif du fer et de la lactoferrine dans la formation de ces taches, et de confirmer ou d'infirmer la présence d'un profil bactérien spécifique.

## Discipline :

Odontologie pédiatrique

## Mots clés fMesh et Rameau :

Dyschromie dentaire -- étiologie -- Dissertations universitaires ; Bouche -- microbiologie -- Dissertations universitaires ; Hémochromatoses -- Thèses et écrits académiques ; Lactoferrines -- Thèses et écrits académiques

Université Paris Descartes  
Faculté de Chirurgie dentaire  
1, rue Maurice Arnoux  
92120 Montrouge