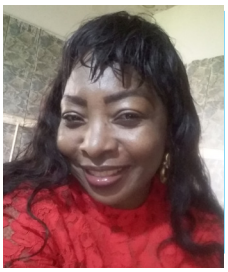
RECHERCHE D'UN MILIEU DE CONSERVATION OPTIMALE DE LA DENT PERMANENTE IMMATURE EXPULSÉE PAR TRAUMATISME

RESEARCH OF AN OPTIMAL STORAGE MEDIUM FOR THE IMMATURE PERMANENT TOOTH EXPELLED BY TRAUMA

MENGONG MONEBOULOU HP[1], NOKAM ABENA ME[1], NDJOH J[1], ESSAMA ENO B[1], ZING S[1], BENGONDO MC[1], KATTIE LOUKA A[2]

1- Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé 1, Cameroun

2- UFR d'Odonto-Stomatologie, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan,Côte d'Ivoire



Correspondance : Dr MENGONG Moneboulou Hortense Perpétue

Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé 1, Cameroun

Email : hpemengong@yahoo.fr / Téléphone : (237) 6 99 91 28 42

RÉSUMÉ

Introduction : Pour permettre une prise en charge efficace d'une incisive permanente immature traumatisée luxée totalement de son alvéole, il est impératif de la transporter au cabinet dentaire, rapidement, dans un liquide de transport adéquat qui conserve la vitalité des tissus parodontaux. L'objectif de cette étude était de rechercher un milieu de conservation adéquat qui permette d'assurer de façon optimale, la vitalité des tissus parodontaux des dents traumatisées.

Méthodes : Il s'agissait d'une étude expérimentale réalisée au CHU de Yaoundé. Des prémolaires permanentes immatures fraichement extraites de leurs ligaments parodontaux ont été utilisées. Elles ont été conservées dans du gel d'*aloès vera* à différentes dilutions et différents pH, du lait écrémé en poudre, et de l'eau du robinet. La lecture de la vitalité cellulaire a été réalisée en microscopie photonique après coloration à l'éosine aqueuse à intervalle de trois heures. Le test de Khi 2 a été utilisé pour comparer la vitalité cellulaire dans les différents milieux de conservation.

Résultats : Les survies cellulaires des tissus parodontaux aux différents temps ont donné les résultats suivants : i) à la 1ère heure, le gel d'*Aloès vera* à pH7 et à une concentration de 25% donnait 99% de cellules vivantes. Le lait écrémé entier à pH6,5 avait 75% de cellules vivantes. ii) Au bout de 48 heures : le gel d'*Aloès vera* 25% présentait 65% de cellules vivantes, et le lait écrémé entier donnait 10% de cellules vivantes. Les tests statistiques ont montré que le taux de survie cellulaire dans le gel d'*Aloès vera* était significativement le meilleur.

Conclusion. Cette étude a montré que le meilleur milieu de transport des dents immatures traumatisées était le gel dilué à 25 % d'*Aloès vera* qui permettait la conservation de la vitalité de 99 % des tissus parodontaux à la 1ère heure.

Mots clés : Traumatisme, expulsion dentaire, milieu de conservation, dent permanente immature, Aloès Vera

SUMMARY

Introduction: *To allow effective management of a traumatized immature permanent incisor completely dislocated from its socket, it is imperative to transport it to the dental office, quickly, in an adequate transport liquid that preserves the vitality of the periodontal tissues. The objective of this study was to find an adequate preservation medium that ensures the vitality of the periodontal tissues of traumatized teeth.*

Method: *This was an experimental study at the Yaoundé CHU. We used immature permanent premolars freshly extracted from periodontal ligaments. They were stored in aloe vera gel at different dilutions and pH, skimmed and powdered milk, and tap water. The cell vitality reading was taken by light microscopy after staining with aqueous eosin at three hour intervals. The chi-square statistical test was used to compare the different storage media.*

Results: *Cellular survival of periodontal tissues at different times gave the following results: i) At the first hour, aloe vera pH 7 at a concentration of 25% gave 99% living cells. The whole skim milk pH6.5 had 75% live cells ; ii) After 48 hours: Aloe vera 25% had 65% live cells, and whole skim milk had 10% live cells. Statistical tests showed that the cell survival rate in Aloe vera gel was significantly the best.*

Conclusion: *Our studies showed that the best transport medium for traumatized immature teeth was the gel diluted with 25% aloe vera which allowed 99% vitality of periodontal tissues at the 1st hour.*

Keywords: Trauma, dental expulsion, preservation medium, immature permanent tooth, aloe Vera, Cameroon.

 © EDUCI 2020

INTRODUCTION

Les traumatismes dentaires font partie intégrante de la traumatologie maxillo-faciale. Les classifications sont nombreuses dont particulièrement celles de Andréasen[1] et de l'OMS.[2] L'expression la plus grave est la luxation totale ou extrusion qui est le déplacement de la dent hors de son alvéole et qui est très fréquente chez l'enfant [3]. La luxation totale est plus fréquente en denture permanente immature à cause de la laxité ligamentaire et la faible longueur radiculaire et l'absence temporelle des fibres septales reliant la dent à son alvéole au niveau apicale [4,5]. Elle se caractérise par une rupture de la liaison dent-os alvéolaire, exposant les ligaments parodontaux au risque de nécrose lorsque la réimplantation n'est pas immédiate [3,4]. Ces accidents surviennent presque toujours dans un contexte de forte tension émotionnelle et psychologique. L'absence de la dent luxée totalement expose à un déficit fonctionnel, et surtout esthétique qui entraîne railleries et stigmatisation de l'enfant; il est alors impératif de la réimplanter [6,7]. La réimplantation de la dent, lorsqu'elle est ramenée au cabinet dentaire, doit être entreprise pour redonner esthétique et confort au patient et confiance aux parents. Il est impératif que le liquide de transport utilisé pour arriver au cabinet dentaire permette de conserver une bonne vitalité des tissus dentaires, surtout parodontaux, de la dent traumatisée. Les milieux de conservation les plus utilisés ont toujours été le lait écrémé entier, les solutions HBSS (*hanks balanced salt solution*), le sérum physiologique [8–10]. Toutefois, ces derniers ont montré des limites liées aux délais de réimplantation qui sont de deux à six heures [6–10], et certains pour leur disponibilité particulièrement dans notre pays. Pour pallier ces limites, des alternatives de milieux de conservation à base d'*aloès vera* ont été envisagées. L'*aloès vera* est une plante réputée pour ses multiples vertus aux nombres desquelles la régénération cellulaire [11–13]. Le gel d'*aloes vera* serait particulièrement riche et contiendrait 98% d'eau et 2% de principes actifs ! En outre, on y trouverait 75 agents actifs, parmi lesquels les vitamines A, B1, B2, B3, B6, B9 et B12. Ces derniers agissent sur la physiologie de la peau. Ce gel serait composé de 20 sels minéraux : calcium, chlore, zinc, cuivre, magnésium, phosphore, chrome, lithium, fer, des mono et polysaccharides, dont l'Accémanane, qui stimulent les défenses de notre organisme. Sa pulpe contiendrait également des acides aminés qui favorisent la régénération des cellules cutanées. De plus, elle possède des enzymes anti-inflammatoires et analgésiques telles que l'amylase, la catalase, la phosphatase et la lipase [14].

Le gel d'*aloes vera* a été utilisé dans diverses études. Les propriétés sus-mentionnées ont motivé notre étude avec pour hypothèse qu'une dilution adéquate d'*aloes vera* permettrait à ce gel de constituer un bon milieu de transport des dents immatures traumatisées comme dans l'étude réalisée sur sur les rats par Soarès et *al* [15]. Nous l'avons testé pour étudier la vitalité des cellules des ligaments parodontaux des dents luxées en vue de leur réimplantation. Les questions de recherche à la base de cette étude étaient les suivantes: au bout de combien de temps l'*aloes vera* permet-il de conserver une vitalité pulpaire certaine et à quelle concentration? Ainsi, les objectifs étaient de déterminer la dilution adéquate d'*aloes vera* pour le transport d'une dent immature traumatisée et définir le délai de conservation d'une vitalité optimale des ligaments parodontaux de la dent traumatisée.

I. MÉTHODES

Il s'est agi d'une étude expérimentale, transversale, descriptive et analytique qui s'est déroulée, pendant deux ans, à Yaoundé (Cameroun). Elle a eu l'accord du Comité d'éthique du CHU de Yaoundé en 2015.

1.1. MATÉRIEL

Le matériel utilisé pour cette étude comprenait :

- le matériel végétal : extraits du gel d'*Aloès vera*

- les milieux de conservation usuels: lait écrémé, lait en poudre, eau du robinet;

- le matériel biologique constitué de ligaments parodontaux provenant des prémolaires immatures extraites de manière atraumatique selon la technique décrite par Thomas et Gopikrishna [8];

- des solvants : éosine aqueuse et sérum physiologique;

- des instruments de manipulation parmi lesquels : sécateur, spatule à bouche, boitiers, tamis, tubes à essai, lames et lamelles, paires de précelles, pH-mètre, gants d'examen, balance de précision, microscope optique;

 © EDUCI 2020

- les dents : prémolaires permanentes immatures extraites pour des raisons orthodontiques. Ces dents étaient rincées au sérum physiologique, puis conservées dans les différents milieux.

1-2. PRÉPARATION DES SOLUTIONS ET OBTENTION DES CONCENTRATIONS

Les feuilles d'*aloes vera* ont été récoltées au sécateur, nettoyées à l'eau du robinet filtrée et rincées au sérum physiologique. Le gel a été obtenu en coupant longitudinalement la feuille avec un couteau et en raclant la pulpe centrale. La pulpe a été broyée, tamisée et stockée dans des tubes à essai au réfrigérateur à 15°C; la température ambiante de travail était de 27°C. Les concentrations du gel d'*aloès vera* ont été obtenues par dilution dans l'éosine aqueuse à 1% à volume fixe de 100ml (0,1 l). La méthode de calcu des concentrations était la suivante: une seringue vide de 10cc, pesant p = 9,6g ; une seringue d'*aloès vera* pesant P = 39,4g ; masse d'*aloès vera* mx = P-p soit 39,4 - 9,6 = 29,8g; la concentration C = masse *Aloes vera* (g)/ Volume d'eosine (l).

Cela a permis d'obtenir de l'*aloés vera* à différentes concentrations de : 25, 50, 75 et 100%.

Les données d'obtention des concentrations utilisées sont illustrées dans le tableau I.

Tableau I : obtention des concentrations utilisées

Tube de dilution	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4
Volume éosine aqueuse (ml)	0 ml	100 ml	100 ml	100 ml
Volume aloès vera (cc)	34	25,5	17	8,5
Masse d'extrait de gel d'av (g)	100g	75g	50g	25g
Concentrations	100%	75%	50%	25%

Les milieux de conservation usuels ont été utilisés à l'état pur, dilués dans l'éosine, à la même température.

1-3. CONDITIONS D'EXPÉRIMENTATION, TECHNIQUE DE COLORATION ET INTERPRÉTATION

La température ambiante était de 27^{0}c, le pH de chaque milieu a été mesuré en début d'expérience et présentait des variations comme le montre le tableau II.

Tableau II : pH des milieux de conservation

Milieu	M 1	M2	M 3	M4	M 5	M 6	M 7
Milieu de conservation	Eosine + 25% *aloès vera*	Eosine + 50% *aloès vera*	Eosine + 75% *aloès vera*	100% *aloès vera*	Eosine + Lait écrémé	Eosine + Lait en Poudre	Eosine + Eau de robinet
pH	7,1	7,2	7,1	5	6,5	6,2	6,5

Les dents, une fois extraites, ont été rincées trois fois au sérum physiologique pour enlever les caillots sanguins. Chaque milieu a reçu une dent permanente immature. Les cellules ont été obtenues par extirpation des ligaments sur les racines des prémolaires extraites. Les ligaments ont été coupés en petites tranches sur la lame de lecture. Une goutte du mélange milieu de conservation éosine aqueuse a été déposée sur la lame avant d'être recouverte par la lamelle. La lecture consistait à compter le nombre de cellules viables par champ de lecture au microscope photonique au grossissement 40, puis multiplier ce nombre par quatre. La viabilité cellulaire a été déterminée par les tests chimiques à base d'éosine aqueuse qui est un acide avec une affinité sélective pour le cytoplasme cellulaire [16]. L'éosine aqueuse mesure les cellules viables qui sont métaboliquement actives par l'action de la déshydrogénase enzyme [16]. La lecture a été effectuée toutes les trois heures jusqu'à 48 heures au microscope photonique. Une coloration rouge des cellules parodontales indiquait une viabilité cellulaire, tandis qu'une coloration marron desdites cellules indiquait une perte de la vitalité. Le nombre moyen de cellules viables était évalué à partir des données de cette expérience. Chaque expérience était réalisée trois fois correspondant à 21 dents permanentes immatures.

Cette recherche expérimentale s'est déroulée, pendant deux ans à Yaoundé (Cameroun). Elle a eu l'accord du Comité d'éthique du CHU de Yaoundé en 2015.

1.4. ANALYSES STATISTIQUES DES DONNÉES

Les variables ont été exprimées en pourcentage et temps. Les données obtenues ont été analysées par le logiciel SPSS statistique 26.0 par l'étude des variances et les moyennes significativement différentes avec un seuil de probabilité $p < 0,05$. Le test de Khi 2 a été utilisé pour la comparaison des différents résultats.

II. RÉSULTATS

2.2.1. POURCENTAGE DE CELLULES PARODONTALES VIABLES PAR L'UTILISATION *D'ALOÈS VERA*

Pour évaluer la survie des cellules parodontales dans les solutions d'aloès vera, les dents ont été plongées dans les différents bains de conservation, pour différentes durées et différentes concentrations comme le montre la figure 1.

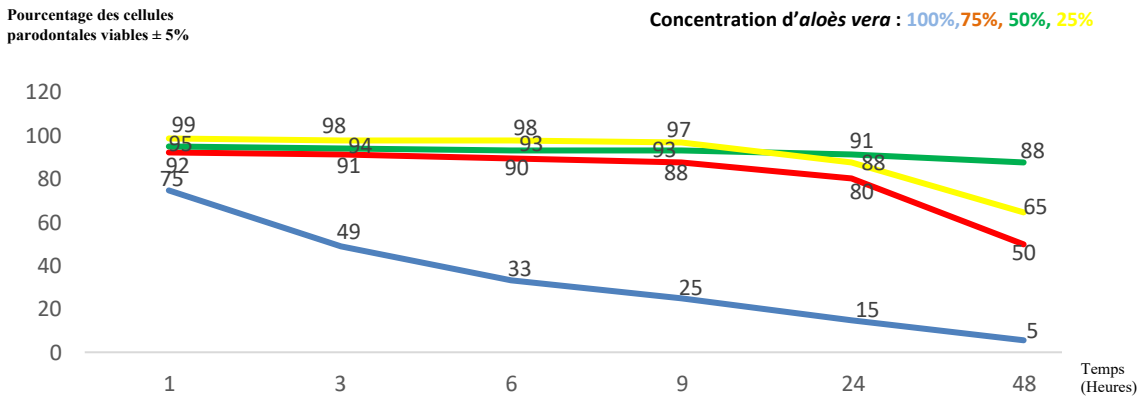


Figure 1 : Pourcentage de cellules parodontales viables par l'utilisation d'aloès Vera

Le maintien de la vitalité cellulaire variait selon la concentration dans le temps :

A H+1

○ La concentration de 100 % d'aloès Vera, conservait moins bien les cellules vivantes ; avec 75% dans le même temps.

○ Les concentrations de 25 et 50% conservaient mieux les cellules vivantes soit 99% et 95% des cellules du ligament parodontal viables.

A H+48

Apres 48 heures, dans la solution d'*Aloès vera* 50%, il y avait encore 88% de cellules vivantes du parodonte.

2.2.2. Pourcentage de cellules parodontales vivantes par l'utilisation des milieux usuels

Le pourcentage de cellules parodontales vivantes par l'utilisation des milieux usuels est montré sur la figure 2.

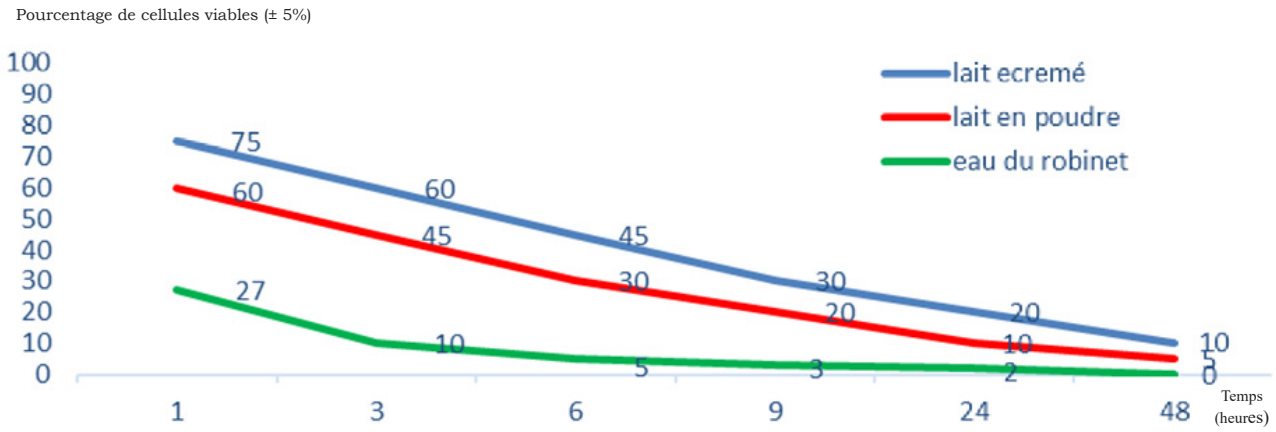


Figure 2 : Pourcentage de cellules parodontales viables dans quelques milieux usuels.

 © EDUCI 2020

► Lait écrémé

- A H+1 : il y avait 75 % les cellules parodontales vivantes avec 75 % de viabilité cellulaire.
- A H+48 : A 48 heures, le lait écrémé n'avait que 10% de cellules parodontales vivantes.

► *L'eau du robinet.* Le taux de vitalité cellulaire était de 27 %

Le graphique suivant comparaison la vitalité cellulaire des milieux usuels et l'aloès dilué à 50%

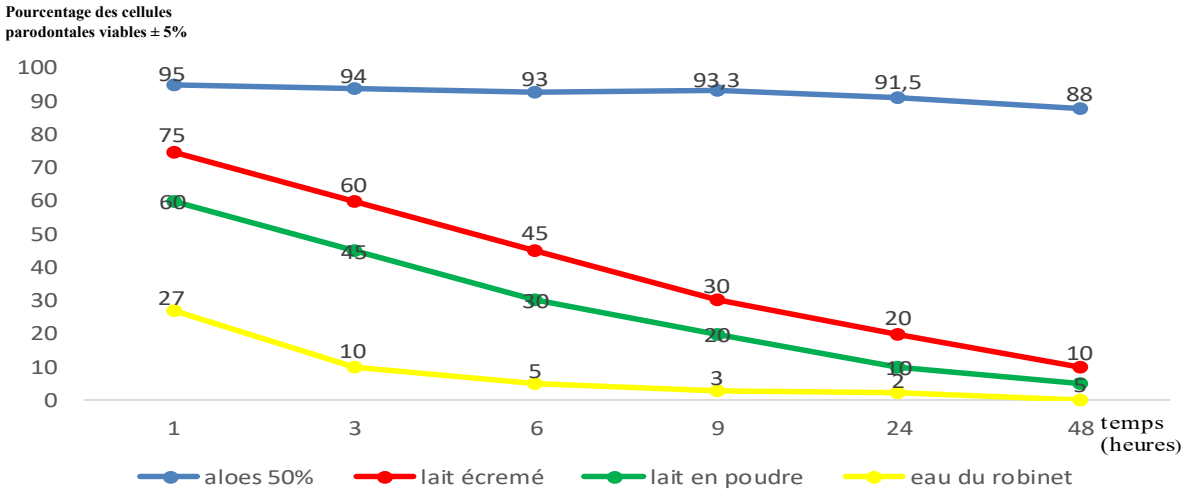


Figure 3 : Comparaison viabilité cellulaire entre les milieux usuels et une concentration d'aloès Vera 50%.

DISCUSSION

Cette étude a été menée pour rechercher le meilleur milieu de transport des dents immatures traumatisées. Elle a utilisé du gel d'*Aloès vera* à différentes concentrations, du lait et de l'eau qui sont des milieux usuels des populations dans notre contexte d'étude.

Différents biais pourraient subsister dans l'étude, relativement à l'état physiologique de la plante ou même aux mesures techniques (biochimiques) qui n'ont pu être effectuées à cause de la relative faiblesse du plateau technique.

La présente étude s'est fondée sur la richesse des propriétés de l'*aloes vera* pour continuer à maintenir la vitalité du ligament parodontal comme l'ont montré Soaères et *al* [15] dans leur étude sur « *L'influence de l'aloes vera avec cellules souches mésenchymateuses de pulpe dentaire sur la régénération osseuse: caractérisation et traitement de défauts non critiques du tibia chez le rat* ». La conservation d'une dent expulsée en cas de non réimplantation immédiate, dans un milieu de conservation approprié, évite des complications infectieuses, et contribue au succès thérapeutique [6,10,17].

Quelle est la dilution adéquate pour servir de milieu de transport ?

Notre travail a montré une efficacité relativement moindre de la solution pure d'*Aloès vera*. Une solution pure d'*aloès vera* à un pH 5 est trop visqueuse et empêche l'accès de l'oxygène aux cellules, provoquant ainsi l'anoxie et par conséquent la mort cellulaire [18, 19, 20]. En effet, pour Dupic et *al.*[20], l'hypoxie plaçe la cellule face à un défi métabolique qui lui impose de devoir adapter son métabolisme pour subsister.

Au contraire, les dilutions du gel à 50 et 25% étaient nettement moins visqueuses, leurs pH respectifs étaient de 7,1 et 7,2 proches du pH physiologique[10]. Dans leurs études Mario et *al.* [21] avaient montré que le pH d'un bon milieu de conservation doit être physiologique. La réduction de la viscosité donne un meilleur accès de l'oxygène. Le pH de l'extrait du gel d'*aloès vera* 50% était de 7,2 nettement supérieur à celui des milieux usuels qui varie entre 6 et 6,5 comme attesté par les tests statistiques ($p<0,5$). En effet, plus le pH d'un milieu se rapproche du pH physiologique mieux il conserve les cellules vivantes [10].

Quelle est la durée de conservation dans le milieu de transport ?

La conservation de la vitalité des cellules parodontales avec l'extrait du gel d'*aloès vera* est non seulement importante mais permettait d'aller au-delà de 48 heures de vitalité. Cette conservation de la viabilité cellulaire se fait non seulement à cause d'une grande quantité de nutriments mais également à l'oxygénation suffisante. L'*aloès vera* contient des éléments nécessaires à la régénération tissulaire [11]. Plusieurs études ont montré que l'extrait de gel d'aloès vera diminue le processus inflammatoire, possède des capacités antibactériennes et accélère la cicatrisation[11,13,22] Par contre, les milieux usuels sont acceptables à la première heure seulement. En effet, quoi que riches en vitamines, calcium, phosphores et sels minéraux, ils ne sont pas complètement stériles. Ils contiennent un certain nombre de bactéries qui augmentent avec la fermentation dans le temps [23, 24]. Dès que le lait est stocké il y a risque de prolifération microbienne [24].

Quels pourraient être les échanges métaboliques entre ce gel particulier et les cellules ? Y a-t-il osmose, échanges ioniques et des nutriments ? Ceci est vraisemblable si on tient compte du taux de survie cellulaire dans ce milieu, 48 heures plus tard après leur immersion. Cette étude confirme également des qualités anti-inflammatoires de l'Aloès vera comme l'ont rapporté les travaux de Soarès et *al* [15] dans la réparation du péri-apex de la dent immature comme cela peut se produire dans un défect osseux [25–27].

CONCLUSION

La réimplantation d'une dent permanente immature expulsée serait plus favorable si elle a été conservée dans une solution d'*aloès vera* aux concentrations de 50% ou 25%. Les milieux usuels sont relativement efficaces à la première heure.

RÉFÉRENCES

1. ANDREASEN JO. *Traumatic Injuries of the Teeth. 1er edition Copenhagen.* 1972;334.
2. World Health Organisation WHO. Application of the international classification of diseases to dentistry and stomatology. ICD-DA. 2e éd. 1978;88-9.
3. ANDERSON L, ANDERSON J, DAY P P. Guidelines for the management of traumatic dental injuries. *Dental Traumatology*. 2012;88-96.
4. RANDRIAMANANTENA T, RAKOTOARIVONY A, RAKOTOARISON R, TOURE G. Avulsion of permanent teeth: incidence, relocation and containment by Dautrey arc. *Med Bucale Chir Buccale*. 2013;235-240.
5. ZOUITEN SKHIRI S, ABDELMOUMEN E, JEMAA M. Traumatic avulsion of permanent teeth. *EDP Sciences*, AOS. 2013;4-13.
6. ANDREASEN JO. Effect of extra oral period and storage media upon periodontal and pulpar healing after replantation of mature permanent incisors in monkeys. *int j surg*. 1981;43-53.
7. AREN A, ERDEM A, AREN G, ŞAHIN Z, GÜNEY TOLGAY C, ÇAYIRCI M. Importance of knowledge of the management of traumatic dental injuries in emergency departments. *Turkish Association of Trauma and Emergency Surgery*. 2018;136–144.
8. THOMAS T, GOPIKRISHNA V, KANDASWAMY D. Comparative evaluation of maintenance of cell viability of an experimental transport media « coconut water » with Hank's balanced salt solution and milk, for transportation of an avulsed tooth: An *in vitro* cell culture study. *J Conserv Dent*. 2008;11(1):22.
9. SOUZA, B, LUCKEMEYER, DD, REYES-CARMONA, JF. Viability of human periodontal ligament fibroblasts in milk, Hank's balanced salt solution and coconut water as storage media. *Int Endod J.* 2011;111-115.
10. BHAGYASHREE T, AJINKYA M. Storages media used for avulsed teeth-the first aid. *European journal of pharmaceutical and medical research.* 2017;433-7.
11. TUDOSE A, ARDMONE C. Regenerative properties of aloes vera juice on human keratinocyte cell culture. *Farmacia.* 2009;590-7.
12. ELUMALAI M, CHOLAN P, KAUR R, MANGAIYARKARASI S. Benefits of Aloe vera in dentistry. Journal of [127] *Manigandan Pharmacy and Bioallied Sciences*. 2015;257.
13. HASHEMI SA, MADANI SA, ABEDIANKENARI S. The Review on Properties of Aloe vera in healing of cutaneous wounds. *Biomed Res Int [Internet]. Epub.* 19 mai 2015; Disponible sur: doi: 0.1155/2015/714216.
14. https://www.stylbio.fr/blog/article/gel-d-aloe-vera-composition-et-proprietes.html du 25 nov 2020.
15. SOARES, IMV, FERNANDES G, CAVALCANTE L, LEITE Y, BEZERRA B, DE CARVALHO M, et al. L'influence de l'Aloe vera avec cellules souches mésenchymateuses de pulpe dentaire sur la régénération osseuse : caractérisation et traitement de défauts non critiques du tibia chez le rat. *J Appl Oral Sci.* 2019;
16. MOHITE P, BHATNAGAR A. Mercurochrome 1% as an antiseptic for burns : Economical_but is it efficacious and safe. *The internet journal of surgery [Internet].* 2009; Disponible sur: DOI : 10.5580/917.

 © EDUCI 2020

17. ERWAN R. L'ankylose alvéolo-dentaire : étiologie, diagnostic et prise en charge. *Chirurgie; ffdumas*-013. 2016;

18. MEADOWS, TIM P. *Aloe vera* as a humectant skin preparation. *Cosmet toileteries*. 1980;51-56.

19. DEBONO R, RAO G, BERRY R. The survival of human skin stored by refrigeration at 4 degrees C in McCoy's 5A medium: does oxygenation of the medium improve storage time? *Plast Reconstr Surg.* 1998;78-83.

20. DUPIC L, HUET O, HARROIS A, DURANTEAU J. Hypoxie et fonction mitochondriale. 2010;399-405.

21. MARIO T, WEST LA. Determination of periodontal ligament cell viability in long shelf-life milk. .*J Endo*. 2000;699-702.

22. DAVIS R. Anti-inflammatory and wound healing activity of a growth substance in aloes vera. Pub med. 1994;

23. KOPACZEWSKI W. Etude physico-chimique du lait. Le Lait, *INRA Editions,*. 1948;273-4, 114-141.

24. ABDENOURI N, IDLIMAM A. Etude hygroscopique du lait en poudre. *Revue des energies renouvelables.* 2008;35-44.

25. JETTANACHEAWCHANKIT S, SASITHANASATE S, SANGVANICH P, BANLUNARA W, THUNYAKITPISAL P. Acemannan stimulates gingival fibroblast proliferation; expressions of keratinocyte growth factor-1, vascular endothelial growth factor, and type I collagen; and wound healing.; *J Pharmacol* Sci. 2009;525-31.

26. DONZELLI E, SALVADÈ A, MIMO P, VIGANÒ M, MORRONE M, PAPAGNA R. Mesenchymal stem cells cultured on a collagen scaffold: in vitro osteogenic differentiation. *Arch Oral Biol.* 2007;64-73.

27. DEVARAJ A, KARPAGAM T. Evaluation of anti-inflammatory activity and analgesic effect of Aloe vera leaf extract in rats. *Int Res J Pharm.* 2011;103-10.