



**HAL**  
open science

## Désinfection endodontique : état des lieux de la recherche et intérêt d'un prétraitement enzymatique

François Jussiaux

► **To cite this version:**

François Jussiaux. Désinfection endodontique : état des lieux de la recherche et intérêt d'un prétraitement enzymatique. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03417275

**HAL Id: dumas-03417275**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03417275v1>**

Submitted on 5 Nov 2021

**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

**FACULTÉ DE SANTÉ**

**a**

**UFR D'ODONTOLOGIE**  
5, Rue Garancière 75006 PARIS

**Année 2020**

**N°**

**THÈSE pour le DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR**  
**en CHIRURGIE DENTAIRE**

présentée et soutenue publiquement le

par **François JUSSIAUX**

**DESINFECTION ENDODONTIQUE : ETAT DES LIEUX DE LA  
RECHERCHE ET INTERET D'UN PRETRAITEMENT  
ENZYMATIQUE**

Dirigée par Mme la Professeure Tchilalo BOUKPESSI

et

Mme la Docteure Marjorie ZANINI

**JURY**

M. le Professeur Vianney DESCROIX	Président
Mme la Docteure Vanessa BAAROUN	Assesseur
Mme la Docteure Julia BOSCO	Assesseur
M. le Docteur Philippe GATEAU	Assesseur
M. le Docteur Jean-François NGUYEN	Assesseur
Mme la Docteure Marjorie ZANINI	Assesseur
Mme la Professeure Tchilalo BOUKPESSI	Membre Invité



# UNIVERSITÉ DE PARIS

Présidente de l'Université : Mme la Professeure Christine CLERICI

Doyenne de l'U.F.R. d'Odontologie Garancière : Mme la Professeure Ariane BERDAL

Directrice Générale des Services : Madame Pascale SAINT-CYR

---

## JURY

M. le Professeur Vianney DESCROIX	Président
Mme la Docteure Vanessa BAAROUN	Assesseur
Mme la Docteure Julia BOSCO	Assesseur
M. le Docteur Philippe GATEAU	Assesseur
M. le Docteur Jean-François NGUYEN	Assesseur
Mme la Docteure Marjorie ZANINI	Assesseur
<i>Mme le Professeur Tchilalo BOUKPESSI</i>	Membre Invité



**M. le Professeur Vianney DESCROIX**

Docteur en Chirurgie Dentaire  
Docteur en Pharmacie  
Diplôme de Doctorat  
Professeur des Universités - Praticien  
Hospitalier

*Pour l'honneur que vous me faites en acceptant de présider le jury de cette thèse ainsi que pour vos efforts pour la qualité de la formation des internes de votre service. Je vous prie d'accepter ma profonde gratitude et mes sincères remerciements.*

**Mme la Docteure Vanessa BAAROUN**

Docteur en Chirurgie Dentaire  
Maître de Conférences des Universités -  
Praticien Hospitalier

*Pour l'honneur que vous me faites en participant au jury de cette thèse, ainsi que pour votre bienveillance. Je vous prie d'accepter mes sincères remerciements. (et me souviendrait longtemps de la prise en charge des patients présentant des troubles de l'hémostase.)*

**Mme la Docteure Julia BOSCO**

Docteur en Chirurgie Dentaire  
Diplôme de Doctorat  
Maître de Conférences des Universités -  
Praticien Hospitalier

*Pour l'honneur que vous me faites en participant au jury de cette thèse, ainsi que pour votre investissement quotidien pour le bien-être des internes dans le service. Je vous prie d'accepter mes sincères remerciements.*

**M. le Docteur Philippe GATEAU**

Docteur en Chirurgie Dentaire  
Diplôme de Doctorat  
Maître de Conférences des Universités -  
Praticien Hospitalier

*Pour l'honneur que vous me faites de participer au jury de cette thèse. Veuillez recevoir mes sincères remerciements.*

**M. le Docteur Jean-François NGUYEN**

Docteur en Chirurgie Dentaire  
Maître de Conférences des Universités -  
Praticien Hospitalier

*Pour l'honneur que vous me faites de participer au jury de cette thèse ainsi que pour, vos conseils et votre humour. Veuillez recevoir mes sincères remerciements.*

**Mme la Docteure Marjorie ZANINI**

Docteur en Chirurgie Dentaire  
Maître de Conférences des Universités -  
Praticien Hospitalier

*Pour l'honneur que vous m'avez fait en acceptant la codirection de cette thèse et pour les précieuses corrections que vous y avez apportées. Je vous remercie pour votre confiance et la bienveillance avec laquelle vous m'avez guidé. Je vous prie d'accepter ma profonde gratitude, mon profond respect et mes sincères remerciements et je penserai souvent aux fous rires en phobie)*

**Mme. la Professeure Tchilalo BOUKPESSI**

Docteur en Chirurgie Dentaire  
Diplôme de Doctorat  
Professeur des Universités - Praticien  
Hospitalier

*Pour l'honneur que vous m'avez fait en acceptant la codirection de cette thèse. Je vous remercie pour votre confiance. Je vous prie d'accepter ma profonde gratitude, mon profond respect et mes sincères remerciements.*





## Table des matières

Introduction .....	4
1. Biofilm et endodontie .....	5
1.1. Définition .....	5
1.2. Formation et détachement du biofilm .....	5
1.3. Spécificité du biofilm : La matrice extracellulaire.....	6
1.4. Lien entre biofilm et infection endodontique.....	7
2. Désinfection en endodontie et biofilm.....	9
2.1. Les solutions d'irrigation .....	10
2.1.1. L'hypochlorite de sodium .....	10
2.1.2. Le digluconate de chlorhexidine .....	11
2.1.3. EDTA.....	11
2.1.4. L'iodure de potassium.....	12
2.1.5. Autres solutions à l'étude.....	12
2.2. Limites à la désinfection endodontique .....	13
2.3. Optimisation de la désinfection.....	15
2.3.1. Optimisation physique .....	15
2.3.1.1. Activation manuelle dynamique .....	15
2.3.1.2. Activation sonore et ultrasonore.....	16
2.3.1.3. Laser et Photo-activation .....	17
2.3.2. Nouvelles perspectives : <i>Optimisation chimique et biologique</i> .....	19
2.3.2.1. Nanoparticules .....	19
2.3.2.2. Les peptides .....	20
2.3.2.3. Les phages .....	20
3. Enzymes en endodontie .....	21
3.1. Enzymes.....	21

3.1.1.	Cathepsine K.....	22
3.1.2.	Pronase.....	22
3.1.3.	Cellulase.....	23
3.1.4.	DNase I.....	23
3.2.	Revue de la littérature.....	23
3.2.1.	Equation de recherche et critères d'éligibilité des études.....	23
3.2.2.	Sélection des études.....	24
3.2.3.	Résultats et discussion.....	24
3.3.	Effets de pré-traitements enzymatiques sur un modèle de biofilm oral multi-espèces : Protocole de recherche in vitro et résultats préliminaires.....	27
3.3.1.	Objectifs.....	27
3.3.2.	Matériel et Méthode.....	28
3.3.2.1.	Schéma du protocole.....	28
3.3.2.2.	Modèle du biofilm.....	29
3.3.2.3.	Préparation des différentes conditions.....	29
3.3.2.4.	Exposition du biofilm aux différentes conditions.....	30
3.3.2.5.	Préparation des échantillons pour la microscopie.....	30
3.3.2.6.	Analyses statistiques.....	32
3.3.3.	Résultats.....	32
3.3.3.1.	Biofilm.....	32
3.3.3.2.	Etude de la viabilité du biofilm.....	33
3.3.4.	Discussion.....	44
3.3.4.1.	Limites de l'étude.....	44
3.3.4.2.	Résultats.....	47
	Conclusion.....	51
	Bibliographie.....	52
	Table des Figures.....	64

Table des tableaux .....	66
Index .....	67

## Introduction

Le lien entre la présence de micro-organismes intra-canaux et le développement de pathologies osseuses inflammatoires d'origine endodontique aux conséquences locales, régionales ou systémiques (Costerton, Stewart, et Greenberg 1999; Kakehashi, Stanley, et Fitzgerald 1965) a depuis longtemps été établi. Au niveau canalaire, ces microorganismes s'organisent en un biofilm, bactéries de même espèce ou non, agrégées en plusieurs couches, associées à une matrice extracellulaire, rendant ainsi l'ensemble plus résistant à nos thérapeutiques de désinfection (Ramachandran Nair 1987). De nombreuses solutions techniques ont été mises au point pour améliorer la désinfection intracanaux et la pérennité des traitements endodontiques. Cependant, malgré le déploiement de protocoles avancés, nous observons toujours des échecs des traitements endodontiques. Certes, les systèmes de mise en forme ont notamment fortement bénéficié des améliorations techniques, mais dans le même temps, la désinfection chimique à l'aide de solutions désinfectantes n'a pas autant évolué. Les innovations sont peu nombreuses et ne proposent souvent que des évolutions ou des associations de solutions existantes. A l'heure actuelle, aucune des solutions ou des associations de solutions utilisables pour les traitements canaux ne sont efficaces à 100% contre les bactéries organisées en biofilm. C'est pour cela qu'il est nécessaire d'explorer pour l'endodontie des solutions déjà étudiées dans d'autres domaines tels que les prétraitements enzymatiques.

Ce travail a pour but, dans une première partie, de faire un état des lieux des connaissances actuelles sur le biofilm endodontique et sur les solutions de désinfection utilisées. Puis, dans une seconde partie, nous analyserons l'intérêt d'utiliser les enzymes en endodontie et leur efficacité sur le pré-traitement d'un biofilm à l'aide d'une étude *in vitro*.

# 1. Biofilm et endodontie

## 1.1. Définition

Un biofilm est une communauté de micro-organismes réunis en colonies et attachés à un substrat, une interface, ou les uns avec les autres. La formation du biofilm a été décrite comme une adaptation ancienne des procaryotes à un environnement hostile (Kolenbrander et al. 2010; Hall-Stoodley, Costerton, et Stoodley 2004; Westall et al. 2001).

## 1.2. Formation et détachement du biofilm

La formation du biofilm suit toujours les mêmes étapes :

- 1. Attachement des bactéries à une surface
- 2. Prolifération
- 3. Adhérence d'autres bactéries
- 4. Production d'une matrice extracellulaire
- 5. Maturation des colonies bactériennes

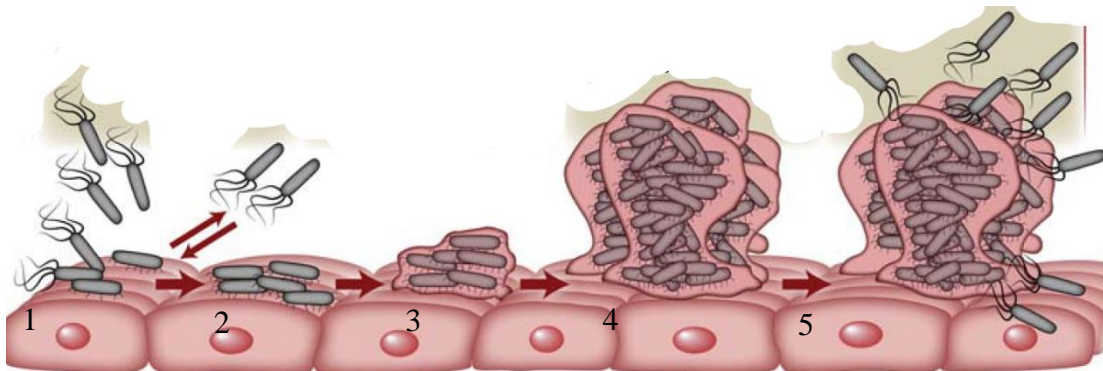


Figure 1 : Développement et dispersion du biofilm d'après M. Kostakioti et al.

(Kostakioti, Hadjifrangiskou, et Hultgren 2013)

Une fois le biofilm mature, les micro-organismes sont disséminés, entraînant la contamination de nouveaux sites et l'apparition de nouveaux biofilms (Costerton, Stewart, et Greenberg 1999; McDougald et al. 2011). Plusieurs mécanismes ont à ce jour été identifiés pour expliquer le détachement du biofilm :

- Arrêt de la synthèse de la matrice extracellulaire
- Dégradation de la matrice extracellulaire
- Perturbation des liaisons non-covalentes entre les différents composants de la matrice.

De nombreuses bactéries utilisent le « Quorum Sensing » pour réguler l'activation de leurs mécanismes, basé sur une communication cellulaire régulée par une expression génique elle-même dépendante de la densité de cellules au sein du biofilm. Ce système retrouvé dans les espèces bactériennes Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup> repose sur l'échange de molécules de signalisation appelées « auto-inducteurs », qui diffuse au sein du biofilm. Des exemples d'auto-inducteurs sont les N-acyl-L-homosérine lactones (AHL) et des peptides modifiés post traduction. Le *Pseudomonas aeruginosa* et le *Staphylococcus aureus* utilisent des AHL et des peptides pour respectivement contrôler l'expression de gènes de virulence en fonction de la densité cellulaire. En effet, le *quorum sensing* permet à la communauté cellulaire de réguler l'expression de gènes de virulence en réponse à leur propre densité cellulaire : la densité cellulaire doit être suffisante avant que les gènes codant les facteurs de virulence ne s'expriment afin que l'infection soit plus efficace. Le processus de formation du biofilm (notamment l'attachement, la prolifération, la production de la matrice extracellulaire et le détachement) est également contrôlé via le *quorum sensing*.

### 1.3. Spécificité du biofilm : La matrice extracellulaire

Les micro-organismes ne représentent qu'une faible portion du biofilm qui est principalement composé d'une matrice hautement hétérogène produite par les bactéries. Celle-ci représente 90% de la masse sèche du biofilm.

La matrice, également appelée matrice extra-cellulaire (MEC), possède plusieurs rôles : (i) structurer le biofilm et favoriser la rétention d'eau, (ii) protéger les micro-organismes, (iii) faciliter les échanges ioniques et de nutriments et (iv) jouer un rôle dans les échanges de matériel génétique (Flemming et Wingender 2010). D'un point de vue clinique, elle constitue une barrière physique limitant l'accès aux bactéries qui doivent être éliminées du système endodontique (Flemming et Wingender 2010; Sutherland 2001).

La matrice est essentiellement constituée de polysaccharides, de protéines extracellulaires et d'ADN (acide désoxyribonucléique) extracellulaire. Les polysaccharides incluent des homopolymères de glucose et de fructose (Flemming et Wingender 2010) : ils régulent l'adhésion aux surfaces et contribuent au développement de résistances bactériennes en limitant l'accès des agents antibactériens à leurs sites d'action ou en protégeant le biofilm contre les défenses de l'organisme (Sutherland 2001; Absalon, Van Dellen, et Watnick 2011). Les protéines de la matrice, parmi lesquelles des adhésines de surface, des sous-unités protéiques

des flagelles ou pili, des protéines de la membrane externe des vésicules (Fong et Yildiz 2015), sont responsables de fonctions structurales et enzymatiques. L'ADN extracellulaire est important lors des premières étapes de formation du biofilm.

#### 1.4. Lien entre biofilm et infection endodontique

L'infection bactérienne a depuis longtemps été identifiée comme le principal facteur étiologique du développement de lésions inflammatoires pulpaire et péri-radulaire (Kakehashi, Stanley, et Fitzgerald 1965). L'infection endodontique peut se produire de deux manières différentes : soit la nécrose septique de l'organe pulpaire par la pénétration de bactéries, soit une colonisation secondaire de la pulpe nécrosée par les bactéries.

Il existe plusieurs types d'infection endodontique :

- Infection intra-radulaire lorsque les bactéries sont localisées dans le système endodontique. On distingue alors l'infection :
  - Primaire : les micro-organismes se développent au sein du tissu pulpaire en cours de nécrose ou nécrosé.
  - Secondaire : lorsqu'elle est causée par des bactéries colonisant le système endodontique pendant ou à la suite d'un traitement canalaire.
  - Persistante : lorsque les bactéries proviennent de l'infection primaire ou secondaire mais ont résisté aux procédures de désinfection.
- Infection extra-radulaire lorsque les bactéries sont localisées hors du système endodontique.

La composition de la flore endodontique varie en fonction de la localisation au sein du système endodontique (coronaire ou apicale), des conditions nutritives, de la concentration en oxygène et du type d'infection (Tableau 1). Toutes les parties d'un canal infecté contiennent des micro-organismes organisés en biofilms. Plusieurs études se sont concentrées sur l'identification du microbiote intracanaire des racines infectées. Classiquement, les espèces que l'on retrouve sont *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Actinomyces*, *Propionibacterium* et *Candida Albicans*. (Göran Sundqvist 1976; Kantz et Henry 1974; Baumgartner et Falkler 1991) .

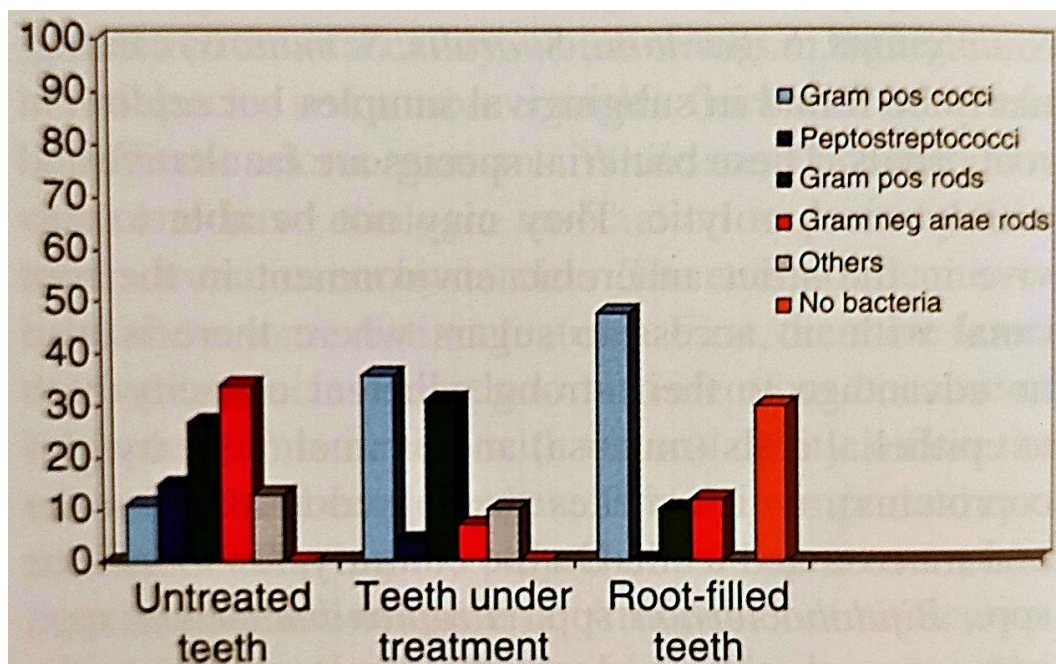


Figure 2 : Composition microbienne en fonction du stade de traitement de l'endodonte d'après Sundquist 92, Chavez de Paz et al. 2003, Molander et al. 1998 (Endodontic Microbiology, Seconde Edition, A. Fouad 2017)

Plus récemment, avec l'aide de la biologie moléculaire, il a été démontré que la flore endodontique est beaucoup plus diverse que ce que l'on pensait jusqu'alors (L. Li et al. 2010; Ozok et al. 2012; José F. Siqueira, Alves, et Rôças 2011). En plus des bactéries citées ci-dessus, on peut retrouver la présence de *Parvimonas micra* (56%), *Porphyromonas endodontalis* (51%), *Tannerella forsythia* (48%), *Prevotella intermedia* (44%) et *Porphyromonas gingivalis* (37%) (Qi et al. 2016). L'identification des différentes espèces en présence est d'autant plus primordiale que *Enterococcus faecalis*, fréquemment retrouvé dans les lésions chroniques, n'interagit pas de manière identique en fonction des souches et des autres bactéries présentes, influençant probablement sa virulence (Paz et al. 2015).

Infections initiales		Infections secondaires ou persistantes	Infections extra radiculaires
Lésion chronique ou asymptomatique	Abcès apical aigu		
<i>Bactérioides</i>	<i>Porphyromonas</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Actinomyces</i>
<i>Treponema</i>	<i>Treponema</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>Prevotella</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>Streptococcus</i>	
<i>Prophyromonas</i>	<i>Bacterioides</i>	<i>Candida</i>	
<i>Fusobactérium</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Propionibacterium</i>	
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	
<i>Streptococcus</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>	
<i>Eubacterium</i>			
<i>Actinomyces</i>			
<i>Campylobacter</i>			

Tableau 1 Principales espèces retrouvées dans le système endodontique en fonction du type d'infection d'après Siqueira (José F. Siqueira 2002)



Malgré ces nouvelles découvertes, l'une des difficultés récurrentes dans l'étude de la désinfection endo-canalaire reste que la flore contient des bactéries non-identifiées dont la plupart ne sont pas cultivables (Rolph et al. 2001; J. F. Siqueira et Rôças 2005). Des techniques comme le séquençage de nouvelle génération pourront certainement améliorer la détection et l'identification des espèces bactériennes présentes.

Les bactéries vont exprimer leur pouvoir pathogène par trois aptitudes : 1) la capacité à coloniser l'endodonte ; 2) la capacité à détruire les tissus ; 3) la capacité à échapper aux défenses propres à l'espace endodontique (Perez dans Simon, Machtou).

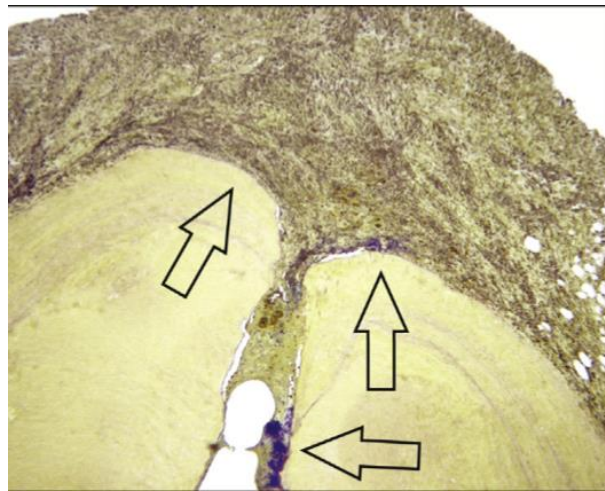


Figure 3 Coupe histologique indiquant la présence de bactéries organisées en biofilm dans le tiers apical d'une prémolaire d'après Ricucci (Ricucci et al. 2018)

L'organisation des bactéries au sein de l'endodonte se fait sous forme de biofilm (Ramachandran Nair 1987).

## 2. Désinfection en endodontie et biofilm

L'objectif pour assurer la décontamination du canal radiculaire est donc la désorganisation du biofilm en bactéries planctoniques, suivie de leur élimination. Pour cela, il est nécessaire d'avoir recours à la fois à une désinfection mécanique et à une désinfection chimique. Cette dernière implique l'usage de solutions d'irrigation. Dans ce travail, nous ne développerons pas les aspects mécaniques du traitement endodontique bien qu'ils soient un prérequis indispensable au succès thérapeutique. Nous nous concentrerons principalement sur certains aspects de la désinfection chimique à l'aide des solutions d'irrigation (Haapasalo et al. 2010). L'intérêt des solutions d'irrigation a été montré depuis plusieurs décennies, notamment avec les travaux de Byström et Sundqvist (Byström et Sundqvist 1983; Bystrom et Sundqvist 1985).

Les objectifs de l'irrigation sont mécaniques (Haapasalo et al. 2010) avec l'élimination des débris et la lubrification du canal pour faciliter le travail des instruments endodontiques ; chimiques avec la dissolution des tissus organiques et du matériel inorganique et biologiques ou microbiologiques via l'action directe contre les bactéries anaérobies (planctoniques ou en biofilm) ou via l'inactivation des toxines.

## 2.1. Les solutions d'irrigation

La solution d'irrigation idéale doit avoir une action anti bactérienne efficace, permettre une dissolution des matières organiques et inorganiques et ne pas être irritante pour les tissus périapicaux. Elle doit également présenter une excellente mouillabilité afin de s'insinuer dans l'anatomie complexe endodontique.

### 2.1.1. L'hypochlorite de sodium

L'hypochlorite de sodium (NaOCl) est actuellement la solution d'irrigation la plus utilisée grâce à son large spectre antibactérien et sa propension à dissoudre les tissus organiques (Haapasalo et al. 2010; Naenni, Thoma, et Zehnder 2004). En solution aqueuse, l'hypochlorite (NaOCl) se dissocie en acide hypochloreux ( $\text{HOCl}^-$ ). Celui-ci va se dissoudre en ion hypochlorite en milieu basique. Les deux composants vont donc être en équilibre et le niveau de chlore actif est lié au pH de la solution. L'acide hypochloreux possède l'action oxydante la plus élevée. Cette activité oxydante est importante à prendre en considération car elle implique une consommation progressive en chlore actif au cours du traitement et la nécessité d'un renouvellement régulier de la solution.

L'hypochlorite de sodium agit par trois mécanismes principaux sur les micro-organismes : il interfère avec l'intégrité de la membrane cytoplasmique par des inhibitions enzymatiques irréversibles, perturbe les mécanismes de biosynthèse et enfin dégrade les phospholipides (Estrela et al. 2002). Une étude récente a également montré une capacité de l'hypochlorite à briser les liens glycosidiques et dissoudre les glyco-conjugaisons au sein du biofilm (Tawakoli et al. 2017). Cependant, l'efficacité de l'hypochlorite de sodium diminue face aux biofilms en comparaison aux bactéries planctoniques (Anwar, Dasgupta, et Costerton 1990). Son inconvénient principal est son effet caustique sur la matière organique avec des risques d'ulcération et de nécrose des tissus périapicaux en cas d'extrusion accidentelle (risque d'ulcération, nécrose). Son efficacité est fortement en lien avec la quantité utilisée et le temps d'application (Chau, Chung, et Jeon 2015; Petridis et al. 2019; Gazzaneo et al. 2019) ainsi qu'avec la concentration bactérienne initiale (Zandi et al. 2016) mais moins avec la

concentration employée (Verma et al. 2019). Il semble que son effet puisse être amélioré en l'associant à un ammonium quaternaire tel que le chlorure de benzalkonium (Baron et al. 2016). De plus, d'après une étude de 2018, une préparation à base d'acide glycolique et de surfactant potentialise son effet sur les tissus organiques (Peña López et al. 2018).

#### 2.1.2. Le digluconate de chlorhexidine

La chlorhexidine ( $C_{34}H_{54}Cl_2N_{10}O_{14}$ ) est largement utilisée comme désinfectant en médecine étant donné son large spectre antibactérien. Les bactéries Gram<sup>+</sup>, Gram<sup>-</sup> ainsi que les levures y sont sensibles et elle a gagné en popularité en étant moins caustique que l'hypochlorite de sodium vis-à-vis des tissus (Spangberg, Engström, et Langeland 1973). La chlorhexidine est bactériostatique à basse concentration (0.2%) et bactéricide à haute concentration (2%), entraînant des dommages cellulaires et la précipitation du cytoplasme. Dans ce dernier cas, elle s'attache aux phospholipides de la membrane interne, augmentant la perméabilité et ainsi les fuites de contenu intra-cellulaire et son effet peut être potentialisé par le cétrimide, antiseptique bactériostatique de la famille des ammoniums quaternaires (Ruiz-Linares et al. 2017). Néanmoins, n'ayant pas la capacité à dissoudre les tissus nécrosés, elle est surtout utilisée lors du rinçage final (Naenni, Thoma, et Zehnder 2004) et sa capacité antibactérienne ne semble pas être supérieure à l'hypochlorite de sodium (Gonçalves et al. 2016; Rôças et al. 2016). Elle possède également une capacité de rémanence jusqu'à 7 jours (Böttcher et al. 2015). Son efficacité, comme celle de l'hypochlorite, est dépendante de la charge bactérienne initiale (Zandi et al. 2016).

#### 2.1.3. EDTA

L'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) appartient au groupe des solutions chélatantes dont la fonction est principalement de dissoudre la phase minérale (hydroxy apatite) de la boue dentinaire créée au cours de la préparation canalair par les instruments de mise en forme. La présence sur les parois de boue dentinaire réduit en effet la diffusion des solutions d'irrigation au niveau des tubules et des zones anatomiques complexes, protégeant ainsi les pathogènes. L'EDTA possède également une capacité à désorganiser le biofilm (Casalnuovo et al. 2017) via la perte des ions  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$  de la membrane externe des bactéries, permettant l'exposition des phospholipides de la membrane interne. Ce mécanisme améliorerait ainsi l'efficacité des autres solutions. Il possède également un effet d'inhibition sur la croissance des pathogènes (Finnegan et Percival 2015).

#### 2.1.4. L'iodure de potassium

L'iodure de potassium (IKI) est utilisé depuis le XIX<sup>ème</sup> siècle pour de multiples applications comme désinfectant et antiseptique mais n'est pas d'usage courant en endodontie. Généralement composé d'iodure et de potassium iodé avec un ratio de 1:2, sa concentration varie de 0.2/0.4% à 5/10%. L'iode semble être le principal agent actif antibactérien (Fráter et al. 2013), pénétrant rapidement les parois cellulaires. Il affecte les cellules par plusieurs mécanismes, le plus important étant l'oxydation du groupe S-de la cystéine, qui empêche la synthèse correcte des protéines par élimination de la formation des ponts disulfites. L'usage de l'IKI présente plusieurs avantages : un spectre large, une toxicité relativement faible et un possible effet rémanent (Abbas Abbaszadegan, Khayat, et Motamedifar 2010; Anders 2012). Les travaux de Anders (Anders 2012), Stojicic (Stojicic, Shen, et Haapasalo 2013) ainsi que Jing X (Jing et al. 2019) confirment que l'iodure de potassium est un agent antibactérien efficace contre un biofilm polymicrobien complexe.

#### 2.1.5. Autres solutions à l'étude

Les solutions présentées ci-dessus sont les plus fréquemment utilisées et les plus connues, mais de nouveaux produits sont à l'étude actuellement et certains semblent présenter des résultats encourageants.

Nous pouvons ainsi citer :

- l'eau électrolysée fortement acide équivalente à l'hypochlorite de sodium à 5,25% (Cheng et al. 2016),
- l'Octenisept®(traitement antiseptique bactéricide et fongicide) a montré une plus grande efficacité que la chlorhexidine (Bukhary et Balto 2017),
- l'acide lipotéichoïque de *Lactobacillus Plantarum* qui inhibe la formation d'un biofilm oral multi-espèces (A. R. Kim et al. 2019),
- l'eau ozonée qui montre également des propriétés proches de l'hypochlorite de sodium avec respectivement 98,02% et 98,07% de diminution du décompte bactérien (Pinheiro et al. 2018),
- l'eau super-oxydée semble également avoir des propriétés antibactériennes intéressantes par rapport à l'hypochlorite de sodium avec une absence de différence statistiquement significative entre les deux solutions face à *E. faecalis* (Zan et al. 2016),
- l'huile d'olive ozonée a également été mise à l'essai avec des résultats prometteurs (Elshinawy et al. 2018)

- On retrouve enfin de nombreuses recherches à base de phytothérapie :
  - Le *propolis* (Oncag et al. 2006)
  - Le *curcumin* (Rai et al. 2008) qui semble plus efficace que la chlorhexidine (Ashok, Ganesh, et Deivanayagam 2017),
  - *Melaleuca alternifolia* (Sadr Lahijani et al. 2006)

## 2.2. Limites à la désinfection endodontique

- La complexité de l'anatomie endodontique avec la présence de canaux latéraux et accessoires ou secondaires, de ramifications et d'isthmes (Peters et al. 2000)

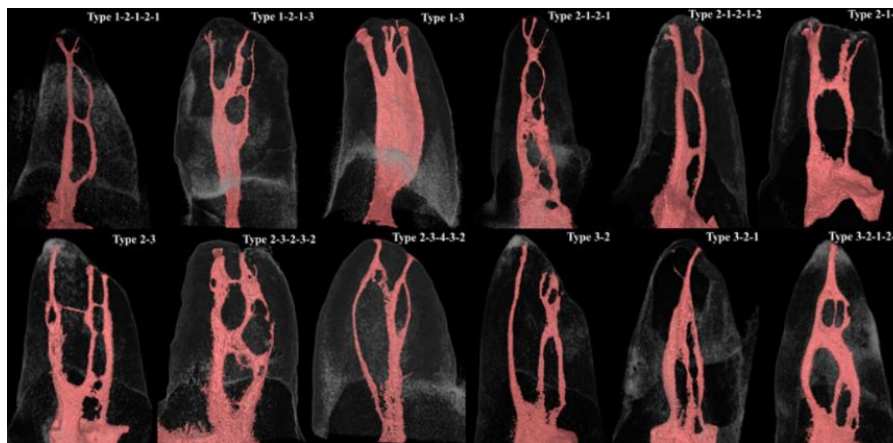


Figure 4 : Réseaux canalaires complexes de racines palatines de premières molaires à partir de reconstruction 3D.  
D'après Yeun Kim, Kee-Yeon Kum (Y. Kim et al. 2013)

- La persistance de biofilm endodontique a été observée dans des zones endocanalaire inaccessible aux instruments endodontiques de dents avec lésions apicales persistantes (Ricucci et Siqueira 2010).

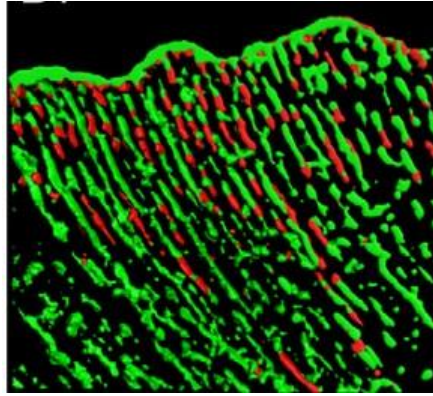


Figure 5 : Persistance de bactéries viables au sein des tubules dentinaires après désinfection à l'hypochlorite de sodium *in vitro* par microscopie confocale à balayage laser et coloration LIVE/DEAD (Z. Wang, Shen, et Haapasalo 2012)

- Le pouvoir tampon de la dentine, qui correspond à une réduction de l'efficacité de certains produits de désinfection comme l'hypochlorite de sodium ou la chlorhexidine (Karale et al. 2016).
- La présence de biofilm entouré d'une matrice extra-cellulaire qui diminue l'habilité des solutions antiseptiques à atteindre leurs cibles et contribue à la persistance d'agents pathogènes intracanaux (Ricucci et Siqueira 2010). En effet, cette structure empêche le contact direct entre les bactéries et les désinfectants chimiques utilisés lors des traitements endodontiques, contact nécessaire au bon fonctionnement des désinfectants. Ainsi, le biofilm est considéré comme un moyen de défense, permettant la survie des micro-organismes confrontés à des conditions extrêmes (Højby et al. 2010; Fux et al. 2005; Philip S. Stewart et Franklin 2008; Poole 2012). Il faut également évoquer l'épaisseur du biofilm qui permet aux bactéries positionnées en profondeur de ne pas être directement exposées aux antibactériens.
- Les bactéries persistantes se trouvent pour la plupart au sein d'un biofilm et ont la capacité de résister durant de longues périodes sans nutriment, ainsi qu'à des modifications de la MEC. La persistance de bactéries que l'on peut mettre en culture et d'acide lipotéichoïque a d'ailleurs été démontrée à toutes les étapes du retraitement endodontique (Barbosa-Ribeiro et al. 2016). De plus, le canal étant ouvert à son extrémité apicale, la survie bactérienne pourrait être possible grâce à l'apport de nutriments par voie parodontale, ceci n'ayant pour le moment pas été confirmé. Ces éléments contribuent à la persistance de l'infection intracanaux et, indirectement, au



développement de lésions apicales ou à un retard voire à l'absence de cicatrisation (Fabricius et al. 2006).

- La présence de bactéries résistantes qui correspond à la capacité de certains micro-organismes à résister aux effets de médicaments auxquelles ils étaient précédemment sensibles. Il existerait un lien entre la tolérance aux désinfectants et la résistance bactérienne aux antibiotiques. Les recommandations ne préconisent pas l'usage d'antibiotiques par voie locale au cours des traitements canaux mais ceux-ci sont utilisés de façon très importante pour traiter les complications des infections endodontiques.

L'apparition de résistances peut aussi être facilitée par la proximité des bactéries au sein du biofilm facilitant les échanges de matériel génétique.

En raison de ces obstacles, certaines espèces sont protégées (Molander et al. 1998; G. Sundqvist et al. 1998; Hancock et al. 2001) et contribuent à la persistance de l'infection.

### 2.3. Optimisation de la désinfection

La solution de désinfection doit donc être amenée au contact du biofilm afin de garantir une efficacité. L'irrigation passive qui consiste à délivrer la solution avec une seringue introduite dans le système endodontique a montré ses limites à la propagation de la solution d'irrigation dans le 1/3 apical et dans les zones anatomiques complexes (McGill et al. 2008; Huang, Gulabivala, et Ng 2008). L'habilité de la solution à pénétrer et à se répandre dépend de ses propriétés, de sa concentration et des outils de potentialisation utilisés (chauffage de la solution, activation mécanique ou chimique, etc...) (Stewart et Costerton 2001; del Pozo et Patel 2007; König, Schwank, et Blaser 2001; Spoering et Lewis 2001) .

#### 2.3.1. Optimisation physique

##### 2.3.1.1. *Activation manuelle dynamique*

La technique la plus simple pour permettre la mise en mouvement des solutions d'irrigation dans le système endo-canaux ainsi qu'améliorer leur renouvellement consiste en l'utilisation d'un cône de gutta percha mis en mouvement dans le canal par va et vient rapide à l'aide d'une précelle (fréquence : 100 mouvements / minute). L'intime adaptation du maître cône permettrait de créer une surpression lors des mouvements de poussée, permettant ainsi une meilleure répartition de la solution d'irrigation au niveau de zones anatomiquement complexes.

Cette technique, bien que plus contraignante pour l'opérateur, semble être aussi efficace que l'usage d'un activateur sonore en ce qui concerne l'élimination des débris, de la boue dentinaire et la désintégration du biofilm (Caron et al. 2010; McGill et al. 2008)

#### 2.3.1.2. Activation sonore et ultrasonore

L'impact de l'activation mécanique de l'hypochlorite de sodium sur sa capacité à dissoudre les tissus à l'intérieur du canal a été établi (Moorer et Wesselink 1982; van der Sluis et al. 2007). Les mouvements liquidiens entraînent un effet de cisaillement facilitant le détachement du biofilm de la surface dentinaire.

L'activation sonore repose sur la transmission d'ondes provenant d'un insert spécifique d'une fréquence comprise entre 1 et 6kHz. L'Endoactivator® est une pièce à main sans fil permettant la vibration d'inserts en plastique à une fréquence de 10 000 cycles /minute. Il est utilisé dans le canal avec un mouvement de va et vient. Cette double composante (horizontale et verticale) permet la formation de turbulences hydrodynamiques.

L'activation ultrasonore implique que l'énergie ultrasonore soit transmise à une lime montée sur pièce à main à une fréquence comprise entre 25 et 30 kHz. Celle-ci crée des turbulences acoustiques générant des mouvements liquidiens. Les vibrations vont également créer des zones de pression-dépression à l'origine de bulles d'oxygène : le phénomène de cavitation gazeuse. Ces bulles vont éclater contre les parois canalaire et participeraient à l'élimination mécanique du biofilm.

Des travaux ont également montré l'effet de l'activation ultrasonore sur le flux liquidien et sur l'efficacité de l'hypochlorite de sodium à dissoudre les tissus (Paragliola et al. 2010). Dans un modèle *in vitro*, l'activation ultrasonore semble plus efficace que l'agitation sonore pour activer une solution d'hypochlorite et retirer un biofilm d'*Enterococcus Faecalis* (Mohammed et al. 2018). Ces résultats semblent prometteurs mais la trop grande hétérogénéité des protocoles de recherche rend la comparaison des différentes méthodes d'activation compliquée, comme cela est relevé dans une récente revue de littérature concernant l'élimination de la boue dentinaire (Virdee et al. 2018).

Les moyens d'activation sonore (Caron et al. 2010) et ultrasonore ont démontré leur efficacité par rapport à l'irrigation passive à la seringue (Boutsioukis et al. 2007; 2014; Konstantinidi et al. 2017), développant une force de cisaillement plus importante sur les parois



(Bryce et al. 2018; Chen et al. 2014), contre les bactéries elles-mêmes mais pas forcément contre leurs endotoxines (Nakamura et al. 2018) et l'activation ultra-sonore ne semble pas plus efficace que l'irrigation conventionnelle pour retirer la boue dentinaire (Schmidt et al. 2015). De même, elle ne peut pas se substituer à l'instrumentation manuelle pour la désinfection des canaux de large diamètre (Pladisai, Ampornaramveth, et Chivatxaranukul 2016) .

### 2.3.1.3. Laser et Photo-activation

#### 2.3.1.3.1. Laser en endodontie

Il existe différents types de laser que l'on distingue en fonction de la longueur d'onde d'émission. On retrouve les lasers émettant dans le proche infra-rouge (débutant à 803 nm et jusqu'à 1340 nm) avec notamment le laser Néodium Nd:Yag (1064 nm) et les lasers diodes (810 nm, 940nm, 980n, et 1064 nm), ainsi que les lasers émettant dans le moyen infra-rouge avec les lasers au grenat d'yttrium-scandium-gallium dopés au chrome et à l'Erbium (Er,Cr:YSGG, 2 780 nm) et le laser au grenat d'yttrium-aluminium dopé à l'Erbium (Er:YAG, 2 940 nm) (Iaria s. d.). En complément des différentes familles de lasers, on trouve différents protocoles d'irrigation tel que le LAI (irrigation activée par laser) ou le PIPS (*Photon Induced Photoacoustic Streaming* ou flux photo-acoustique induit par l'absorption de photons).

Comme dans d'autres disciplines de la chirurgie dentaire, l'utilisation d'instrumentation laser est beaucoup étudiée en endodontie. Le système PIPS® semble permettre une bonne pénétration de la solution d'irrigation dans les tubules (Azim et al. 2016) et une étude a montré qu'un laser diode (255nm) est efficace contre *Enterococcus Faecalis* et promeut également la production de marqueurs cellulaires inducteurs de la cicatrisation osseuse, initiateurs de l'angiogenèse et pro inflammatoires, par des fibroblastes gingivaux et par des cellules mésenchymateuses embryonnaires (HEPM) (Morio et al. 2019). Pour ce qui est de l'élimination d'un biofilm d'*Enterococcus faecalis* le laser Er,Cr : YSGG semble supérieur au laser Er : YAG ® (Kasić et al. 2017). Ces résultats sont donc assez prometteurs. Mais une autre étude réalisée avec le laser dentaire Erbium :YAG® n'a pas montré de supériorité par rapport aux autres méthodes d'activation pour éliminer les débris (Passalidou et al. 2018) et globalement l'utilisation des lasers n'est pas plus efficace que l'irrigation conventionnelle (Granevik Lindström, Wolf, et Fransson 2017).

### 2.3.1.3.2. Thérapie photo-dynamique

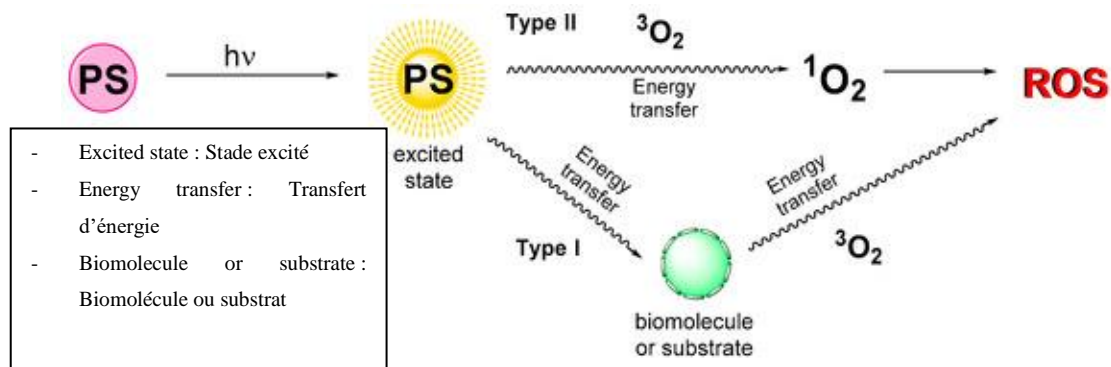


Figure 6 : Mécanisme de la thérapie photo-dynamique comprenant un colorant excitable, l'oxygène et la lumière (Gallardo-Villagrán et al. 2019)

La thérapie photo-dynamique repose sur la photo-activation, qui correspond à l'excitation d'un colorant non toxique ayant la capacité d'absorber l'énergie et de la transférer à une autre molécule à l'aide d'une source lumineuse (Figure 6). Elle présente une action sur les molécules extra-cellulaires du biofilm parce qu'elle est médiée par de l'oxygène singulet qui a une forte réactivité chimique. Elle a démontré une réduction de la charge bactérienne au sein du canal (Hoedke et al. 2018) et certaines études la trouvent plus efficace en comparaison avec l'activation ultra-sonore avec l'eau comme solution d'irrigation (Meyer et al. 2017). Différents photo-activateurs ont été comparés comme le bleu de méthylène (Oda et al. 2019) ou l'indocyanine verte (Bolhari et al. 2018) et le curcumin. Ces deux derniers semblent être les deux plus prometteurs (Pourhajibagher, Kazemian, et al. 2018). La photo-activation entre cependant dans la catégorie des adjuvants et non des substituts aux protocoles conventionnels (Pražmo, Godlewska, et Mielczarek 2017; Pourhajibagher, Chiniforush, et al. 2018), montrant dans certains travaux une moins bonne efficacité que le recours aux ultra-sons (Muhammad et al. 2014).

## 2.3.2. Nouvelles perspectives : *Optimisation chimique et biologique*

### 2.3.2.1. *Nanoparticules*

Les nanoparticules sont des particules présentant trois dimensions sous l'échelle nanométrique.

<b>Inorganique</b>	<b>Métallique</b>	<b>Polymérique</b>	<b>Point quantique</b>	<b>Fonctionnalisé avec</b>
Oxyde de Zinc	Or	Alginate	Sulfite de Cadmium	Médicaments
Oxyde de Fer	Argent	Chitosan	Selenide de cadmium	Photosensibiliseur
Dioxyde de titane	Fer			Anticorps
Oxyde de Cerium	Cuivre			Protéines
Verre bioactif d'oxyde d'aluminium	Magnésium			

*Tableau 2 Classification des nanoparticules disponibles basée sur leurs compositions traduit d'après Kishen 2016 (Shrestha et Kishen 2016)*

Les effets de taille quantique sont responsables de leurs propriétés chimiques et physiques spécifiques. Leurs caractéristiques principales sont un large spectre et une faible propension à induire des résistances (Samiei et al. 2016). Les nanoparticules de chitosan (Elshinawy et al. 2018; del Carpio-Perochena et al. 2015) mais également les nanoparticules d'argent possèdent une haute cytocompatibilité et une bonne efficacité comme désinfectant (A. Abbaszadegan et al. 2015; Takamiya et al. 2016). Il n'existe pas de différence entre l'utilisation de celles-ci et la désinfection à l'aide du laser (diode laser et thérapie photo-dynamique) (Afkhami, Akbari, et Chiniforush 2017) ; de plus l'effet peut être potentialisé en les couvrant de farnesol (alcool sesquiterpène acyclique) ou d'alcool polyvynil (polymère obtenu par hydrolyse alcaline de l'acétate de polyvinyle) (Chávez-Andrade et al. 2019). On retrouve aussi les nanoparticules d'or (Hashimoto et al. 2015), de zinc (de Almeida et al. 2018), et de cuivre (Sánchez-Sanhueza et al. 2018). Une approche encore plus innovante propose l'utilisation de nanoparticules (nanoparticules d'oxyde de fer biomimétique mimant l'action des peroxydases) possédant un effet catalyseur proche de celui des enzymes (Bukhari et al. 2018).

#### 2.3.2.2. Les peptides

Depuis quelques dizaines d'années, de nouveaux composés ont été utilisés afin d'éliminer le biofilm bactérien : les peptides. Ceux-ci fonctionnent selon plusieurs mécanismes :

- La dégradation du potentiel de la membrane des cellules du biofilm
- L'interruption des mécanismes de communication cellulaire
- La dégradation des composants de la matrice notamment les polysaccharides
- La régulation négative des gènes responsables de la formation du biofilm ou des protéines de liaisons

D'autres études ont étudié l'effet des peptides contre le biofilm endodontique. Certains peptides comme le 1018 et le DJK-5 sont efficaces comme agent antibiofilm *in vitro* (D. Wang et al. 2018) et une lysine chimérique a montré d'intéressantes propriétés (W. Li et al. 2018). Citons aussi KR-12-a5, un peptide non cytotoxique avec une activité antimicrobienne et antibiofilm (Caiaffa et al. 2017). Enfin, la nisine de haute pureté semble être aussi efficace que l'hypochlorite de sodium (Kajwadkar et al. 2017).

#### 2.3.2.3. Les phages

Une autre voie de recherche prometteuse pourrait être l'utilisation de phages, des virus capables d'infecter les bactéries et de les éliminer, utilisés depuis de nombreuses années comme antibiotiques, mais elle est encore peu documentée pour le moment (Shlezinger et al. 2017).

### 3. Enzymes en endodontie

L'un des derniers développements dans les traitements d'élimination du biofilm a pour but de désorganiser sa structure avec l'aide de traitements enzymatiques précédant l'usage des traitements conventionnels. Ces dernières années, les enzymes ont été étudiées dans le traitement des biofilms de l'industrie alimentaire (Anand Sanjeev et al. 2013), des plaies chroniques (Fleming, Chahin, et Rumbaugh 2017) et marginalement en endodontie (Niazi et al. 2015). Les enzymes peuvent désorganiser les biofilms grâce à plusieurs mécanismes, notamment l'attaque et la dégradation de ses composants, l'initiation de la lyse cellulaire, la perturbation des mécanismes de « quorum sensing » ou encore la catalyse de composés antibactériens (Cordeiro et Werner 2011).

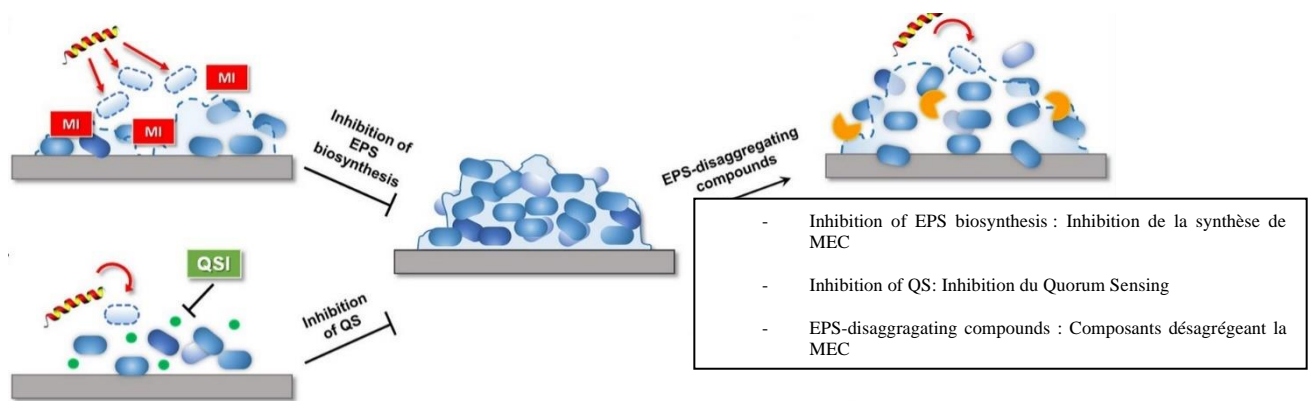


Figure 7 : Mécanismes d'action des enzymes sur le biofilm d'après Grassi 2017

(Grassi et al. 2017)

#### 3.1. Enzymes

Les enzymes sont des macromolécules, catalyseurs naturels, capables d'accélérer une réaction chimique sans être consommées. La plupart des enzymes sont des protéines et leurs spécificités proviennent de leur structure tridimensionnelle unique. Les enzymes fonctionnent en diminuant l'énergie nécessaire pour qu'une réaction se produise, augmentant ainsi le nombre de réactions sans altérer l'équilibre. Leurs spécificités les différencient d'autres catalyseurs (Robinson 2015).

Les enzymes peuvent être classées en six catégories : les oxydoréductases, qui catalysent des réactions d'oxydo-réduction par le transfert d'un atome d'oxygène ou d'hydrogène ; les transférases, qui permettent le transfert d'un atome ou d'un groupe d'atomes d'une molécule à une autre ; les hydrolases, qui catalysent les réactions hydrolytiques ; les lyases, qui retirent un

atome ou un groupe d'atomes ; les isomérases, qui catalysent le réarrangement des structures moléculaires ; les ligases, qui catalysent la liaison de deux molécules entre elles.

### 3.1.1. Cathepsine K

La cathepsine K, catégorie des hydrolases, est plus précisément une cystéine-protéase lysosomale qui s'exprime dans les ostéoclastes et qui est responsable de la dégradation de la matrice collagénique de l'os (D. Brömme et Okamoto 1995). C'est la collagénase la plus efficace exprimée dans les cellules du remodelage de la matrice extracellulaire. Dans l'état actuel de nos connaissances, à ce jour elle n'a jamais été utilisée comme pré-traitement anti-biofilm.

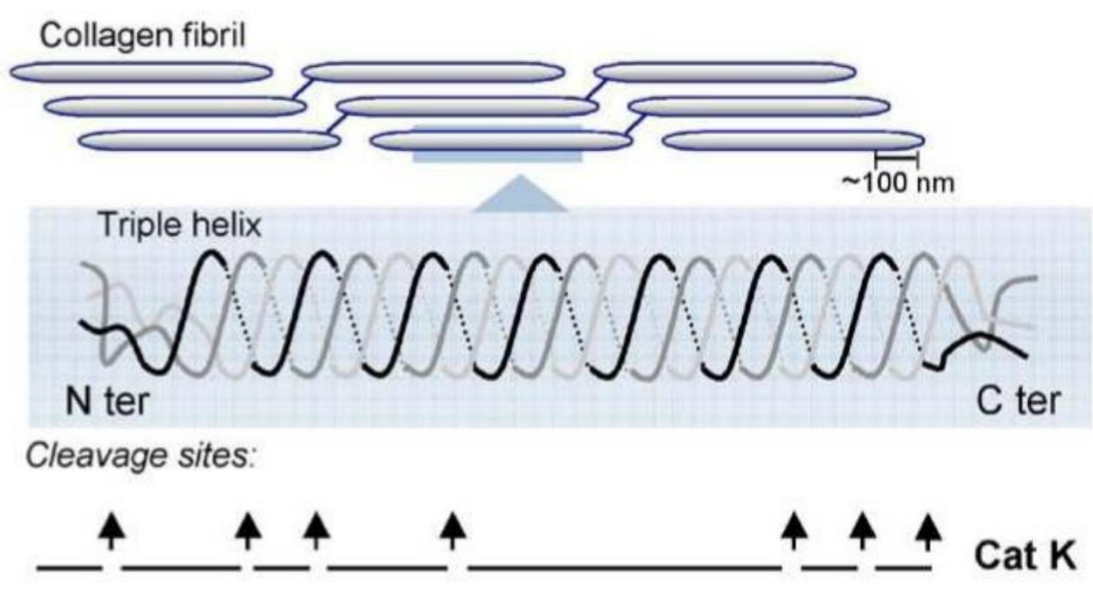


Figure 8 : Représentation schématique de la dégradation de la triple hélice de collagène par la cathepsine K (site de clivage aléatoire)

(Dieter Brömme et Lecaille 2009)

### 3.1.2. Pronase

La pronase, catégorie des hydrolases, est un mélange non spécifique de protéases isolées du fluide extra-cellulaire de *Streptomyces griseus* (Trop et Birk 1968). Son activité protéolytique s'étend de la dénaturation jusqu'à la déconstruction en acides aminés individuels des protéines. Elle comprend communément des protéases neutres, des chémotrypsines, des trypsines, des carboxypeptidases et des amino-peptidases. La pronase a déjà été utilisée avec un certain succès dans la désorganisation d'un biofilm endodontique (Rodríguez-López, Carballo-Justo, et al. 2017; Rodríguez-López, Puga, et al. 2017). La pronase étant non-spécifique, elle a été choisie pour cibler les composants de la MEC ou de la paroi cellulaire.

### 3.1.3. Cellulase

Le terme cellulase, catégorie des hydrolases, fait référence à un groupe d'enzymes produites par des bactéries ou des champignons qui, agissant ensemble, peuvent catalyser la cellulolyse (décomposition de la cellulose)(Zhang, Hong, et Ye 2009). La cellulase casse les liaisons  $\beta$ 1-4 des polysaccharides linéaires de glucose constituant la cellulose. Les polysaccharides sont les constituants principaux de la MEC et les exposer à un traitement enzymatique pourrait avoir des effets intéressants.

### 3.1.4. DNase I

La désoxyribonucléase I (DNase I) (Okshevsky et Meyer 2015), catégorie des hydrolases, est une endonucléase qui clive l'ADN au niveau des liaisons phosphodiester. Elle agit sur l'ADN simple et double brin et sur la chromatine. La DNase I est sécrétée par des glandes exocrines, principalement le pancréas et la parotide. Elle se fixe à l'actine du cytosquelette. L'ADN extracellulaire étant l'un des composants de la MEC, l'usage de la DNase I peut avoir des effets intéressants.

## 3.2. Revue de la littérature

### 3.2.1. Equation de recherche et critères d'éligibilité des études

La question posée était : Quelle est l'efficacité des enzymes sur le biofilm en endodontie ? Une recherche bibliographique dans la base de données Pubmed a été effectuée pour identifier toutes les publications portant sur le traitement enzymatique du biofilm endodontique. Les mots clés ont été les suivants « Enzymes (MeSH Term), biofilm (MeSH Term), endodontics ». Les critères d'inclusion utilisés étaient les suivants :

- Articles portant sur un biofilm oral avec un traitement enzymatique en solution
- Articles en anglais ou en français
- Étude *in vitro*
- Articles publiés depuis l'année 2000

Les critères d'exclusion étaient les suivants :

- Articles portant sur des études *in vivo*
- Articles dans une autre langue
- Texte complet non accessible

Une recherche ascendante a permis d'identifier des références secondaires pertinentes. Après l'application des critères d'exclusion la liste définitive de références a été analysée pour extraire les données qualitatives.

### 3.2.2. Sélection des études

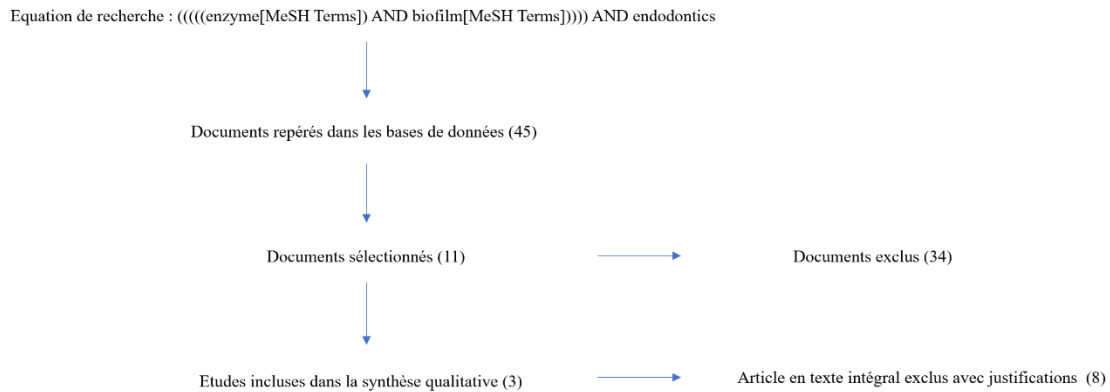


Figure 9 : Diagramme de flux de la recherche bibliographique

La recherche sur mots clés a permis d'isoler 45 articles. 11 articles ont été sélectionnés sur lecture du titre. 3 articles ont passé la deuxième phase de la revue. 8 articles portaient notamment sur l'implantologie, un autre sur le biofilm carieux (Figure 9).

### 3.2.3. Résultats et discussion

Les études incluses ont permis de mettre en évidence que les caractéristiques des biofilms étudiés étaient variables : le nombre d'espèces varie d'une (Persoon 2012) à cinq (Niazi 2015). On retrouve *E. Faecalis* dans tous les travaux, ce pathogène étant suspecté pour son rôle dans les infections persistantes en endodontie. Les autres espèces sont issues de travaux précédents portant sur l'étude de la composition du biofilm endodontique. L'âge du biofilm varie entre 48h et 14 jours.

D'autre part, les enzymes utilisées varient pour chaque étude. La vanadium chloroperoxydase n'a pas d'action directe sur le biofilm mais son effet antibactérien provient du produit de sa réaction en présence d'halogénures (Bromure ou Chlorure) qui produit de l'acide hypo-haleux aux propriétés anti-bactériennes ainsi que du peroxyde d'hydrogène. Les protéases (trypsine et protéinase K) sont utilisées pour leurs interactions directes avec le biofilm et en complément d'un traitement avec une solution de chlorhexidine à 2%.



Les critères d'évaluation diffèrent également selon les études. Les travaux de Persoon et al. reposent sur la quantification d'unités formant colonie (UFC). L'étude de Niazi et al. utilise un dénombrement des colonies viables ainsi qu'une méthode qualitative avec une coloration vivant/mort associée à la microscopie confocale à balayage laser.

Les résultats des études nous montrent que l'association de la chlorhexidine 0,2% et d'une protéase telle que la trypsine semble être efficace contre le biofilm même si elle reste inférieure à l'hypochlorite de sodium (5,5 %). La chloroperoxydase de vanadium est également efficace dans la diminution du nombre d'UFC et dans sa version modifiée (plus active pour un pH neutre ou légèrement alcalin) elle peut fonctionner efficacement au pH intracanalair malgré le pouvoir tampon de la dentine.

Certaines enzymes ont été utilisées dans d'autres domaines comme traitement complémentaire aux solutions de désinfections classiques avec des résultats intéressants (Meireles et al. 2016; Rodríguez-López, Carballo-Justo, et al. 2017; Rodríguez-López, Puga, et al. 2017). Mais très peu de ces travaux sont spécifiques au biofilm endodontique (Niazi et al. 2015; Pleszczyńska Małgorzata et al. 2016; Niazi et al. 2014). Notre revue de littérature a permis de mettre en évidence que la méthodologie des études variait en termes de protocoles, d'enzymes et de biofilms utilisés ainsi que de critères d'analyse : les résultats de ces travaux sont donc peu comparables. Nous pouvons faire ressortir de cette revue de littérature la nécessité de poursuivre ces recherches et de tester de nouvelles enzymes sur un biofilm s'approchant du biofilm endodontique.

Étude (année)	Caractéristiques du Biofilm		Enzymes (concentration/quantité)	Groupes			Méthodologie	Résultats
	Age	Nombre d'espèces		Contrôle	Groupe 1	Groupe 2		
<i>Persoon et al. (2012)</i>	24h		chloroperoxidase (VCPO) 1 (1µmol/L)	ClONa	Chloride+ VCPO	Bromide+ VCPO	Remise en culture des bactéries après traitement et décompte des colonies viables après incubation	Effet antibactérien des produits de l'enzyme
<i>Persoon et al. (2013)</i>	48h		VCPO modifié 1 (1µmol/L)	Buffer sans VCPO/VCPO modifié	Bromide + VCPO	Bromide+ VCPO modifié	Remise en culture des bactéries après traitement et décompte des colonies viables après incubation	Effet antibactérien des produits de l'enzyme à pH intra-canalair
<i>Niazi et al. (2014)</i>	14 jours		Trypsine ou Protéinase K 5 (6mL)	Aucun irrigant	Chlorhexidin e 2%	Chlorhexidine+ Trypsine ou Protéinase K	Remise en culture des bactéries après traitement et décompte des colonies viables après incubation + Microscopie confocale à balayage laser	Efficacité de la trypsine en association avec la chlorhexidine, mais moindre que NaOCl

Tableau 3 Tableau d'extraction des données de la littérature (Auteur 2020)

### 3.3. Effets de pré-traitements enzymatiques sur un modèle de biofilm oral multi-espèces : Protocole de recherche in vitro et résultats préliminaires

Les travaux qui suivent ont été réalisés dans l'équipe du professeur Markus HAAPASALO de la Faculté de dentisterie de l'Université de Colombie-Britannique de Vancouver (CANADA).

Nous avons pu voir précédemment que les bactéries ont trouvé dans les biofilms un moyen de défense très efficace, leur permettant de résister à nos thérapeutiques et entraînant au niveau endodontique des échecs de soins, la persistance de lésions qui évoluent vers la chronicité et finalement la perte de la dent concernée. L'objectif principal du traitement endodontique étant la désorganisation du biofilm et l'élimination complète des micro-organismes (M. Haapasalo et al. 2010), il est par conséquent crucial de travailler sur de nouvelles stratégies thérapeutiques destinées à les éliminer

#### 3.3.1. Objectifs

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de quatre enzymes (cathepsine k, pronase, DNase 1 et cellulase), aux modes d'action différents, sur un modèle de biofilm oral, en association ou non avec des solutions d'irrigation couramment utilisées en endodontie.

### 3.3.2. Matériel et Méthode

#### 3.3.2.1. Schéma du protocole

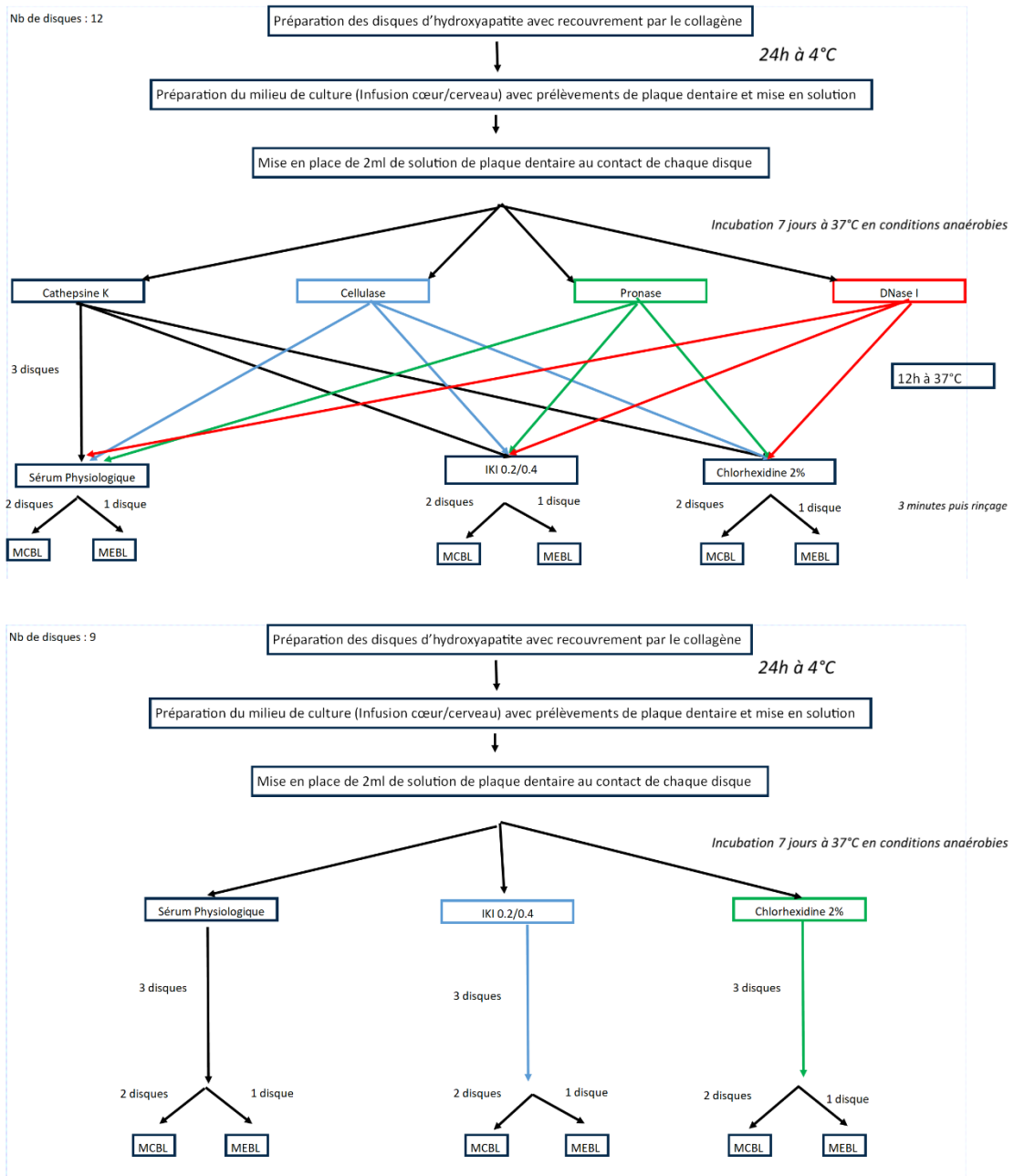


Figure 10 : Schéma du protocole expérimental (Auteur 2020)

#### 3.3.2.2. *Modèle du biofilm*

Des disques stériles d'hydroxyapatite (HA) (diamètre 9.65mm/ épaisseur 1.52mm ; Clarkson Chromatography Products, Williamsport, PA, USA) ont été utilisés pour la culture du biofilm. Les disques d'HA sont recouverts de collagène de type I d'origine bovine (10 mg/mL de collagène dans 12 mM HCl dans de l'eau ; Cohesion, Palo Alto, CA). Le recouvrement par le collagène est fait pendant une nuit à 4°C dans les puits d'une plaque de culture tissulaire contenant 2ml de solution de collagène. Les disques recouverts de collagène sont mis en place dans les puits d'une plaque de culture cellulaire 24 puits contenant 2ml de la solution de plaque dentaire (plaque supragingivale issue de trois volontaires sains mélangée dans de l'infusion cœur cerveau (ICC) (Difco, Detroit, MI) et présentant une concentration en cellules bactériennes minimum de  $3.2 \cdot 10^7$  CFU/ml). Les disques sont ensuite incubés, pour une durée de 7 à 28 jours, dans des conditions anaérobies (AnaeroGen ; Oxoid, GB) à 37°C ; un indicateur est présent dans le sachet pour contrôler l'anaérobie (Indicateur anaérobie à la résazurine, Oxoid, Thermo Scientific, GB). Le milieu de culture (Infusion cœur cerveau) est remplacé toutes les semaines.

#### 3.3.2.3. *Préparation des différentes conditions*

Pour la DNase I, la pronase et la cellulase, des poudres lyophilisées commerciales ont été utilisées et plusieurs solutions ont été préparées à des concentrations de 10mg/ml (Rodríguez-López, Carballo-Justo, et al. 2017). Pour chaque solution de traitement, 10mg de poudre d'enzymes ont été ajoutés à 1 ml de solution tampon. La pronase (PRN, from *Streptomyces griseus*, Sigma-Aldrich) a été dissoute dans 0.1 mM de solution tampon Tris-HCl à un pH de 7.5 +/- 0.2. La cellulase (CEL, from *Aspergillus Niger*, Sigma-Aldrich) a été dissoute dans 100 mM de solution tampon citrate à un pH de 6.0 +/- 0.1. La DNase I (d'origine pancréas bovin, Sigma-Aldrich) a été dissoute dans 10 mM de solution tampon Tris-HCL (pH 7.5 +/- 0.2) contenant également 2.5 mM de MgCl<sub>2</sub> et 0.1 mM de CaCl<sub>2</sub>. La solution de cathepsine K a été préparée à une concentration de 1 mM par un laboratoire partenaire dans une solution tampon spécifique contenant 0.1 mM d'acétate de sodium, 2.5 mM de dithiothreitol (DTT) et 2.5 mM d'éthylènediaminetétraacétate (EDTA).

La préparation magistrale de chlorhexidine a été réalisée à une concentration de 2% (Niazi et al. 2014; Pinheiro et al. 2018) depuis une solution à 20% dans de l'eau distillée. L'iodure de potassium a été préparé à une concentration de 0.2%/0.4%. Enfin, l'hypochlorite de sodium a été préparé à partir d'une solution à 6% à des concentrations variant entre 0.5 et 2%.

#### 3.3.2.4. *Exposition du biofilm aux différentes conditions*

Le milieu de culture a été retiré de la plaque à puits contenant les disques puis 45 microlitres de chaque solution enzymatique ont été appliqués sur chaque disque et incubés à 37° pendant 14h. Des contrôles négatifs ont été réalisés en parallèle en appliquant la solution tampon sans l'enzyme.

Après le traitement enzymatique, les disques ont été rincés deux fois à l'eau distillée puis immergés soit dans la chlorhexidine à 2% soit dans l'IKI à 0.2/0.4% pendant 3 minutes, puis rincés de nouveau dans de l'eau distillée. Des contrôles négatifs ont été réalisés en parallèle en immergeant les disques pendant 3 minutes dans de l'eau distillée. Les traitements à l'hypochlorite de sodium ont été réalisés en immersion à une concentration de 2% et avec application de gouttes à la surface du biofilm à une concentration de 1%.

#### 3.3.2.5. *Préparation des échantillons pour la microscopie*

##### 3.3.2.5.1. *Microscope confocal à balayage laser (MEBL)*

Tous les disques porteurs du biofilm bactérien qui ont été exposés aux différents traitements, comme détaillé précédemment, ont été soumis à un test de viabilité bactérienne et à la microscopie confocale à balayage laser (Shen, Stojicic, et Haapasalo 2011). Les disques ont été rincés avec du sérum physiologique pendant une minute avant l'exposition aux marqueurs. Les marqueurs issus du kit de viabilité pour la microscopie et les essais quantitatifs (LIVE/DEAD Bac-light Bacterial Viability Kit, Molecular Probes, Eugene, OR, USA) ont été utilisés en solution avec un rapport 1:1 (SYTO 9 et Propidium Iodide) conformément aux recommandations du fabricant (« LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit, for microscopy quantitative assays » s. d.).

L'excitation/émission maximale pour ces colorants est de 480/500 nm pour le SYTO 9 (marquage de toutes les cellules) et 490/635 pour le propidium iodide (marquage des cellules mortes). La fluorescence pour chaque colorant cellulaire a été observée avec un microscope confocal à balayage laser (FV10i-LIV, Olympus, Canada) équipé de 4 diodes laser (405nm, 473nm, 559nm, 635nm) sur un champ de 1024 x 1024 pixels avec une lentille ayant un grossissement de 10. Cinq zones aléatoires du biofilm ont été analysées pour chaque disque, résultant en dix à vingt zones étudiées par groupe. Une pile de 40 à 60 coupes de 2 micromètres d'épaisseur a été acquise sur l'épaisseur du biofilm (de haut en bas). Les images issues de la microscopie confocale ont été analysées et quantifiées (ratio vivant/mort) en utilisant le logiciel Imaris 7.2 (Bitplane Inc., St Paul, MN, USA). Le ratio de fluorescence rouge sur la fluorescence

verte a été déterminé (Figure 11), la fluorescence rouge indiquant les cellules mortes. L'effet des traitements était représenté par la différence entre le ratio du volume de bactéries mortes après traitement par rapport au même volume dans le contrôle.

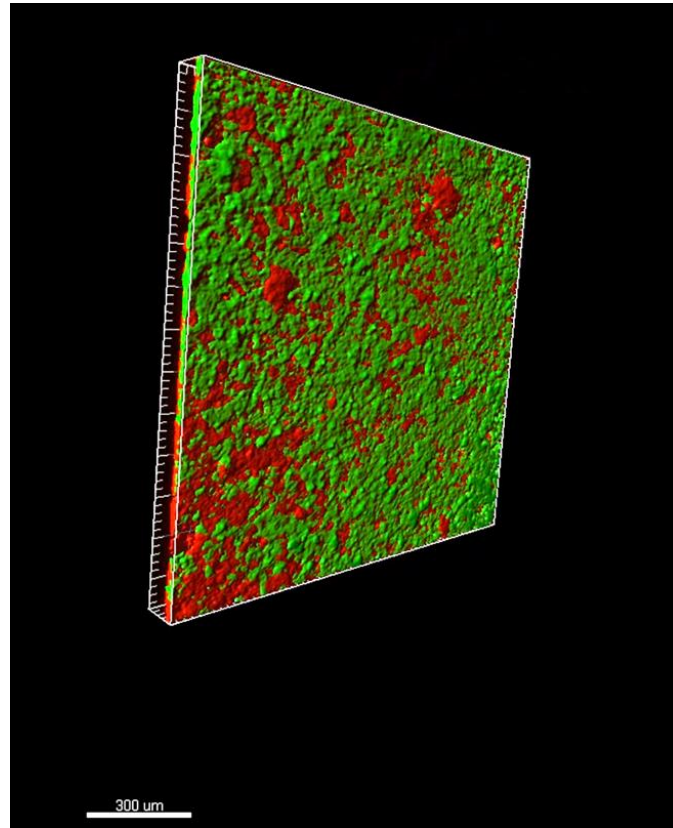


Figure 11 : Reconstruction 3D du biofilm avec le logiciel IMARIS à partir des données MCBL (Auteur 2018)

#### 3.3.2.5.2. Microscope électronique à balayage laser

Des disques additionnels ont également été exposés aux traitements pour être observés en microscopie électronique. Les échantillons ont été préfixés dans une solution à 2.5% de glutaraldéhyde (tampon phosphate) pendant 10 minutes avant une seconde fixation dans une solution à 1% d'osmium tétroxyde pendant 1h. Les disques ont ensuite été plongés dans des bains d'éthanol de concentration croissante (50%, 70%, 80%, 90% et 100%) pour les déshydrater. Les disques déshydratés ont ensuite été passés dans une sécheuse point critique (Samdri-975 ; Tousimis Research Corporation, Rockville, MD, USA) puis pulvérisés cathodiquement à l'iridium (EM MED 020 ; Leica Microsystems ; Austria) et observés par la suite par MEB (Helios Nanolab 650, FEI, Portland, USA), la tension d'accélération étant de 2 kV en utilisant des grossissements de 1500x et 10000x.



### 3.3.2.6. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été effectuée avec le logiciel Excel 2016 (Excel 2016, Microsoft, USA) pour Windows (Microsoft, USA). La moyenne et l'écart-type de la proportion du volume de cellules mortes sur le volume de biofilm à partir des analyses issues de la microscopie confocale ont été calculés. Une analyse ANOVA à deux facteurs avec répétition a été appliquée pour comparer les résultats des traitements avec un seuil de signification de 5%.

### 3.3.3. Résultats

#### 3.3.3.1. Biofilm

La formation du biofilm a toujours réussi sur une période d'une semaine et ils ont été cultivés jusqu'à 4 semaines (données non présentées). La Figure 12 est une image de microscopie électronique à balayage laser d'un biofilm contrôle sans traitement, à plusieurs grossissements, montrant un biofilm mature complexe avec plusieurs morphotypes bactériens et une densité importante.

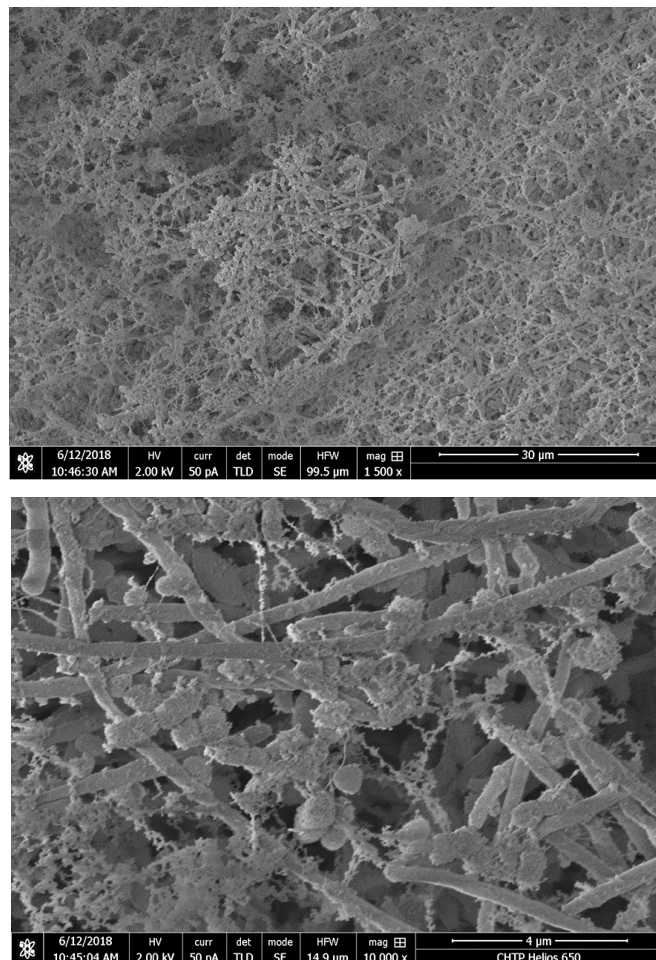


Figure 12 : Images de microscopie électronique à balayage laser de biofilm sans traitement (Haut : x1.500 bas, x10000) (Auteur 2018)



### 3.3.3.2. Etude de la viabilité du biofilm

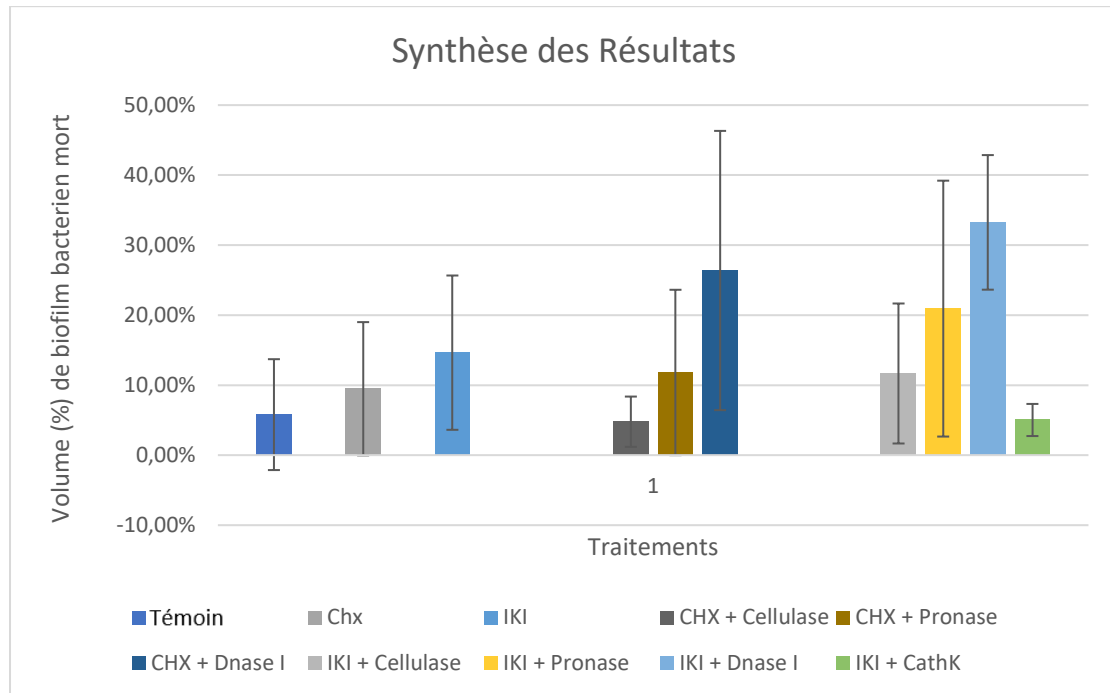
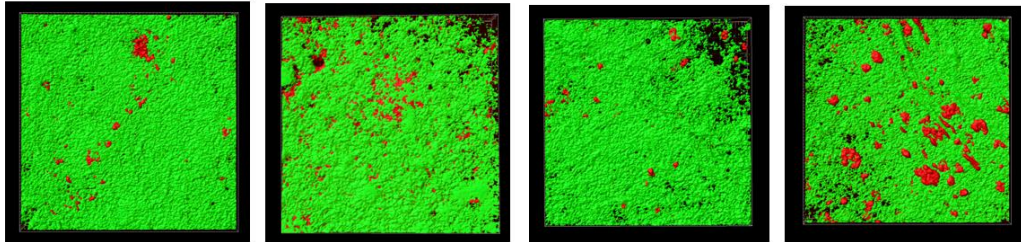


Figure 13 : Histogramme présentant le pourcentage de cellules bactériennes mortes après traitement d'un biofilm âgé de 7 jours avec des solutions enzymatiques plus ou moins associées à différentes solutions d'irrigation (les barres représentant l'écart-type) (Auteur 2018)

Les pourcentages moyens de cellules mortes sont les suivants :  $5 \pm 8\%$  pour le contrôle,  $9 \pm 9\%$  pour les échantillons traités avec la chlorhexidine pendant 3 minutes, et  $14 \pm 11\%$  pour les échantillons traités par immersion dans l'iodure de potassium pendant 3 minutes. L'élimination complète du biofilm par immersion dans l'hypochlorite 2% a été objectivée. Comme cela peut être observé sur la Figure 13, l'efficacité varie entre chaque enzyme, la cathepsine K étant la moins efficace, suivie par la cellulase, la pronase et enfin la DNase I qui a été la plus efficace. Mise à part la cathepsine K, l'écart-type est important mais suit la même tendance pour l'efficacité.

### 3.3.3.2.1. Cathepsine K

A partir des données de MCBL le logiciel IMARIS permet la reconstruction 3D du biofilm et le calcul de son volume ainsi que la proportion des zones vivantes et mortes du biofilm avant et après traitement. Sur les images construites, le vert représente les cellules vivantes et le rouge les cellules mortes. La cathepsine K ne montre pas d'effet visible sur le biofilm (Figure 14) ni seule, ni suivie d'une exposition à une solution d'irrigation (Chlorhexidine ou IKI).



*Figure 14 : Reconstruction du volume de biofilm. De gauche à droite cathepsine K seule, cathepsine K + 3 minutes d'immersion dans la chlorhexidine à 2%, cathepsine K + 3 minutes d'immersion dans l'IKI 0.2%/0.4%, contrôle. (Auteur 2018)*

La MEBL des échantillons de biofilm ne montre pas de différence structurelle majeure entre le contrôle et l'échantillon traité (Figure 15) à la cathepsine K. Cependant, l'ajout des solutions d'irrigation semble affecter la densité et la structure du biofilm. Un dépôt blanchâtre provenant probablement des cellules bactériennes mortes ou altérées peut être observé en plus grande quantité sur les échantillons traités.

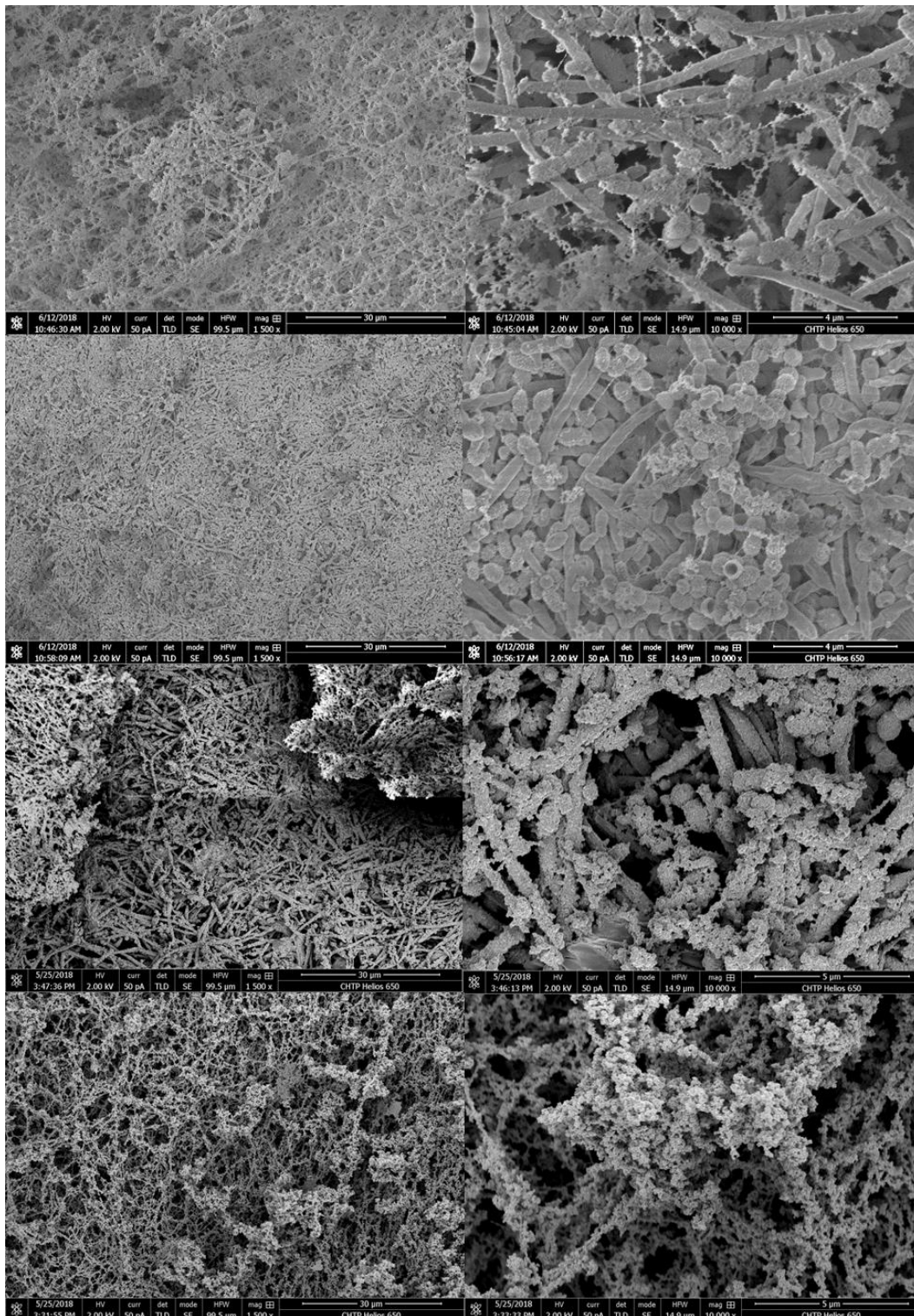


Figure 15 : Microscopie électronique à balayage laser du biofilm traité avec 1mM de cathepsine K au cours de la nuit (2ème ligne) cathepsine K + immersion de 3 minutes dans Chlorhexidine à 0.2% (3ème ligne) cathepsine K et immersion de 3 minutes dans de l'IKI (4ème ligne) montrant une modification et une diminution du nombre de bactéries avec l'ajout des désinfectants. (Gauche grossissement x1500, droite x10000) (Auteur 2018)

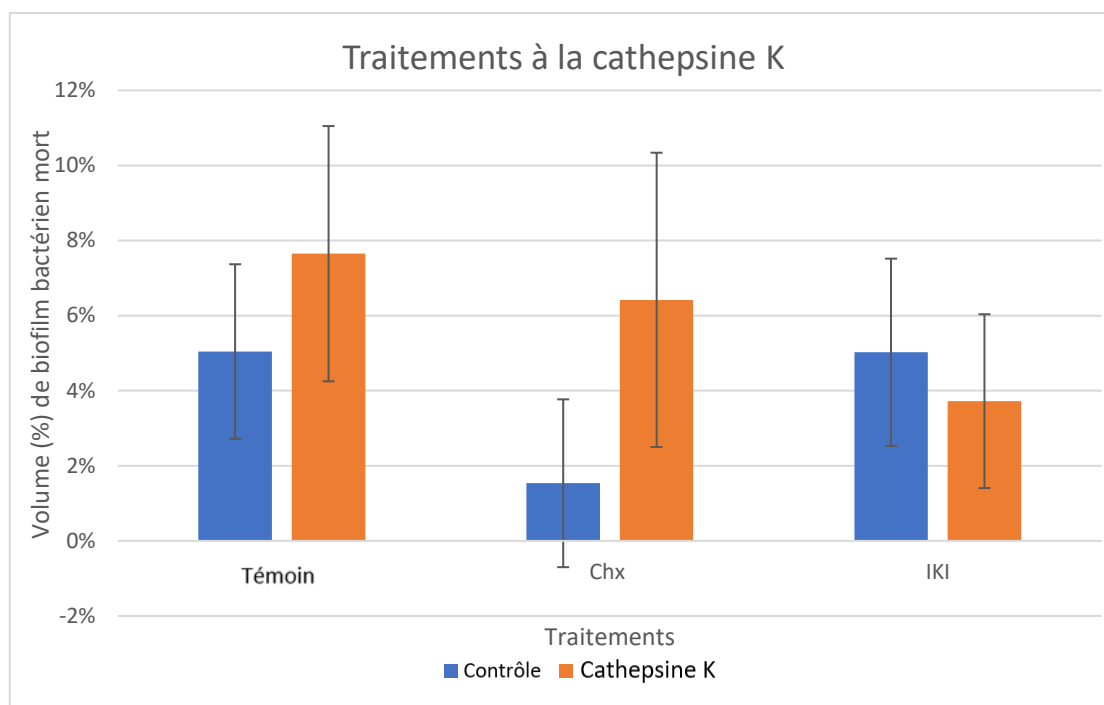


Figure 16 : Effet d'un pré-traitement à la cathepsine K sur le ratio mort/vivant en association avec la chlorhexidine ou l'IKI biofilm âgé de 7 jours. Les barres représentent la déviation standard. (Auteur 2018)

Le pré-traitement à la cathepsine K ne semble pas avoir d'effets sur les traitements à la chlorhexidine ou l'IKI, aucune différence statistiquement significative n'ayant pu être détectée sur l'élimination du biofilm (Figure 16). Le volume (pourcentage) de biofilm mort sur le contrôle était de 5% (Ecart-type = 2.3%) ; avec la cathepsine K seule il était de 8% (Ecart-type = 3.4%), associé la chlorhexidine il était de 6% (Ecart-type = 3.9%) et avec l'IKI de 4% (Ecart-type = 3%). L'analyse statistique n'invalide pas l'hypothèse nulle avec une valeur P du contrôle par rapport à la cathepsine K de 0.3 et une valeur p de l'interaction avec les solutions d'irrigation de 0.48.

#### 3.3.3.2.2. Pronase

La reconstruction 3D du biofilm (Figure 17) montre que la pronase (10mg/ml, incubation d'une nuit) n'a qu'un effet marginal comme prétraitement. L'analyse statistique donne les résultats suivants : aucune différence statistiquement significative entre le contrôle et les disques traités à la pronase seule ( $P = 0.53$ ), pas de différence pour les disques traités avec l'IKI avec ou sans pronase ( $P = 0.9$ ) et pas de différence significative pour les disques traités avec la chlorhexidine avec ou sans pronase ( $P = 0.8$ ). Cependant, bien que non statistiquement significative, on peut observer une tendance dans laquelle le traitement à l'IKI avec la pronase était très légèrement plus efficace (Figure 18) pour éliminer le biofilm (21% avec contre 17% sans).



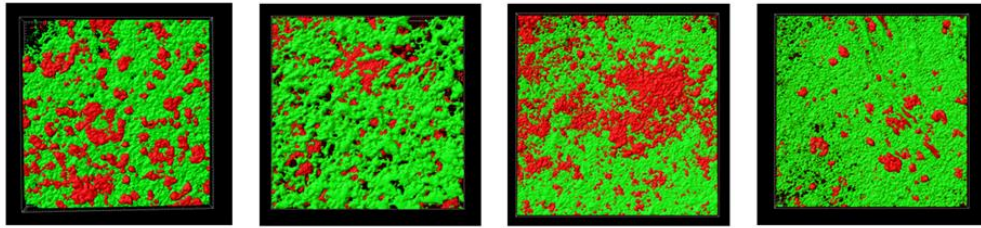


Figure 17 : Reconstruction du biofilm après traitement à la pronase. De gauche à droite pronase ; pronase + immersion de 3 minutes dans la chlorhexidine 2% ; pronase + immersion de 3 minutes dans l'IKI 0.2/0.4% ; contrôle. (Auteur 2018)

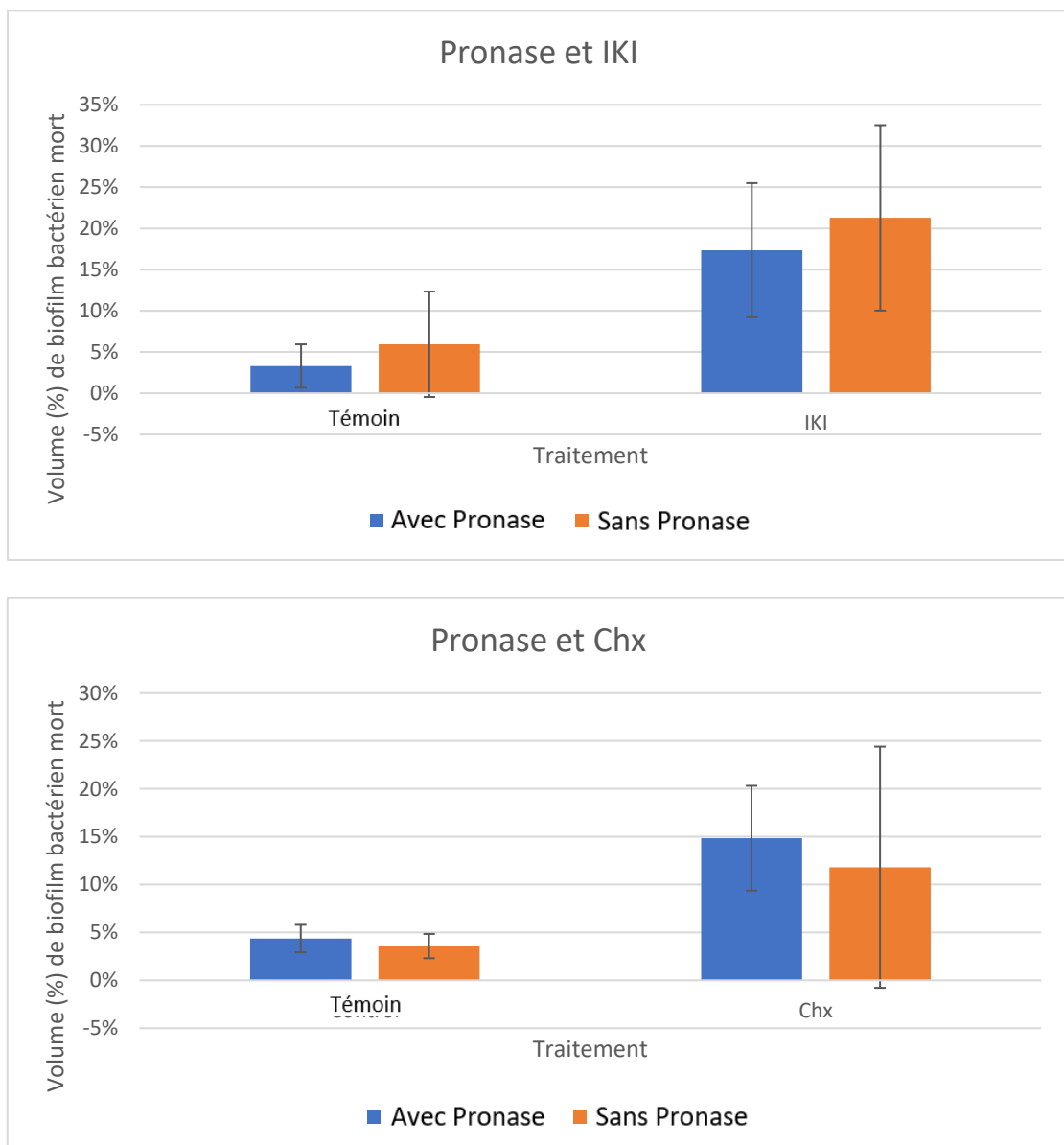


Figure 18 : Effet du pré-traitement à la pronase sur le ratio vivant/mort en association avec l'IKI ou la chlorhexidine. Les barres représentent l'écart-type. (Auteur 2018)

Comme évoqué plus haut, les images de MEBL (Figure 19) du biofilm traité avec de la pronase semblent montrer des différences structurales entre le contrôle, la pronase seule et la pronase avec l'IKI. Le traitement à la pronase semble légèrement réduire la densité du biofilm par rapport au contrôle. La combinaison de l'IKI et de la pronase semble modifier l'état de surface du biofilm, celle-ci présentant des fractures d'autant plus visibles aux grossissements les plus faibles.

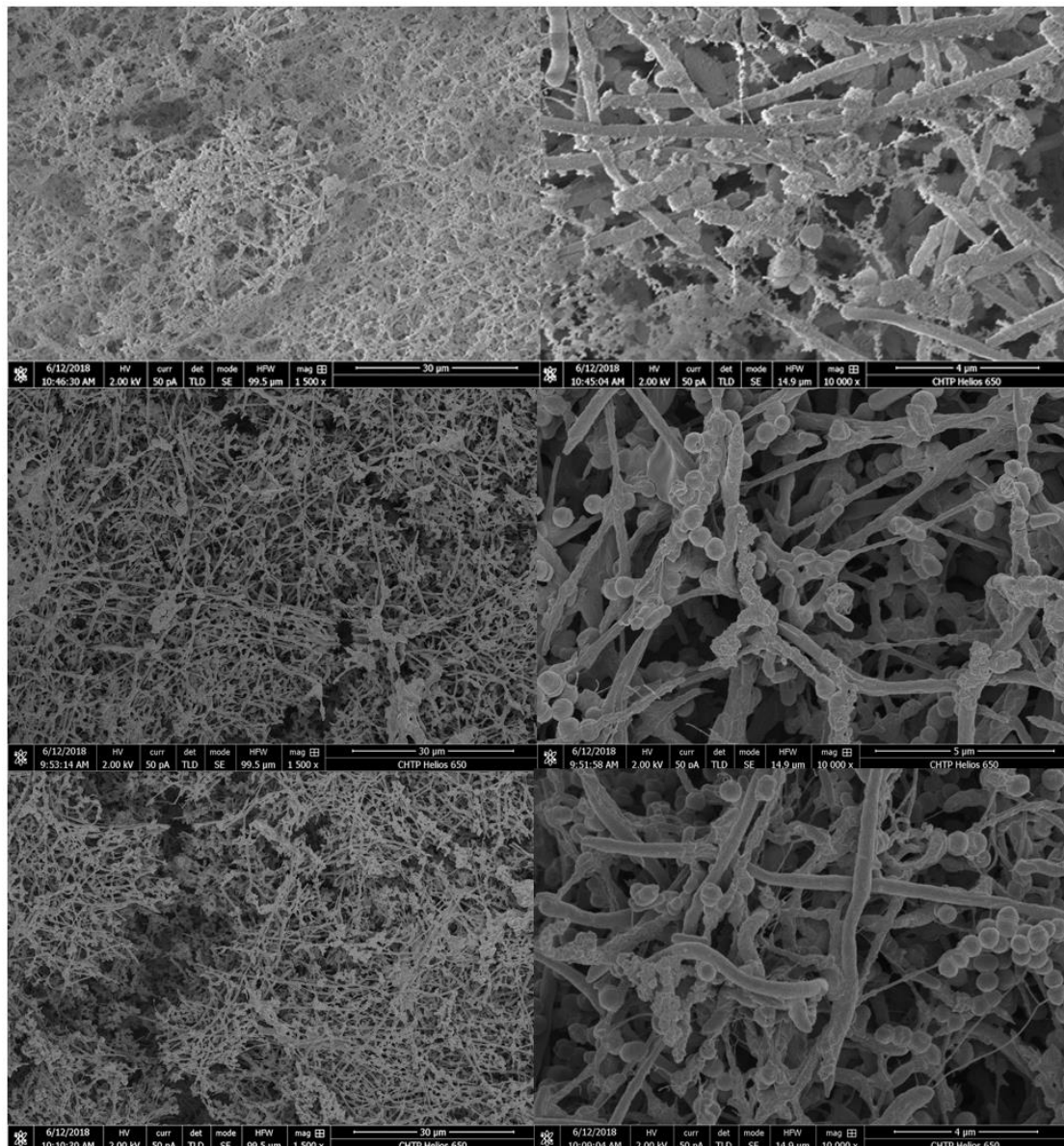


Figure 19 : Microscopie électronique à balayage laser du biofilm traité avec la pronase. au cours de la nuit, contrôle (1ère ligne) avec la pronase (2ème ligne) pronase et immersion de 3 minutes dans de l'IKI (3me ligne) (Gauche grossissement x1500, droite x10000) (Auteur 2018)

### 3.3.3.2.3. Cellulase

La reconstruction 3D du volume du biofilm (Figure 20) montre une efficacité marginale de l'enzyme (10mg/ml de cellulase, incubation pendant une nuit) avec une relative augmentation du volume de biofilm mort. Cependant, l'analyse statistique ne montre pas de différence statistiquement significative entre les disques traités avec ou sans enzyme ( $P = 0.31$ ), ou en présence de chlorhexidine ( $P = 0.39$ ) ou d'IKI ( $P = 0.47$ ). Malgré l'absence de différences statistiquement significatives, on peut cependant observer une tendance à l'augmentation du volume de bactéries mortes dans le biofilm quand le traitement à la cellulase est effectué (Figure 21).

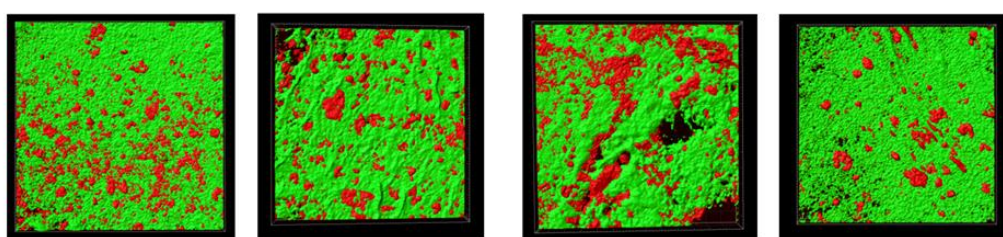
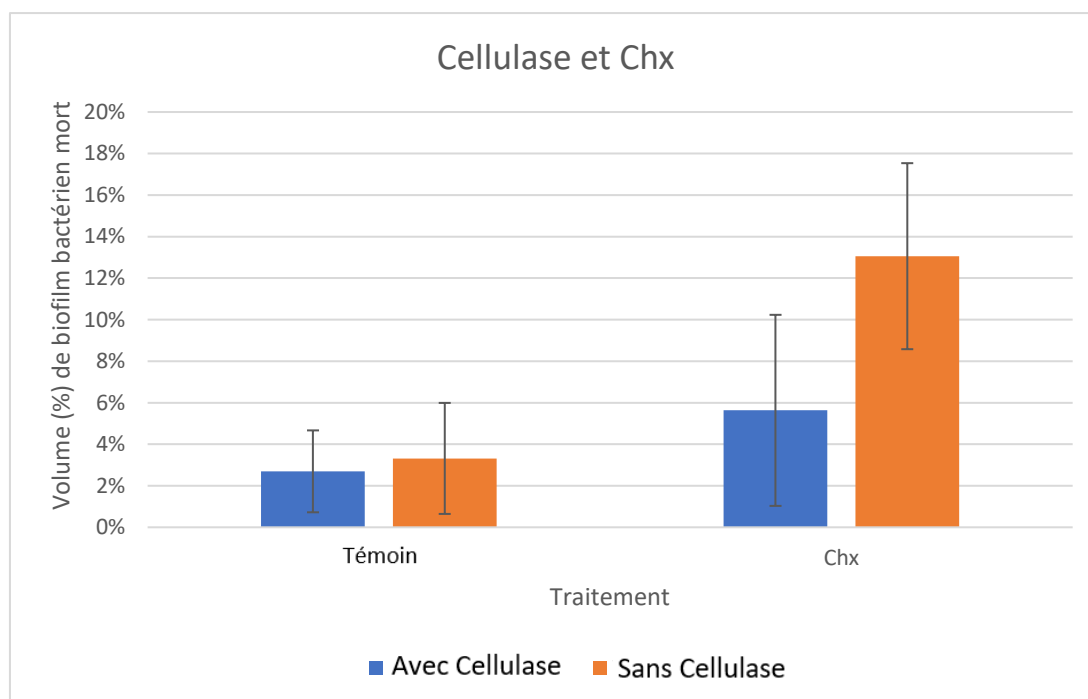


Figure 20 : Reconstruction du biofilm après traitement à la cellulase. De gauche à droite : cellulase ; cellulase + immersion de 3 minutes dans la chlorhexidine 2% ; cellulase + immersion de 3 minutes dans l'IKI 0.2/0.4% ; contrôle. (Auteur 2018)



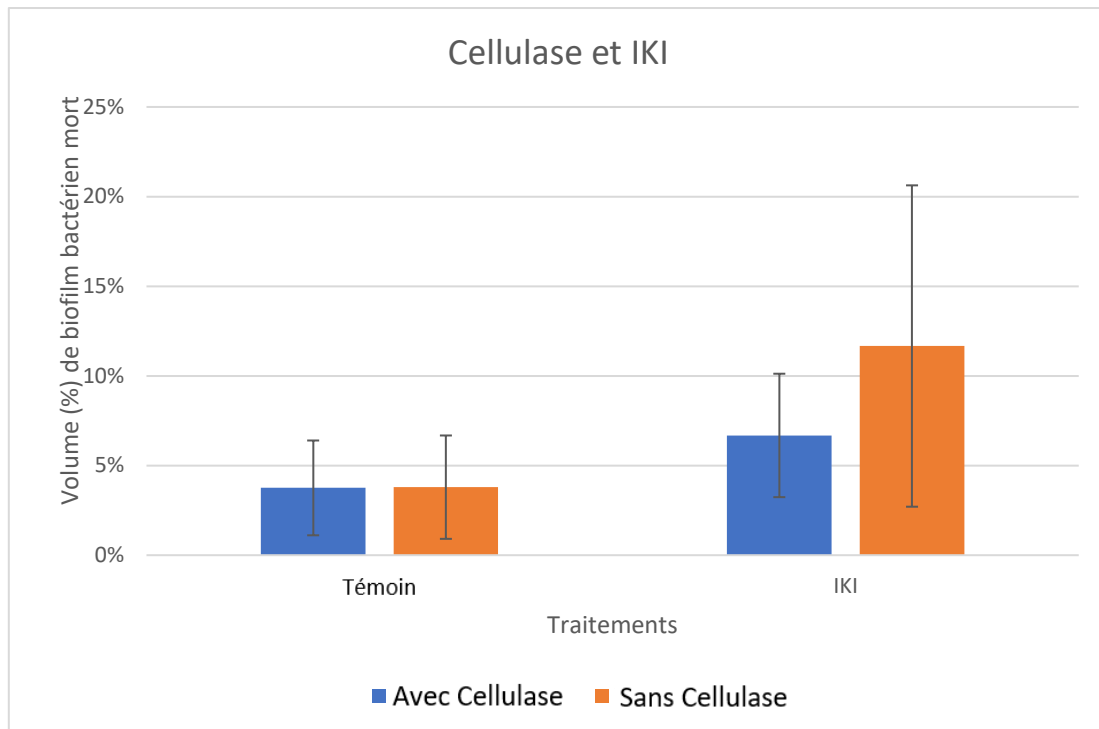


Figure 21 : Effet du pré-traitement à la cellulase sur le ratio vivant/mort en association avec l'IKI ou la chlorhexidine. Les barres représentent l'écart-type. (Auteur 2018)

La MEBL du biofilm (Figure 22) traité avec de la cellulase ou de la cellulase associée à de la chlorhexidine à 2% montre de légères différences structurales. La densité de cellules bactériennes est inférieure une fois le biofilm traité par l'enzyme, l'effet semblant s'accroître avec l'ajout de chlorhexidine.



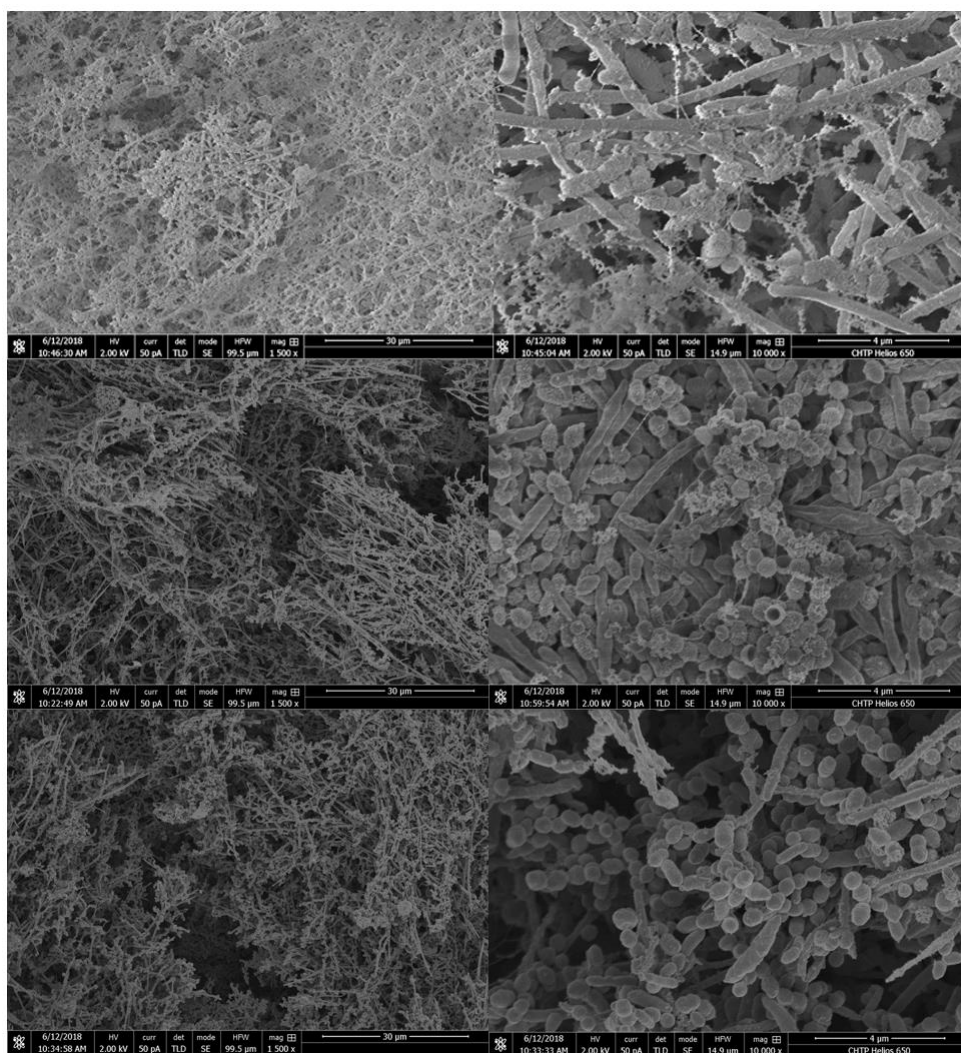


Figure 22: Microscopie électronique à balayage laser du biofilm traité avec la cellulase. Au cours de la nuit, contrôle (1ère ligne) avec la cellulase (2ème ligne) cellulase et immersion de 3 minutes dans chlorhexidine à 2% (3me ligne) (Gauche grossissement x1500, droite x10000) (Auteur 2018)

#### 3.3.3.2.4. DNase I

La reconstruction 3D du biofilm (Figure 23) montre qu'il existe un léger effet de la DNase I quand elle est appliquée en pré-traitement avant la chlorhexidine ou l'IKI. L'analyse statistique confirme cette observation et indique une différence significative pour les disques avec ou sans la DNase I ( $P = 0.001$ ) et en combinaison avec la chlorhexidine ou l'IKI ( $P = 0.009$ ).

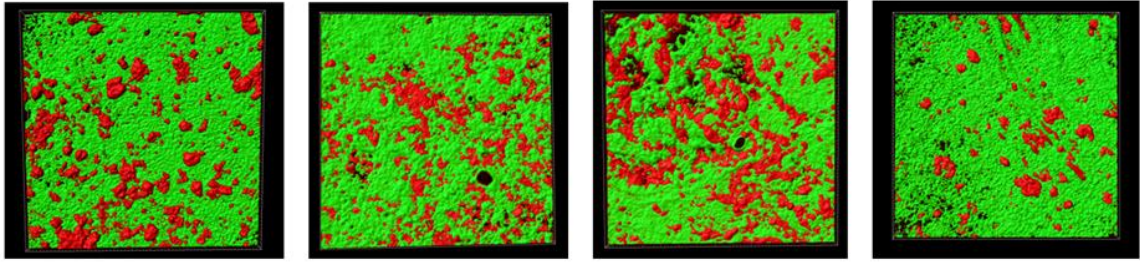


Figure 23 : Reconstruction avec le Logiciel IMARIS du biofilm après traitement à la Dnase I. De gauche à droite DNase I ; DNase I + immersion de 3 minutes dans la chlorhexidine 2% ; DNase I + immersion de 3 minutes dans l'IKI 0.2/0.4% ; contrôle. (Auteur 2018)

Le ratio de mort est augmenté de manière plus importante avec l'usage de la chlorhexidine que de l'IKI (Figure 24). Le volume (pourcentage) de biofilm avec de la DNase I et de la chlorhexidine associée était de 34% (Ecart-type = 5 %) et avec la DNase I et l'IKI de 33% (Ecart-type = 1%). L'analyse statistique rejette l'hypothèse nulle avec une valeur p de l'interaction entre la DNase I et les irrigants de 0.009.

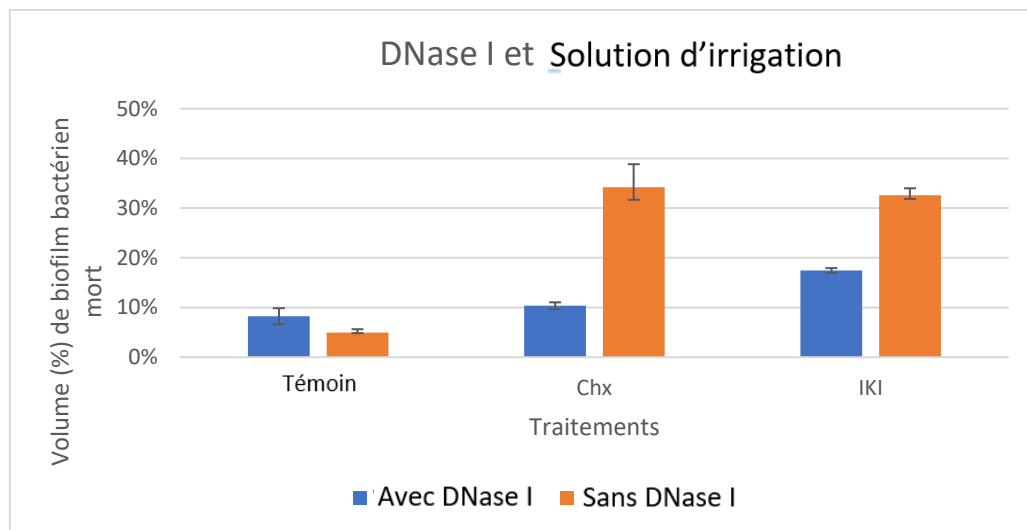


Figure 24 : Effets du pré-traitement à la DNase I sur le ratio vivant/mort en association avec l'IKI ou la chlorhexidine. Les barres représentent l'écart-type. (Auteur 2018)



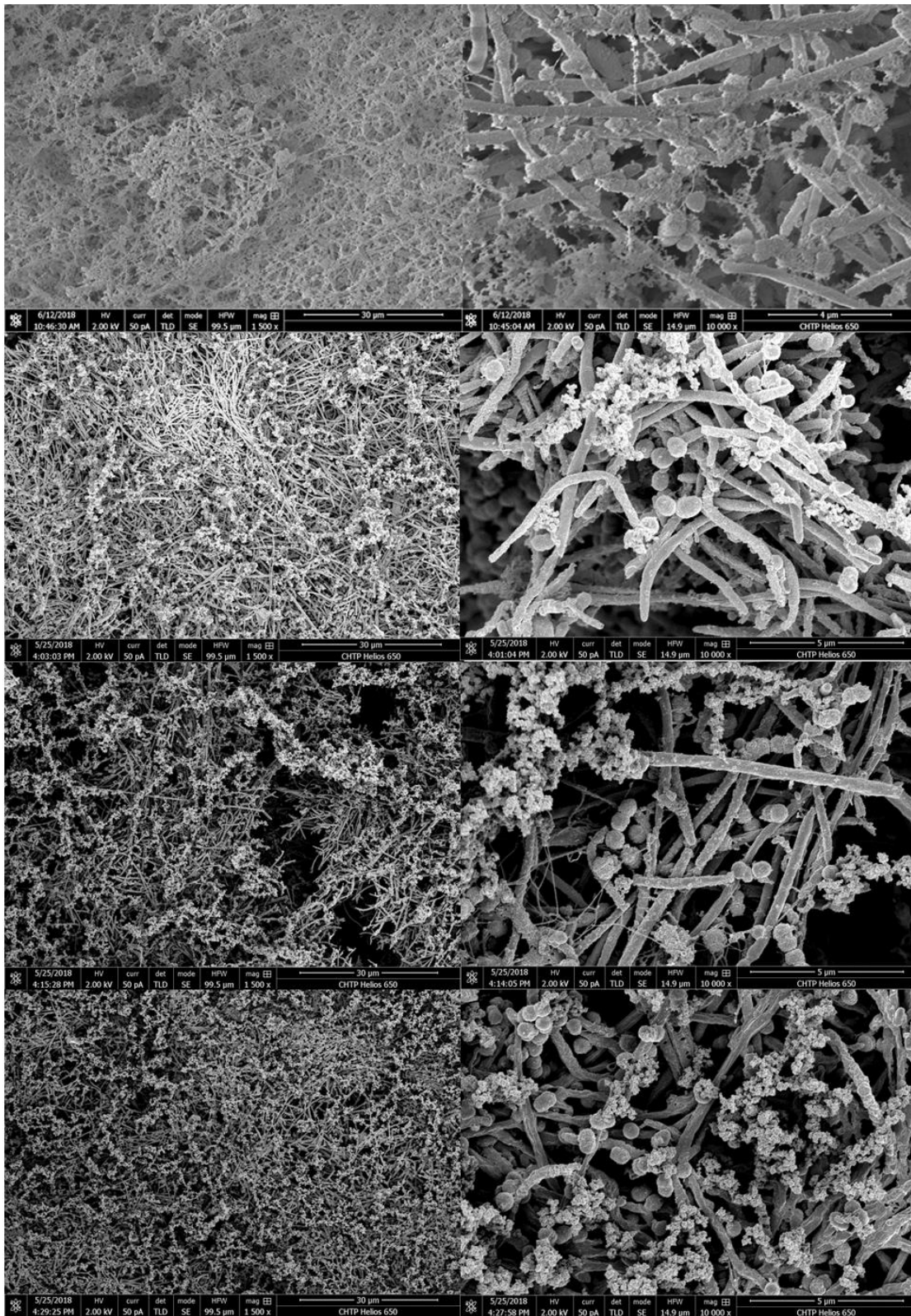


Figure 25 : Microscopie électronique à balayage laser du biofilm traité avec la DNase I au cours de la nuit, contrôle (1ère ligne) DNase I seul (2ème ligne) DNase I + immersion de 3 minutes dans Chlorhexidine à 0,2% (3ème ligne) DNase I et immersion de 3 minutes dans de l'IKI (4ème ligne) montrant une modification et une diminution du nombre de bactéries avec l'ajout des désinfectants. (Gauche grossissement x1500, droite x10000) (Auteur 2018)

La MEBL (Figure 25) ne montre pas de différence significative quand la DNase I seule est utilisée. Cependant, nous pouvons observer une diminution de la densité une fois le traitement avec la chlorhexidine ou l'IKI effectué.

#### 3.3.4. Discussion

L'objectif de cette étude était de démontrer la capacité de plusieurs enzymes comme prétraitement, associées à des solutions d'irrigation, à améliorer l'élimination d'un biofilm multi-espèces *in-vitro*. Les résultats de cette étude préliminaire ne permettent pas de tirer de conclusions définitives. Sur les 4 enzymes utilisées en pré-traitement, seule la DNase 1 a montré une efficacité statistiquement significative à réduire la densité de biofilm, quand elle est associée avec la chlorexidine 2% ou l'IKI. La cathepsine K et la pronase n'ont pas montré d'efficacité, et la cellulase, bien que ses résultats soient encourageants sur la diminution de la densité du biofilm, n'a pas d'action statistiquement significative. Ces résultats d'étude préliminaire nécessitent donc d'être confirmés par d'autres travaux de recherche.

##### 3.3.4.1. Limites de l'étude

Afin de discuter des résultats, il est important d'étudier les limites de cette étude. Le biofilm utilisé dans cette étude était composé de multiples espèces, mais il est probable qu'il ne représente pas un biofilm endodontique complet. Les échantillons sont en effet prélevés en sous-gingival contrairement à d'autres études où les bactéries sont issues de la pulpe canalaire nécrotique (Clegg et al. 2006). Le biofilm endodontique est difficile à reproduire dans des conditions *in vitro* à cause des spécificités du milieu intracanalair, et également à cause des 500 espèces connues à ce jour, dont beaucoup ne sont pas cultivables. Nos données sont également difficilement comparables à d'autres études (Fleming, Chahin, et Rumbaugh 2017; Rodríguez-López, Carballo-Justo, et al. 2017; Abbas Abbaszadegan, Khayat, et Motamedifar 2010); en effet, il est important de signaler que les auteurs précédents ont travaillé sur des modèles de biofilm plus simples, utilisant un nombre plus restreint d'espèces pour constituer le biofilm, i.e. une, deux, ou cinq en fonction de l'étude (Fleming, Chahin, et Rumbaugh 2017; Rodríguez-López, Carballo-Justo, et al. 2017; Niazi et al. 2015; Nguyen et Burrows 2014). Des travaux supplémentaires sont donc nécessaires dans notre équipe pour étudier la composition exacte du biofilm qui se développe dans notre modèle.

L'âge du biofilm étudié est également une différence à prendre en compte par rapport à d'autres études retrouvées dans la littérature. En effet, l'épaisseur et la structure du biofilm

évoluent avec la maturation, donc un biofilm plus jeune pourrait être plus sensible à un pré-traitement enzymatique. Ainsi, l'épaisseur du biofilm et la composition de la MEC peuvent réduire l'efficacité des enzymes à perturber sa structure. Dans notre étude, le biofilm avait au minimum une semaine de développement et jusqu'à 4 semaines. Dans les autres travaux répertoriés, la période de croissance étant plus courte (72h et 24 – 100h), le biofilm est donc moins mature (Rodríguez-López, Carballo-Justo, et al. 2017; Nguyen et Burrows 2014).

Un autre facteur à considérer est la différence de support pour la croissance du biofilm. Dans nos travaux, nous utilisons des disques d'hydroxyapatite stériles, d'autres travaux utilisent des supports en polystyrène (Nguyen et Burrows 2014) ou le canal dentaire de dents extraites (Niazi et al. 2015). Le choix d'un substrat a probablement un effet sur la structure du biofilm et donc sur l'efficacité des enzymes (Lopez-Nguyen et Badet 2016). Notre substrat est proche de la dentine mais tout de même différent, et le fait que le collagène recouvre l'hydroxyapatite plutôt que d'y être infiltré est une différence majeure qui influence probablement les espèces qui se développent.

De plus, la solution d'irrigation utilisée et les traitements du biofilm entre les différentes études diffèrent avec ceux de notre étude, rendant les comparaisons moins significatives. Ici, nous utilisons de l'hypochlorite de sodium et de la chlorhexidine à 2%, solutions d'usage courant en endodontie, ainsi que de l'IKI 0.2/0.4% d'usage plus marginal. Rodriguez-Lopez et al. utilisent du chlorure de benzalkonium (un ammonium quaternaire de large spectre utilisé pour la désinfection des surfaces dans l'industrie et les structures de soins), qui n'est pas une solution d'irrigation endodontique. Au cours de ce travail, nous avons eu des difficultés (moyen et durée de conservation non conforme) avec la chlorhexidine 2% qui ont eu pour conséquence une efficacité inférieure à des travaux antérieurs (Shen, Stojicic, et Haapasalo 2011). La solution source ayant dû être changée deux fois, il est possible que les résultats obtenus dans ce travail soient inférieurs à ce qu'ils auraient dû être.

La dernière différence que l'on peut signaler entre nos résultats et ceux d'autres études est la concentration ainsi que la méthode d'application du traitement enzymatique sur le biofilm. Dans ce travail, les enzymes ont été appliquées à haute concentration mais à faible volume (45 microlitres), ce qui se rapproche plus des conditions réelles d'utilisation des solutions d'irrigation, alors que, dans les autres travaux le biofilm, était immergé dans la solution enzymatique. Ainsi, la disponibilité des sites actifs était diminuée, comme montré par Rodriguez-Lopez *et al.* (Rodríguez-López, Carballo-Justo, et al. 2017; Rodríguez-López, Puga,

et al. 2017) où une augmentation de la concentration en enzymes est associée à une augmentation de l'élimination du biofilm jusqu'à un certain stade.

De plus, en raison de résultats imprévus lors de l'usage de la cathepsine K, et des manipulations répétées avec celle-ci, moins de temps a été disponible pour l'étude de la DNase I, de la pronase et de la cellulase. Ajoutés à cela des problèmes avec l'une des solutions d'irrigation comme mentionnée préalablement (chlorhexidine 2%) et/ou le biofilm (tel que le détachement du biofilm de son support), nous nous sommes retrouvés avec un nombre diminué de disques à soumettre à l'analyse statistique. Ainsi, à part en cas de différence majeure, il n'a pas été possible d'obtenir de résultats statistiquement significatifs. Nous n'avons donc pu que constater des tendances, nécessitant des travaux additionnels pour être confirmées.

Un problème inhérent à l'usage de marqueurs et de la microscopie par fluorescence est que seul le biofilm restant attaché au disque est analysé. Si le traitement dissout ou détache des parties du biofilm, celui-ci ne sera plus visible et nous ne pouvons donc pas être suffisamment précis sur l'efficacité des traitements. De plus, durant l'acquisition et l'analyse des données, il existe des réglages opérateur dépendants qui peuvent influencer les résultats. Même si les opérateurs sont formés à une lecture stable, des variations peuvent apparaître et influencer les résultats. Il est donc nécessaire de vérifier la corrélation intra examinateur. De la même façon, il est nécessaire de vérifier la stabilité de la lecture entre les opérateurs lorsqu'il y en a plusieurs. Cependant, plusieurs études utilisant la même méthodologie ont permis l'obtention de résultats consistants entre différents travaux (Shen, Stojicic, et Haapasalo 2011; Ma et al. 2011).

De petites corrections du protocole seront à prévoir pour améliorer la fiabilité des résultats.

Au moment du traitement enzymatique, il y a eu rupture de l'anaérobie pour le biofilm et même si celle-ci a été de courte durée, elle a probablement eu un impact sur la viabilité des bactéries. L'usage d'une chambre d'anaérobie semble donc la solution la plus satisfaisante pour permettre le traitement ainsi que la préparation des échantillons avant la microscopie.

De plus, l'usage des enzymes étant réalisé pour la première fois, il n'a pas été effectué de contrôle sur celles-ci avant leur utilisation, à part pour la cathepsine K dont le contrôle avait été réalisé par le laboratoire partenaire fournisseur. Les enzymes étant sensibles aux conditions environnantes (température, conservation, manipulation, ...), il est possible que les variations importantes dans les résultats soient causées par des variations d'activités.



Enfin les informations recueillies par le microscope confocal à balayage laser sont nombreuses et nous n'avons exploité que le volume de biofilm vivant et mort. Il pourrait être intéressant de comparer des paramètres tels que l'épaisseur du biofilm, la couverture de surface...

#### 3.3.4.2. Résultats

##### 3.3.4.2.1. Enzymes

De ce que la littérature nous rapporte à ce jour, la cathepsine K (principalement étudiée comme traitement de l'ostéoporose et d'autres pathologies osseuses) n'a jamais été utilisée comme traitement anti-biofilm (D. Brömme et Okamoto 1995; Law et al. 2017; Yamalik et al. 2012). À la vue des résultats et dans le cadre limité de cette étude, elle n'a pas montré de quelconque efficacité contre notre modèle de biofilm. Le prétraitement à la cathepsine K précédant l'exposition à l'IKI ou à la chlorhexidine 2% n'a pas amélioré l'élimination du biofilm. La cathepsine K appartient à la famille des protéases, qui a montré une habilité à disperser un modèle de biofilm âgé de 24h (Nguyen et Burrows 2014). Ainsi, des effets sur la membrane des bactéries ou sur la matrice extra-cellulaire étaient attendus, mais la cathepsine K étant très spécifique à la résorption osseuse à travers la dissolution du collagène, ceci était présomptueux. Dans de prochains travaux, il pourrait être intéressant d'évaluer la cathepsine K sur un modèle de biofilm ayant comme support le canal dentaire (Lopez-Nguyen et Badet 2016) pour évaluer si la dissolution du collagène superficiel à l'intérieur du canal dentaire peut aider à l'élimination du biofilm, sachant que la cathepsine K dissout le collagène des disques d'HA.

L'ADN extracellulaire est un composant important de la MEC (Flemming et Wingender 2010). Ainsi, la DNase I a été proposée comme traitement des biofilms pour couper l'ADN et les désorganiser. Par exemple, Kaplan *et al.* (Kaplan et al. 2012) ont observé qu'une concentration de 100 microgrammes par millilitre pendant une heure à 37° C avait un effet significatif de diminution de la biomasse sur un biofilm âgé de 24H. Certaines études ont même montré la dispersion complète du biofilm. Cela peut-être dû à son âge ou à sa composition (Ma et al. 2011). Nguyen (Pleszczyńska Małgorzata et al. 2016) ainsi que Rodriguez-Lopez *et al* (Shen, Stojcic, et Haapasalo 2011; Rodríguez-López, Carballo-Justo, et al. 2017) ont montré une diminution de l'efficacité de l'enzyme à partir d'une certaine concentration. Dans cette étude, nous n'avons testé que les concentrations les plus hautes ; l'effet optimal n'a peut-être donc pas été atteint. En effet, la DNase I a montré un effet significatif sur la diminution du

biofilm mais son efficacité aurait peut-être pu être supérieure. Elle reste néanmoins l'enzyme qui a montré ici le plus d'efficacité et mérite des investigations supplémentaires. L'association avec la chlorhexidine 2% a eu des résultats encourageants dans une des manipulations mais n'a pas pu être répétée dans les manipulations suivantes. L'association avec l'IKI a également eu des résultats prometteurs. Pour la suite, il sera intéressant d'évaluer différentes concentrations ainsi que le traitement par immersion.

En tant que protéase non spécifique, l'efficacité attendue de la pronase devrait être supérieure, mais les résultats sont cohérents vis-à-vis de ceux de la DNase I et de la cathepsine K. Nos premiers résultats étaient prometteurs mais n'ont pas pu être répétés. La complexité du biofilm, son âge, et l'administration du traitement ont pu influencer la sensibilité du biofilm à l'enzyme et cela devra être pris en considération dans les travaux futurs. Nguyen *et al.* ont montré la dispersion d'un biofilm de *L. monocytogenes* âgé de 72H après un traitement à la protéase K (Nguyen et Burrows 2014). Un biofilm âgé de 1 semaine possède probablement une structure trop solide pour que les enzymes soient efficaces, surtout avec l'exposition par technique de la goutte. Un dernier aspect à prendre en considération est que les traitements enzymatiques, en fonction de la concentration, peuvent stimuler la croissance du biofilm (Meireles et al. 2016).

La cellulase, dernière enzyme utilisée dans ce travail n'a pas eu d'effet supérieur aux trois autres. Ceci peut s'expliquer par le fait que notre biofilm manque de liaisons glucose-glucose susceptibles d'être clivées par l'activité spécifique de la cellulase ou que les polysaccharides interagissent entre eux. Enfin, d'autres molécules peuvent avoir protégé la cible de l'enzyme.

#### 3.3.4.2.2. Microscopie électronique

Dans ce travail, nous avons utilisé la microscopie électronique à balayage laser pour mettre en évidence des modifications structurelles. Le protocole utilisé à base de glutaraldéhyde et d'osmium est performant pour visualiser les bactéries mais n'est peut-être pas le plus efficace pour visualiser la MEC, cible principale des traitements enzymatiques. La MEC étant constituée principalement d'eau, il est possible que la majorité soit perdue lors des traitements successifs de fixation et particulièrement lors de la déshydratation à l'éthanol. Même, si quelques différences ont pu être observées sur les images, il semble intéressant d'utiliser dans le futur des méthodes alternatives de préparation des échantillons pour permettre une meilleure observation de la MEC (comme par exemple la substitution froide à haute pression (Hunter et Beveridge 2005)).



#### 3.3.4.2.3. Solutions d'irrigation

La chlorhexidine 2% est bactéricide avec un large spectre. Dans ce travail, le traitement à la chlorhexidine 2% n'a pas montré les résultats escomptés, probablement à cause de problèmes de manipulation. Le prétraitement à la cathepsine K n'a pas permis d'améliorer les résultats par rapport au traitement uniquement à base de chlorhexidine 2%. L'association avec la DNase I montre un potentiel certain comme thérapeutique anti-biofilm pour améliorer l'effet bactéricide mais, comme pour la plupart des résultats, la chlorhexidine 2% utilisée a probablement été mise en place d'une manière qui permettait à des facteurs de confusion d'altérer les expérimentations. Des recherches complémentaires doivent être menées à la vue des résultats intéressants. L'association avec la pronase, malgré des résultats prometteurs dans d'autres travaux, n'a pas été efficace ici. Enfin, la cellulase n'a montré qu'une efficacité marginale.

L'IKI est un antiseptique large spectre mais d'usage anecdotique en endodontie, car comme la chlorhexidine 2%, il n'est pas capable de dissoudre la matière organique. L'usage de la microscopie confocale avec des marqueurs fluorescents nécessite l'usage de concentrations basses car, avec des concentrations cliniques, la coloration est telle qu'il devient impossible de distinguer les marqueurs fluorescents. Ainsi, l'efficacité est diminuée par rapport à des concentrations cliniques. Elle est peu représentative.

#### 3.3.4.2.4. Conclusion de l'étude et ouverture

De ce travail, nous pouvons conclure que nous manquons toujours de connaissances précises sur la nature du biofilm (Steenackers et al. 2016). Notre modèle est probablement à l'origine d'un biofilm mature complexe et sa structure n'est probablement pas aussi sensible aux enzymes que dans d'autres études.

Les enzymes ont un potentiel intéressant dans la désorganisation du biofilm. Cependant pour les utiliser dans les meilleures conditions, une meilleure compréhension du développement du biofilm, de sa chimie, de ses interactions et de sa structure sont nécessaires. Actuellement, de nouveaux modèles *in vitro* qui simulent quelques aspects clés des biofilms nous permettent de progresser. Une fois leur intérêt mis en évidence *in vitro*, il faudra s'intéresser aux études *in vivo* et notamment aux conséquences d'une diffusion au-delà du canal dentaire.

L'utilisation d'enzymes était une première pour notre équipe et certains aspects ont été volontairement simplifiés. L'omission la plus notable est que nous n'avons pas pu utiliser d'inhibiteur enzymatique pour arrêter les réactions à un moment précis. Deux raisons justifient ce choix. Premièrement nous avons essayé d'évaluer un effet face au biofilm et non de

quantifier précisément celui-ci. L'usage des inhibiteurs doit être considéré dans les travaux futurs pour contrôler exactement le temps d'action des enzymes. Deuxièmement, après une exposition d'une nuit à 37° C, il est probable que la majorité des enzymes soit inactivée du fait de la dénaturation (Robinson 2015).

Jusqu'à présent, les enzymes ont simplement démontré une capacité de dispersion, mais pas d'effet bactéricide. Ainsi la désinfection à l'aide de solutions endodontiques traditionnelles est toujours nécessaire.

## Conclusion

Cette étude pilote explore de nouveaux domaines dans la lutte contre le biofilm, spécifiquement dans les traitements endodontiques pour lesquels l'élimination est toujours impossible à prévoir de façon certaine.

Quelques idées ont émergé de ce travail:

- Les thérapies enzymatiques sont une aire intéressante à explorer dans le combat contre les biofilms notamment dans le cadre du développement de protocoles d'irrigation personnalisés.
- Les enzymes étant assez spécifiques, un travail approfondi est nécessaire sur l'analyse préalable de la MEC pour pouvoir choisir la bonne cible et la bonne enzyme.
- L'association de différentes enzymes est aussi une voie à explorer.
- La recherche sur les solutions d'irrigation doit se poursuivre pour pouvoir améliorer la synergie avec de nouveaux composés.

## Bibliographie

- Abbaszadegan, A., M. Nabavizadeh, A. Gholami, Z. S. Aleyasin, S. Dorostkar, M. Saliminasab, Y. Ghasemi, B. Hemmateenejad, et H. Sharghi. 2015. « Positively Charged Imidazolium-Based Ionic Liquid-Protected Silver Nanoparticles: A Promising Disinfectant in Root Canal Treatment ». *International Endodontic Journal* 48 (8): 790-800. <https://doi.org/10.1111/iej.12377>.
- Abbaszadegan, Abbas, Akbar Khayat, et Mohammad Motamedifar. 2010. « Comparison of Antimicrobial Efficacy of IKI and NaOCl Irrigants in Infected Root Canals: An In Vivo Study ». *Iranian Endodontic Journal* 5 (3): 101-6.
- Absalon, Cedric, Katrina Van Dellen, et Paula I. Watnick. 2011. « A Communal Bacterial Adhesin Anchors Biofilm and Bystander Cells to Surfaces ». *PLoS Pathogens* 7 (8): e1002210. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002210>.
- Afkhami, Farzaneh, Saba Akbari, et Nasim Chiniforush. 2017. « Entrococcus faecalis Elimination in Root Canals Using Silver Nanoparticles, Photodynamic Therapy, Diode Laser, or Laser-activated Nanoparticles: An In Vitro Study ». *Journal of Endodontics* 43 (2): 279-82. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.08.029>.
- Almeida, Josiane de, Bruna Casagrande Cechella, Anabela Vassen Bernardi, Andrea de Lima Pimenta, et Wilson Tadeu Felipe. 2018. « Effectiveness of Nanoparticles Solutions and Conventional Endodontic Irrigants against Enterococcus Faecalis Biofilm ». *Indian Journal of Dental Research: Official Publication of Indian Society for Dental Research* 29 (3): 347-51. [https://doi.org/10.4103/ijdr.IJDR\\_634\\_15](https://doi.org/10.4103/ijdr.IJDR_634_15).
- Anand Sanjeev, Singh Diwakar, Avadhanula Mallika, et Marka Sowmya. 2013. « Development and Control of Bacterial Biofilms on Dairy Processing Membranes ». *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13 (1): 18-33. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12048>.
- Anders, Nicholas John. 2012. « Time Dependent Effects of Iodine Potassium Iodide (IKI) on a Polymicrobial Biofilm. », août. <http://conservancy.umn.edu/handle/11299/140316>.
- Anwar, H., M. K. Dasgupta, et J. W. Costerton. 1990. « Testing the Susceptibility of Bacteria in Biofilms to Antibacterial Agents ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 34 (11): 2043-46. <https://doi.org/10.1128/aac.34.11.2043>.
- Ashok, Rupa, Arathi Ganesh, et Kandaswamy Deivanayagam. 2017. « Bactericidal Effect of Different Anti-Microbial Agents on Fusobacterium Nucleatum Biofilm ». *Cureus* 9 (6): e1335. <https://doi.org/10.7759/cureus.1335>.
- Azim, Adham A., Hacer Aksel, Tingting Zhuang, Terry Mashtare, Jegdish P. Babu, et George T. -J. Huang. 2016. « Efficacy of 4 Irrigation Protocols in Killing Bacteria Colonized in Dentinal Tubules Examined by a Novel Confocal Laser Scanning Microscope Analysis ». *Journal of Endodontics* 42 (6): 928-34. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.03.009>.
- Barbosa-Ribeiro, Marlos, Adriana De-Jesus-Soares, Alexandre A. Zaia, Caio C. R. Ferraz, José F. A. Almeida, et Brenda P. F. A. Gomes. 2016. « Quantification of Lipoteichoic Acid Contents and Cultivable Bacteria at the Different Phases of the Endodontic Retreatment ». *Journal of Endodontics* 42 (4): 552-56. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.01.002>.
- Baron, Aleksandr, Kimberly Lindsey, Stephanie J. Sidow, Douglas Dickinson, Augustine Chuang, et James C. McPherson. 2016. « Effect of a Benzalkonium Chloride Surfactant–Sodium Hypochlorite Combination on Elimination of Enterococcus faecalis ». *Journal of Endodontics* 42 (1): 145-49. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.08.035>.

- Baumgartner, J. C., et W. A. Falkler. 1991. « Bacteria in the Apical 5 Mm of Infected Root Canals ». *Journal of Endodontics* 17 (8): 380-83.
- Bolhari, Behnam, Maryam Pourhajbagher, Farzaneh Bazarjani, Nasim Chiniforush, Mehdi Rostami Rad, Salma Pirmoazen, et Abbas Bahador. 2018. « Ex Vivo Assessment of Synergic Effect of Chlorhexidine for Enhancing Antimicrobial Photodynamic Therapy Efficiency on Expression Patterns of Biofilm-Associated Genes of Enterococcus Faecalis ». *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 22 (juin): 227-32. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.04.019>.
- Böttcher, Daiana Elisabeth, Nicole T. Sehnem, Francisco Montagner, Clarissa Cavalcanti Fatturi Parolo, et Fabiana Soares Grecca. 2015. « Evaluation of the Effect of Enterococcus faecalis Biofilm on the 2% Chlorhexidine Substantivity: An In Vitro Study ». *Journal of Endodontics* 41 (8): 1364-70. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.04.016>.
- Boutsioukis, C., E. Kastrinakis, T. Lambrianidis, B. Verhaagen, M. Versluis, et L. W. M. van der Sluis. 2014. « Formation and Removal of Apical Vapor Lock during Syringe Irrigation: A Combined Experimental and Computational Fluid Dynamics Approach ». *International Endodontic Journal* 47 (2): 191-201. <https://doi.org/10.1111/iej.12133>.
- Boutsioukis, C., T. Lambrianidis, E. Kastrinakis, et P. Bekiaroglou. 2007. « Measurement of Pressure and Flow Rates during Irrigation of a Root Canal Ex Vivo with Three Endodontic Needles ». *International Endodontic Journal* 40 (7): 504-13. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2007.01244.x>.
- Brömme, D., et K. Okamoto. 1995. « Human Cathepsin O2, a Novel Cysteine Protease Highly Expressed in Osteoclastomas and Ovary Molecular Cloning, Sequencing and Tissue Distribution ». *Biological Chemistry Hoppe-Seyler* 376 (6): 379-84.
- Brömme, Dieter, et Fabien Lecaille. 2009. « Cathepsin K inhibitors for osteoporosis and potential off-target effects ». *Expert opinion on investigational drugs* 18 (5): 585-600. <https://doi.org/10.1517/13543780902832661>.
- Bryce, G., N. MacBeth, K. Gulabivala, et Y.-L. Ng. 2018. « The Efficacy of Supplementary Sonic Irrigation Using the EndoActivator® System Determined by Removal of a Collagen Film from an Ex Vivo Model ». *International Endodontic Journal* 51 (4): 489-97. <https://doi.org/10.1111/iej.12870>.
- Bukhari, Sarah, Dongyeop Kim, Yuan Liu, Bekir Karabucak, et Hyun Koo. 2018. « Novel Endodontic Disinfection Approach Using Catalytic Nanoparticles ». *Journal of Endodontics* 44 (5): 806-12. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.12.003>.
- Bukhary, Sundus, et Hanan Balto. 2017. « Antibacterial Efficacy of Octenisept, Alexidine, Chlorhexidine, and Sodium Hypochlorite against Enterococcus faecalis Biofilms ». *Journal of Endodontics* 43 (4): 643-47. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.09.013>.
- Byström, A., et G. Sundqvist. 1983. « Bacteriologic Evaluation of the Effect of 0.5 Percent Sodium Hypochlorite in Endodontic Therapy ». *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology* 55 (3): 307-12. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(83\)90333-x](https://doi.org/10.1016/0030-4220(83)90333-x).
- Bystrom, A., et G. Sundqvist. 1985. « The Antibacterial Action of Sodium Hypochlorite and EDTA in 60 Cases of Endodontic Therapy ». *International Endodontic Journal* 18 (1): 35-40. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.1985.tb00416.x>.
- Caiaffa, Karina Sampaio, Loiane Massunari, Marcelle Danelon, Gabriel Flores Abuna, Telma Blanca Lombardo Bedran, Norival Alves Santos-Filho, Denise Madalena Palomari Spolidorio, Natalia Leal Vizoto, Eduardo Maffud Cilli, et Cristiane Duque. 2017. « KR-12-A5 Is a Non-Cytotoxic Agent with Potent Antimicrobial Effects against Oral Pathogens ». *Biofouling* 33 (10): 807-18. <https://doi.org/10.1080/08927014.2017.1370087>.

- Caron, Gregory, Khan Nham, Francois Bronnec, et Pierre Machtou. 2010. « Effectiveness of Different Final Irrigant Activation Protocols on Smear Layer Removal in Curved Canals ». *Journal of Endodontics* 36 (8): 1361-66. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.03.037>.
- Carpio-Perochena, Aldo del, Anil Kishen, Annie Shrestha, et Clovis Monteiro Bramante. 2015. « Antibacterial Properties Associated with Chitosan Nanoparticle Treatment on Root Dentin and 2 Types of Endodontic Sealers ». *Journal of Endodontics* 41 (8): 1353-58. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.03.020>.
- Casalinuovo, I. A., R. Sorge, G. Bonelli, et P. Di Francesco. 2017. « Evaluation of the Antifungal Effect of EDTA, a Metal Chelator Agent, on Candida Albicans Biofilm ». *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 21 (6): 1413-20.
- Chau, N. P. T., N. H. Chung, et J. G. Jeon. 2015. « Relationships between the Antibacterial Activity of Sodium Hypochlorite and Treatment Time and Biofilm Age in Early Enterococcus Faecalis Biofilms ». *International Endodontic Journal* 48 (8): 782-89. <https://doi.org/10.1111/iej.12376>.
- Chávez-Andrade, Gisselle Moraima, Mário Tanomaru-Filho, Maria Inês Basso Bernardi, Renato de Toledo Leonardo, Gisele Faria, et Juliane Maria Guerreiro-Tanomaru. 2019. « Antimicrobial and Biofilm Anti-Adhesion Activities of Silver Nanoparticles and Farnesol against Endodontic Microorganisms for Possible Application in Root Canal Treatment ». *Archives of Oral Biology* 107 (juillet): 104481. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2019.104481>.
- Chen, José Enrique, Babak Nurbakhsh, Gillian Layton, Markus Bussmann, et Anil Kishen. 2014. « Irrigation Dynamics Associated with Positive Pressure, Apical Negative Pressure and Passive Ultrasonic Irrigations: A Computational Fluid Dynamics Analysis ». *Australian Endodontic Journal: The Journal of the Australian Society of Endodontology Inc* 40 (2): 54-60. <https://doi.org/10.1111/aej.12027>.
- Cheng, Xiaogang, Yu Tian, Chunmiao Zhao, Tiejun Qu, Chi Ma, Xiaohua Liu, et Qing Yu. 2016. « Bactericidal Effect of Strong Acid Electrolyzed Water against Flow Enterococcus faecalis Biofilms ». *Journal of Endodontics* 42 (7): 1120-25. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.04.009>.
- Clegg, M. S., F. J. Vertucci, C. Walker, M. Belanger, et L. R. Britto. 2006. « The Effect of Exposure to Irrigant Solutions on Apical Dentin Biofilms in Vitro ». *Journal of Endodontics* 32 (5): 434-37. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.07.002>.
- Cordeiro, Ana L., et Carsten Werner. 2011. « Enzymes for Antifouling Strategies ». *Journal of Adhesion Science and Technology* 25 (17): 2317-44. <https://doi.org/10.1163/016942411X574961>.
- Costerton, J. W., P. S. Stewart, et E. P. Greenberg. 1999. « Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections ». *Science (New York, N.Y.)* 284 (5418): 1318-22.
- Elshinawy, Mohamed I., Lamiaa A. Al-Madboly, Walaa M. Ghoneim, et Nehal M. El-Deeb. 2018. « Synergistic Effect of Newly Introduced Root Canal Medicaments; Ozonated Olive Oil and Chitosan Nanoparticles, Against Persistent Endodontic Pathogens ». *Frontiers in Microbiology* 9: 1371. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01371>.
- Estrela, Carlos, Cyntia R. A. Estrela, Eduardo Luis Barbin, Júlio César E. Spanó, Melissa A. Marchesan, et Jesus D. Pécora. 2002. « Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite ». *Brazilian Dental Journal* 13 (2): 113-17.
- Fabricius, Lars, Gunnar Dahlén, Göran Sundqvist, Risto-Pekka Happonen, et Ake J. R. Möller. 2006. « Influence of Residual Bacteria on Periapical Tissue Healing after Chemomechanical Treatment and Root Filling of Experimentally Infected Monkey Teeth ». *European Journal of Oral Sciences* 114 (4): 278-85. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2006.00380.x>.

- Finnegan, Simon, et Steven L. Percival. 2015. « EDTA: An Antimicrobial and Antibiofilm Agent for Use in Wound Care ». *Advances in Wound Care* 4 (7): 415-21. <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0577>.
- Fleming, Derek, Laura Chahin, et Kendra Rumbaugh. 2017. « Glycoside Hydrolases Degrade Polymicrobial Bacterial Biofilms in Wounds ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 61 (2). <https://doi.org/10.1128/AAC.01998-16>.
- Flemming, Hans-Curt, et Jost Wingender. 2010. « The Biofilm Matrix ». *Nature Reviews. Microbiology* 8 (9): 623-33. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>.
- Fong, Jiunn N. C., et Fitnat H. Yildiz. 2015. « Biofilm Matrix Proteins ». *Microbiology Spectrum* 3 (2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MB-0004-2014>.
- Fráter, Márk, Gábor Braunitzer, Edit Urbán, László Bereczki, Márk Antal, et Katalin Nagy. 2013. « In Vitro Efficacy of Different Irrigating Solutions against Polymicrobial Human Root Canal Bacterial Biofilms ». *Acta Microbiologica Et Immunologica Hungarica* 60 (2): 187-99. <https://doi.org/10.1556/AMicr.60.2013.2.9>.
- Gallardo-Villagrán, Manuel, David Yannick Leger, Bertrand Liagre, et Bruno Therrien. 2019. « Photosensitizers Used in the Photodynamic Therapy of Rheumatoid Arthritis ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (13). <https://doi.org/10.3390/ijms20133339>.
- Gazzaneo, Isbelia, Gaya C. S. Vieira, Alejandro R. Pérez, Flávio R. F. Alves, Lucio S. Gonçalves, Ibrahimu Mdala, José F. Siqueira, et Isabela N. Rôças. 2019. « Root Canal Disinfection by Single- and Multiple-instrument Systems: Effects of Sodium Hypochlorite Volume, Concentration, and Retention Time ». *Journal of Endodontics* 45 (6): 736-41. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.02.017>.
- Gonçalves, Lucio Souza, Renata Costa Val Rodrigues, Carlos Vieira Andrade Junior, Renata G. Soares, et Mario Vianna Vettore. 2016. « The Effect of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine as Irrigant Solutions for Root Canal Disinfection: A Systematic Review of Clinical Trials ». *Journal of Endodontics* 42 (4): 527-32. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.12.021>.
- Granevik Lindström, Maria, Eva Wolf, et Helena Fransson. 2017. « The Antibacterial Effect of Nd:YAG Laser Treatment of Teeth with Apical Periodontitis: A Randomized Controlled Trial ». *Journal of Endodontics* 43 (6): 857-63. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.01.013>.
- Grassi, Lucia, Giuseppantonio Maisetta, Semih Esin, et Giovanna Batoni. 2017. « Combination Strategies to Enhance the Efficacy of Antimicrobial Peptides against Bacterial Biofilms ». *Frontiers in Microbiology* 8: 2409. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02409>.
- Haapasalo, Markus, Ya Shen, Wei Qian, et Yuan Gao. 2010. « Irrigation in Endodontics ». *Dental Clinics of North America* 54 (2): 291-312. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2009.12.001>.
- Hall-Stoodley, Luanne, J. William Costerton, et Paul Stoodley. 2004. « Bacterial Biofilms: From the Natural Environment to Infectious Diseases ». *Nature Reviews. Microbiology* 2 (2): 95-108. <https://doi.org/10.1038/nrmicro821>.
- Hancock, H. H., A. Sigurdsson, M. Trope, et J. Moiseiwitsch. 2001. « Bacteria Isolated after Unsuccessful Endodontic Treatment in a North American Population ». *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* 91 (5): 579-86. <https://doi.org/10.1067/moe.2001.113587>.
- Hashimoto, M., J. I. Sasaki, S. Yamaguchi, K. Kawai, H. Kawakami, Y. Iwasaki, et S. Imazato. 2015. « Gold Nanoparticles Inhibit Matrix Metalloproteases without Cytotoxicity ». *Journal of Dental Research*, juin. <https://doi.org/10.1177/0022034515589282>.

- Hoedke, D., C. Enseleit, D. Gruner, H. Dommisch, S. Schlafer, I. Dige, et K. Bitter. 2018. « Effect of photodynamic therapy in combination with various irrigation protocols on an endodontic multispecies biofilm ex vivo ». *International Endodontic Journal* 51 (S1): e23-34. <https://doi.org/10.1111/iej.12763>.
- Huang, T.-Y., K. Gulabivala, et Y.-L. Ng. 2008. « A Bio-Molecular Film Ex-Vivo Model to Evaluate the Influence of Canal Dimensions and Irrigation Variables on the Efficacy of Irrigation ». *International Endodontic Journal* 41 (1): 60-71. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2007.01317.x>.
- Hunter, Ryan C., et Terry J. Beveridge. 2005. « High-Resolution Visualization of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 Biofilms by Freeze-Substitution Transmission Electron Microscopy ». *Journal of Bacteriology* 187 (22): 7619-30. <https://doi.org/10.1128/JB.187.22.7619-7630.2005>.
- Iaria, G. s. d. « Laser in Endodontics (Part I) ». Consulté le 4 septembre 2020. <https://www.dental-tribune.com/clinical/laser-in-endodontics-part-i/>.
- Jing, Xiaobo, Xiangya Huang, Markus Haapasalo, Ya Shen, et Qi Wang. 2019. « Modeling Oral Multispecies Biofilm Recovery After Antibacterial Treatment ». *Scientific Reports* 9 (janvier). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37170-w>.
- Kajwadkar, Ruma, Jae M. Shin, Guo-Hao Lin, J. Christopher Fenno, Alexander H. Rickard, et Yvonne L. Kapila. 2017. « High-purity Nisin Alone or in Combination with Sodium Hypochlorite Is Effective against Planktonic and Biofilm Populations of *Enterococcus faecalis* ». *Journal of Endodontics* 43 (6): 989-94. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.01.034>.
- Kakehashi, S., H. R. Stanley, et R. J. Fitzgerald. 1965. « THE EFFECTS OF SURGICAL EXPOSURES OF DENTAL PULPS IN GERM-FREE AND CONVENTIONAL LABORATORY RATS ». *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology* 20 (septembre): 340-49.
- Kantz, W. E., et C. A. Henry. 1974. « Isolation and Classification of Anaerobic Bacteria from Intact Pulp Chambers of Non-Vital Teeth in Man ». *Archives of Oral Biology* 19 (1): 91-96.
- Kaplan, Jeffrey B., Karen LoVetri, Silvia T. Cardona, Srinivasa Madhyastha, Irina Sadovskaya, Saïd Jabbouri, et Era A. Izano. 2012. « Recombinant Human DNase I Decreases Biofilm and Increases Antimicrobial Susceptibility in Staphylococci ». *The Journal of Antibiotics* 65 (2): 73-77. <https://doi.org/10.1038/ja.2011.113>.
- Karale, Rupali, Kamal Maldebhai Oedra, A. Sreekha, C. Champa, Ashwija Shetty, S Pushpalatha, et Rini Sharma. 2016. « Effect of dentin on the antimicrobial efficacy of 3% sodium hypochlorite, 2% chlorhexidine, 17% ethylenediaminetetraacetic acid, and 18% etidronic acid on *Candida albicans*: An in vitro study ». *Journal of Conservative Dentistry : JCD* 19 (5): 455-60. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.190023>.
- Kasić, Silvija, Marita Knezović, Nataša Belder, Dragana Gabrić, Ana Ivanišević Malčić, et Anja Baraba. 2017. « Efficacy of Three Different Lasers on Eradication of *Enterococcus Faecalis* and *Candida Albicans* Biofilms in Root Canal System ». *Photomedicine and Laser Surgery* 35 (7): 372-77. <https://doi.org/10.1089/pho.2016.4258>.
- Kim, A Reum, Ki Bum Ahn, Cheol-Heui Yun, Ok-Jin Park, Hiran Perinpanayagam, Yeon-Jee Yoo, Kee-Yeon Kum, et Seung Hyun Han. 2019. « Lactobacillus plantarum Lipoteichoic Acid Inhibits Oral Multispecies Biofilm ». *Journal of Endodontics* 45 (3): 310-15. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.12.007>.
- Kim, Yeun, Seok-Woo Chang, Jong-Ki Lee, I.-Ping Chen, Blythe Kaufman, Jin Jiang, Bruce Y. Cha, Qiang Zhu, Kamran E. Safavi, et Kee-Yeon Kum. 2013. « A Micro-Computed Tomography Study of Canal Configuration of Multiple-Canalled Mesio Buccal Root of



- Maxillary First Molar ». *Clinical Oral Investigations* 17 (6): 1541-46. <https://doi.org/10.1007/s00784-012-0852-8>.
- Kolenbrander, Paul E., Robert J. Palmer, Saravanan Periasamy, et Nicholas S. Jakubovics. 2010. « Oral Multispecies Biofilm Development and the Key Role of Cell–Cell Distance ». *Nature Reviews Microbiology* 8 (7): 471-80. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2381>.
- König, C., S. Schwank, et J. Blaser. 2001. « Factors Compromising Antibiotic Activity against Biofilms of Staphylococcus Epidermidis ». *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology* 20 (1): 20-26.
- Konstantinidi, E., Z. Psimma, L. E. Chávez de Paz, et C. Boutsoukis. 2017. « Apical Negative Pressure Irrigation versus Syringe Irrigation: A Systematic Review of Cleaning and Disinfection of the Root Canal System ». *International Endodontic Journal* 50 (11): 1034-54. <https://doi.org/10.1111/iej.12725>.
- Kostakioti, Maria, Maria Hadjifrangiskou, et Scott J. Hultgren. 2013. « Bacterial Biofilms: Development, Dispersal, and Therapeutic Strategies in the Dawn of the Postantibiotic Era ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 3 (4). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a010306>.
- Law, Simon, Pierre-Marie Andrault, Adeleke H. Aguda, Nham T. Nguyen, Natasha Kruglyak, Gary D. Brayer, et Dieter Brömme. 2017. « Identification of Mouse Cathepsin K Structural Elements That Regulate the Potency of Odanacatib ». *The Biochemical Journal* 474 (5): 851-64. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160985>.
- Li, L., W. W. L. Hsiao, R. Nandakumar, S. M. Barbuto, E. F. Mongodin, B. J. Paster, C. M. Fraser-Liggett, et A. F. Fouad. 2010. « Analyzing Endodontic Infections by Deep Coverage Pyrosequencing ». *Journal of Dental Research* 89 (9): 980-84. <https://doi.org/10.1177/0022034510370026>.
- Li, Wuyou, Hang Yang, Yujing Gong, Shujuan Wang, Yuhong Li, et Hongping Wei. 2018. « Effects of a Chimeric Lysin against Planktonic and Sessile Enterococcus Faecalis Hint at Potential Application in Endodontic Therapy ». *Viruses* 10 (6). <https://doi.org/10.3390/v10060290>.
- « LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit, for microscopy quantitative assays ». s. d. Consulté le 18 juin 2018. <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/L7012>.
- Lopez-Nguyen, Darrene, et Cecile Badet. 2016. « Experimental Models of Oral Biofilms Developed on Inert Substrates: A Review of the Literature ». *BioMed Research International* 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7461047>.
- Ma, Jingzhi, Zhejun Wang, Ya Shen, et Markus Haapasalo. 2011. « A New Noninvasive Model to Study the Effectiveness of Dentin Disinfection by Using Confocal Laser Scanning Microscopy ». *Journal of Endodontics* 37 (10): 1380-85. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.06.018>.
- McDougald, Diane, Scott A. Rice, Nicolas Barraud, Peter D. Steinberg, et Staffan Kjelleberg. 2011. « Should We Stay or Should We Go: Mechanisms and Ecological Consequences for Biofilm Dispersal ». *Nature Reviews. Microbiology* 10 (1): 39-50. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2695>.
- McGill, S., K. Gulabivala, N. Mordan, et Y.-L. Ng. 2008. « The Efficacy of Dynamic Irrigation Using a Commercially Available System (RinsEndo) Determined by Removal of a Collagen “bio-Molecular Film” from an Ex Vivo Model ». *International Endodontic Journal* 41 (7): 602-8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2008.01408.x>.
- Meireles, Ana, Anabela Borges, Efstathios Giaouris, et Manuel Simões. 2016. « The current knowledge on the application of anti-biofilm enzymes in the food industry ». *Food*

- Meyer, S. De, M. A. Meire, T. Coenye, et R. J. G. De Moor. 2017. « Effect of Laser-Activated Irrigation on Biofilms in Artificial Root Canals ». *International Endodontic Journal* 50 (5): 472-79. <https://doi.org/10.1111/iej.12643>.
- Mohammed, S. A., M. E. Vianna, M. R. Penny, S. T. Hilton, N. J. Mordan, et J. C. Knowles. 2018. « Investigations into in Situ Enterococcus Faecalis Biofilm Removal by Passive and Active Sodium Hypochlorite Irrigation Delivered into the Lateral Canal of a Simulated Root Canal Model ». *International Endodontic Journal* 51 (6): 649-62. <https://doi.org/10.1111/iej.12880>.
- Molander, A., C. Reit, G. Dahlén, et T. Kvist. 1998. « Microbiological Status of Root-Filled Teeth with Apical Periodontitis ». *International Endodontic Journal* 31 (1): 1-7.
- Moorer, W. R., et P. R. Wesselink. 1982. « Factors Promoting the Tissue Dissolving Capability of Sodium Hypochlorite ». *International Endodontic Journal* 15 (4): 187-96.
- Morio, Kimberly, Emma L. Thayer, Amber M. Bates, et Kim A. Brogden. 2019. « 255-nm Light-emitting Diode Kills Enterococcus faecalis and Induces the Production of Cellular Biomarkers in Human Embryonic Palatal Mesenchyme Cells and Gingival Fibroblasts ». *Journal of Endodontics* 45 (6): 774-783.e6. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.02.016>.
- Muhammad, Omid H., Marlene Chevalier, Jean-Paul Rocca, Nathalie Brulat-Bouchard, et Etienne Medioni. 2014. « Photodynamic Therapy versus Ultrasonic Irrigation: Interaction with Endodontic Microbial Biofilm, an Ex Vivo Study ». *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 11 (2): 171-81. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2014.02.005>.
- Naenni, Nadja, Kaya Thoma, et Matthias Zehnder. 2004. « Soft Tissue Dissolution Capacity of Currently Used and Potential Endodontic Irrigants ». *Journal of Endodontics* 30 (11): 785-87.
- Nakamura, V. C., E. T. Pinheiro, L. C. Prado, A. C. Silveira, A. P. L. Carvalho, M. P. A. Mayer, et G. Gavini. 2018. « Effect of Ultrasonic Activation on the Reduction of Bacteria and Endotoxins in Root Canals: A Randomized Clinical Trial ». *International Endodontic Journal* 51 (S1): e12-22. <https://doi.org/10.1111/iej.12783>.
- Nguyen, Uyen T., et Lori L. Burrows. 2014. « DNase I and Proteinase K Impair *Listeria Monocytogenes* Biofilm Formation and Induce Dispersal of Pre-Existing Biofilms ». *International Journal of Food Microbiology* 187 (septembre): 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.025>.
- Niazi, S. A., W. M. Al-Ali, S. Patel, F. Foschi, et F. Mannocci. 2015. « Synergistic Effect of 2% Chlorhexidine Combined with Proteolytic Enzymes on Biofilm Disruption and Killing ». *International Endodontic Journal* 48 (12): 1157-67. <https://doi.org/10.1111/iej.12420>.
- Niazi, S. A., D. Clark, T. Do, S. C. Gilbert, F. Foschi, F. Mannocci, et D. Beighton. 2014. « The Effectiveness of Enzymic Irrigation in Removing a Nutrient-Stressed Endodontic Multispecies Biofilm ». *International Endodontic Journal* 47 (8): 756-68. <https://doi.org/10.1111/iej.12214>.
- Oda, D. F., M. a. H. Duarte, F. B. Andrade, L. T. Moriyama, V. S. Bagnato, et I. G. de Moraes. 2019. « Antimicrobial Action of Photodynamic Therapy in Root Canals Using LED Curing Light, Curcumin and Carbopol Gel ». *International Endodontic Journal* 52 (7): 1010-19. <https://doi.org/10.1111/iej.13092>.
- Okshevsky, Mira, et Rikke Louise Meyer. 2015. « The Role of Extracellular DNA in the Establishment, Maintenance and Perpetuation of Bacterial Biofilms ». *Critical Reviews in Microbiology* 41 (3): 341-52. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.841639>.

- Oncag, Ozant, Dilsah Cogulu, Atac Uzel, et Kadriye Sorkun. 2006. « Efficacy of Propolis as an Intracanal Medicament against *Enterococcus Faecalis* ». *General Dentistry* 54 (5): 319-22.
- Ozok, A. R., I. F. Persoon, S. M. Huse, B. J. F. Keijser, P. R. Wesselink, W. Crielaard, et E. Zaura. 2012. « Ecology of the Microbiome of the Infected Root Canal System: A Comparison between Apical and Coronal Root Segments ». *International Endodontic Journal* 45 (6): 530-41. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2011.02006.x>.
- Paragliola, Raffaele, Vittorio Franco, Cristiano Fabiani, Annalisa Mazzoni, Fernando Nato, Franklin R. Tay, Lorenzo Breschi, et Simone Grandini. 2010. « Final Rinse Optimization: Influence of Different Agitation Protocols ». *Journal of Endodontics* 36 (2): 282-85. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.10.004>.
- Passalidou, Stamatina, Filip Calberson, Mieke De Bruyne, Roeland De Moor, et Maarten August Meire. 2018. « Debris Removal from the Mesial Root Canal System of Mandibular Molars with Laser-activated Irrigation ». *Journal of Endodontics* 44 (11): 1697-1701. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.06.007>.
- Paz, L. E. Chávez de, J. R. Davies, G. Bergenholtz, et G. Svensäter. 2015. « Strains of *Enterococcus Faecalis* Differ in Their Ability to Coexist in Biofilms with Other Root Canal Bacteria ». *International Endodontic Journal* 48 (10): 916-25. <https://doi.org/10.1111/iej.12501>.
- Peña López, Alejandro, Antonio J. Conde, Roberto Estevez, Oliver Valencia de Pablo, Giampiero Rossi-Fedele, et Rafael Cisneros. 2018. « Sodium Hypochlorite and a Preparation Containing Glycocholic Acid and Surfactants Have a Synergistic Action on Organic Tissue Dissolution In Vitro ». *Journal of Endodontics* 44 (5): 813-15. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.01.007>.
- Peters, O. A., A. Laib, P. Rügsegger, et F. Barbakow. 2000. « Three-Dimensional Analysis of Root Canal Geometry by High-Resolution Computed Tomography ». *Journal of Dental Research* 79 (6): 1405-9. <https://doi.org/10.1177/00220345000790060901>.
- Petridis, X., F. H. Busanello, M. V. R. So, R. J. B. Dijkstra, P. K. Sharma, et L. W. M. van der Sluis. 2019. « Factors Affecting the Chemical Efficacy of 2% Sodium Hypochlorite against Oral Steady-State Dual-Species Biofilms: Exposure Time and Volume Application ». *International Endodontic Journal* 52 (8): 1182-95. <https://doi.org/10.1111/iej.13102>.
- Pinheiro, Sergio Luiz, Caio Cesar da Silva, Lucas Augusto da Silva, Marina P. Cicotti, Carlos Eduardo da Silveira Bueno, Carlos Eduardo Fontana, Letícia R. Pagrion, Natália P. Dalmora, Thaís T. Daque, et Francisco Uf de Campos. 2018. « Antimicrobial Efficacy of 2.5% Sodium Hypochlorite, 2% Chlorhexidine, and Ozonated Water as Irrigants in Mesiobuccal Root Canals with Severe Curvature of Mandibular Molars ». *European Journal of Dentistry* 12 (1): 94-99. [https://doi.org/10.4103/ejd.ejd\\_324\\_17](https://doi.org/10.4103/ejd.ejd_324_17).
- Pladisai, Patinee, Ruchanee Salingcarnboriboon Ampornaramveth, et Pavena Chivatxaranukul. 2016. « Effectiveness of Different Disinfection Protocols on the Reduction of Bacteria in *Enterococcus faecalis* Biofilm in Teeth with Large Root Canals ». *Journal of Endodontics* 42 (3): 460-64. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.12.016>.
- Pleszczyńska Małgorzata, Wiater Adrian, Bachanek Teresa, et Szczodrak Janusz. 2016. « Enzymes in therapy of biofilm-related oral diseases ». *Biotechnology and Applied Biochemistry* 64 (3): 337-46. <https://doi.org/10.1002/bab.1490>.
- Pourhajibagher, Maryam, Nasim Chiniforush, Sima Shahabi, Morteza Palizvani, et Abbas Bahador. 2018. « Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Antimicrobial Photodynamic Therapy Against Intracanal *Enterococcus Faecalis*: An In Vitro Comparative Study with Traditional Endodontic Irrigation Solutions ». *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)* 15 (4): 197-204.

- Pourhajibagher, Maryam, Hossein Kazemian, Nasim Chiniforush, Nava Hosseini, Babak Pourakbari, Atefeh Azizollahi, Faranak Rezaei, et Abbas Bahador. 2018. « Exploring Different Photosensitizers to Optimize Elimination of Planktonic and Biofilm Forms of *Enterococcus Faecalis* from Infected Root Canal during Antimicrobial Photodynamic Therapy ». *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 24 (décembre): 206-11. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.09.014>.
- Pozo, J. L. del, et R. Patel. 2007. « The Challenge of Treating Biofilm-Associated Bacterial Infections ». *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 82 (2): 204-9. <https://doi.org/10.1038/sj.clpt.6100247>.
- Prażmo, Ewa Joanna, Renata Alicja Godlewska, et Agnieszka Beata Mielczarek. 2017. « Effectiveness of Repeated Photodynamic Therapy in the Elimination of Intracanal *Enterococcus Faecalis* Biofilm: An in Vitro Study ». *Lasers in Medical Science* 32 (3): 655-61. <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2164-3>.
- Qi, Z., H. Cao, H. Jiang, J. Zhao, et Z. Tang. 2016. « Combinations of Bacterial Species Associated with Symptomatic Endodontic Infections in a Chinese Population ». *International Endodontic Journal* 49 (1): 17-25. <https://doi.org/10.1111/iej.12428>.
- Rai, Dipti, Jay Kumar Singh, Nilanjan Roy, et Dulal Panda. 2008. « Curcumin Inhibits FtsZ Assembly: An Attractive Mechanism for Its Antibacterial Activity ». *The Biochemical Journal* 410 (1): 147-55. <https://doi.org/10.1042/BJ20070891>.
- Ramachandran Nair, P. N. 1987. « Light and Electron Microscopic Studies of Root Canal Flora and Periapical Lesions ». *Journal of Endodontics* 13 (1): 29-39. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(87\)80089-4](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(87)80089-4).
- Ricucci, Domenico, Simona Loghin, Lucio S. Gonçalves, Isabela N. Rôças, et José F. Siqueira. 2018. « Histobacteriologic Conditions of the Apical Root Canal System and Periapical Tissues in Teeth Associated with Sinus Tracts ». *Journal of Endodontics* 44 (3): 405-13. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.12.005>.
- Ricucci, Domenico, et José F. Siqueira. 2010. « Biofilms and Apical Periodontitis: Study of Prevalence and Association with Clinical and Histopathologic Findings ». *Journal of Endodontics* 36 (8): 1277-88. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.04.007>.
- Robinson, Peter K. 2015. « Enzymes: principles and biotechnological applications ». *Essays in Biochemistry* 59 (novembre): 1-41. <https://doi.org/10.1042/bse0590001>.
- Rôças, Isabela N., José Claudio Provenzano, Mônica A. S. Neves, et José F. Siqueira. 2016. « Disinfecting Effects of Rotary Instrumentation with Either 2.5% Sodium Hypochlorite or 2% Chlorhexidine as the Main Irrigant: A Randomized Clinical Study ». *Journal of Endodontics* 42 (6): 943-47. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.03.019>.
- Rodríguez-López, Pedro, Alba Carballo-Justo, Lorraine A. Draper, et Marta L. Cabo. 2017. « Removal of *Listeria Monocytogenes* Dual-Species Biofilms Using Combined Enzyme-Benzalkonium Chloride Treatments ». *Biofouling* 33 (1): 45-58. <https://doi.org/10.1080/08927014.2016.1261847>.
- Rodríguez-López, Pedro, Carmen H. Puga, Belén Orgaz, et Marta L. Cabo. 2017. « Quantifying the Combined Effects of Pronase and Benzalkonium Chloride in Removing Late-Stage *Listeria Monocytogenes*-*Escherichia Coli* Dual-Species Biofilms ». *Biofouling* 33 (8): 690-702. <https://doi.org/10.1080/08927014.2017.1356290>.
- Rolph, H. J., A. Lennon, M. P. Riggio, W. P. Saunders, D. MacKenzie, L. Coldero, et J. Bagg. 2001. « Molecular Identification of Microorganisms from Endodontic Infections ». *Journal of Clinical Microbiology* 39 (9): 3282-89. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.9.3282-3289.2001>.
- Ruiz-Linares, M., B. Aguado-Pérez, P. Baca, M. T. Arias-Moliz, et C. M. Ferrer-Luque. 2017. « Efficacy of Antimicrobial Solutions against Polymicrobial Root Canal Biofilm ». *International Endodontic Journal* 50 (1): 77-83. <https://doi.org/10.1111/iej.12598>.

- Sadr Lahijani, M. S., H. R. Raof Kateb, R. Heady, et D. Yazdani. 2006. « The Effect of German Chamomile (*Marticaria Recutita* L.) Extract and Tea Tree (*Melaleuca Alternifolia* L.) Oil Used as Irrigants on Removal of Smear Layer: A Scanning Electron Microscopy Study ». *International Endodontic Journal* 39 (3): 190-95. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2006.01073.x>.
- Samiei, Mohammad, Afsaneh Farjami, Solmaz Maleki Dizaj, et Farzaneh Lotfipour. 2016. « Nanoparticles for Antimicrobial Purposes in Endodontics: A Systematic Review of in Vitro Studies ». *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications* 58 (janvier): 1269-78. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.070>.
- Sánchez-Sanhueza, G., S. Rebolledo, J. López, M. Encalada, H. Bello-Toledo, D. Rojas, C. Medinam, et M. F. Melendrez. 2018. « Synthesis of Copper Nanowires and Their Antimicrobial Activity on Strains Isolated Persistent Endodontic Infections ». *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 18 (7): 4507-14. <https://doi.org/10.1166/jnn.2018.15274>.
- Schmidt, Tamer F., Cleonice S. Teixeira, Mara C. S. Felipe, Wilson T. Felipe, David H. Pashley, et Eduardo A. Bortoluzzi. 2015. « Effect of Ultrasonic Activation of Irrigants on Smear Layer Removal ». *Journal of Endodontics* 41 (8): 1359-63. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.03.023>.
- Shen, Ya, Sonja Stojicic, et Markus Haapasalo. 2011. « Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine against Bacteria in Biofilms at Different Stages of Development ». *Journal of Endodontics* 37 (5): 657-61. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.02.007>.
- Shlezinger, Mor, Leron Khalifa, Yael Hour-Haddad, Shunit Copenhagen-Glazer, Grégory Resch, Yok-Ai Que, Shaul Beyth, Elisheva Dorfman, Ronen Hazan, et Nurit Beyth. 2017. « Phage Therapy: A New Horizon in the Antibacterial Treatment of Oral Pathogens ». *Current Topics in Medicinal Chemistry* 17 (10): 1199-1211. <https://doi.org/10.2174/1568026616666160930145649>.
- Shrestha, Annie, et Anil Kishen. 2016. « Antibacterial Nanoparticles in Endodontics: A Review ». *Journal of Endodontics* 42 (10): 1417-26. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.05.021>.
- Siqueira, J. F., et I. N. Rôças. 2005. « Exploiting Molecular Methods to Explore Endodontic Infections: Part 2--Redefining the Endodontic Microbiota ». *Journal of Endodontics* 31 (7): 488-98.
- Siqueira, José F. 2002. « Endodontic Infections: Concepts, Paradigms, and Perspectives ». *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 94 (3): 281-93. <https://doi.org/10.1067/moe.2002.126163>.
- Siqueira, José F., Flávio R. F. Alves, et Isabela N. Rôças. 2011. « Pyrosequencing Analysis of the Apical Root Canal Microbiota ». *Journal of Endodontics* 37 (11): 1499-1503. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.08.012>.
- Sluis, L. W. M. van der, M. Versluis, M. K. Wu, et P. R. Wesselink. 2007. « Passive Ultrasonic Irrigation of the Root Canal: A Review of the Literature ». *International Endodontic Journal* 40 (6): 415-26. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2007.01243.x>.
- Spangberg, L., B. Engström, et K. Langeland. 1973. « Biologic Effects of Dental Materials. 3. Toxicity and Antimicrobial Effect of Endodontic Antiseptics in Vitro ». *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology* 36 (6): 856-71.
- Spoering, A. L., et K. Lewis. 2001. « Biofilms and Planktonic Cells of *Pseudomonas Aeruginosa* Have Similar Resistance to Killing by Antimicrobials ». *Journal of Bacteriology* 183 (23): 6746-51. <https://doi.org/10.1128/JB.183.23.6746-6751.2001>.
- Steenackers, Hans P., Ilse Parijs, Kevin R. Foster, et Jozef Vanderleyden. 2016. « Experimental evolution in biofilm populations ». *FEMS Microbiology Reviews* 40 (3): 373-97. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw002>.

- Stewart, P. S., et J. W. Costerton. 2001. « Antibiotic Resistance of Bacteria in Biofilms ». *Lancet (London, England)* 358 (9276): 135-38.
- Stojcic, Sonja, Ya Shen, et Markus Haapasalo. 2013. « Effect of the Source of Biofilm Bacteria, Level of Biofilm Maturation, and Type of Disinfecting Agent on the Susceptibility of Biofilm Bacteria to Antibacterial Agents ». *Journal of Endodontics* 39 (4): 473-77. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.11.024>.
- Sundqvist, G., D. Figdor, S. Persson, et U. Sjögren. 1998. « Microbiologic Analysis of Teeth with Failed Endodontic Treatment and the Outcome of Conservative Re-Treatment ». *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* 85 (1): 86-93.
- Sundqvist, Göran. 1976. *Bacteriological Studies of Necrotic Dental Pulps*. Department of Oral Microbiology, University of Umeå.
- Sutherland, I. 2001. « Biofilm Exopolysaccharides: A Strong and Sticky Framework ». *Microbiology (Reading, England)* 147 (Pt 1): 3-9. <https://doi.org/10.1099/00221287-147-1-3>.
- Takamiya, Aline Satie, Douglas Roberto Monteiro, Daniel Galera Bernabé, Luiz Fernando Gorup, Emerson Rodrigues Camargo, João Eduardo Gomes-Filho, Sandra Helena Penha Oliveira, et Debora Barros Barbosa. 2016. « In Vitro and In Vivo Toxicity Evaluation of Colloidal Silver Nanoparticles Used in Endodontic Treatments ». *Journal of Endodontics* 42 (6): 953-60. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.03.014>.
- Tawakoli, P. N., K. T. Ragnarsson, D. K. Rechenberg, D. Mohn, et M. Zehnder. 2017. « Effect of Endodontic Irrigants on Biofilm Matrix Polysaccharides ». *International Endodontic Journal* 50 (2): 153-60. <https://doi.org/10.1111/iej.12604>.
- Trop, M, et Y Birk. 1968. « The trypsin-like enzyme from *Streptomyces griseus* (pronase). » *Biochemical Journal* 109 (3): 475-76.
- Verma, Neha, Pankaj Sangwan, Sanjay Tewari, et Jigyasa Duhan. 2019. « Effect of Different Concentrations of Sodium Hypochlorite on Outcome of Primary Root Canal Treatment: A Randomized Controlled Trial ». *Journal of Endodontics* 45 (4): 357-63. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.01.003>.
- Virdee, S. S., D. W. Seymour, D. Farnell, G. Bhamra, et S. Bhakta. 2018. « Efficacy of Irrigant Activation Techniques in Removing Intracanal Smear Layer and Debris from Mature Permanent Teeth: A Systematic Review and Meta-Analysis ». *International Endodontic Journal* 51 (6): 605-21. <https://doi.org/10.1111/iej.12877>.
- Wang, Dan, Markus Haapasalo, Yuan Gao, Jingzhi Ma, et Ya Shen. 2018. « Antibiofilm Peptides against Biofilms on Titanium and Hydroxyapatite Surfaces ». *Bioactive Materials* 3 (4): 418-25. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2018.06.002>.
- Wang, Zhejun, Ya Shen, et Markus Haapasalo. 2012. « Effectiveness of Endodontic Disinfecting Solutions against Young and Old *Enterococcus Faecalis* Biofilms in Dentin Canals ». *Journal of Endodontics* 38 (10): 1376-79. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.06.035>.
- Westall, Frances, Maarten J de Wit, Jesse Dann, Sjerry van der Gaast, Cornel E. J de Ronde, et Dane Gerneke. 2001. « Early Archean fossil bacteria and biofilms in hydrothermally-influenced sediments from the Barberton greenstone belt, South Africa ». *Precambrian Research* 106 (1–2): 93-116. [https://doi.org/10.1016/S0301-9268\(00\)00127-3](https://doi.org/10.1016/S0301-9268(00)00127-3).
- Yamalik, Nermin, Sevim Günday, Serdar Uysal, Kamer Kiliç, Erdem Karabulut, et Tolga F. Tözüm. 2012. « Analysis of Cathepsin-K Activity at Tooth and Dental Implant Sites and the Potential of This Enzyme in Reflecting Alveolar Bone Loss ». *Journal of Periodontology* 83 (4): 498-505. <https://doi.org/10.1902/jop.2011.110232>.
- Zan, Recai, Tayfun Alacam, Ihsan Hubbezoglu, Tutku Tunc, Zeynep Sumer, et Oguzhan Alici. 2016. « Antibacterial Efficacy of Super-Oxidized Water on *Enterococcus Faecalis*

- Biofilms in Root Canal ». *Jundishapur Journal of Microbiology* 9 (9): e30000. <https://doi.org/10.5812/jjm.30000>.
- Zandi, Homan, Renata C. V. Rodrigues, Anne K. Kristoffersen, Morten Enersen, Ibrahimu Mdala, Dag Ørstavik, Isabela N. Rôças, et José F. Siqueira. 2016. « Antibacterial Effectiveness of 2 Root Canal Irrigants in Root-filled Teeth with Infection: A Randomized Clinical Trial ». *Journal of Endodontics* 42 (9): 1307-13. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.06.006>.
- Zhang, Y. H. Percival, Jiong Hong, et Xinhao Ye. 2009. « Cellulase Assays ». *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 581: 213-31. [https://doi.org/10.1007/978-1-60761-214-8\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-214-8_14).

## Table des Figures

Figure 1 : Développement et dispersion du biofilm d'après M. Kostakioti et al. ...	5
Figure 2 : Composition microbienne en fonction du stade de traitement de l'endodonte d'après Sundquist 92, Chavez de Paz et al. 2003, Molander et al. 1998 (Endodontic Microbiology, Seconde Edition, A. Fouad 2017) .....	8
Figure 3 Coupe histologique indiquant la présence de bactéries organisées en biofilm dans le tiers apical d'une prémolaire d'après Ricucci (Ricucci et al. 2018) .....	9
Figure 4 : Réseaux canaux complexes de racines palatines de premières molaires à partir de reconstruction 3D. D'après Yeun Kim, Kee-Yeon Kum (Y. Kim et al. 2013) .....	13
Figure 5 : Persistance de bactéries viables au sein des tubules dentinaires après désinfection à l'hypochlorite de sodium in vitro par microscopie confocale à balayage laser et coloration LIVE/DEAD (Z. Wang, Shen, et Haapasalo 2012) .....	14
Figure 6 : Mécanisme de la thérapie photo-dynamique comprenant un colorant excitable, l'oxygène et la lumière (Gallardo-Villagrán et al. 2019) .....	18
Figure 7 : Mécanismes d'action des enzymes sur le biofilm d'après Grassi 2017	21
Figure 8 : Représentation schématique de la dégradation de la triple hélice de collagène par la cathepsine K (site de clivage aléatoire) .....	22
Figure 9 : Diagramme de flux de la recherche bibliographique .....	24
Figure 10 : Schéma du protocole expérimental (Auteur 2020) .....	28
Figure 11 : Reconstruction 3D du biofilm avec le logiciel IMARIS à partir des données MCBL (Auteur 2018) .....	31
Figure 12 : Images de microscopie électronique à balayage laser de biofilm sans traitement (Haut : x1.500 bas, x10000) (Auteur 2018) .....	32
Figure 13 : Histogramme présentant le pourcentage de cellules bactériennes mortes après traitement d'un biofilm âgé de 7 jours avec des solutions enzymatiques plus ou moins associées à différentes solutions d'irrigation (les barres représentant l'écart-type)(Auteur 2018)	33
Figure 14 : Reconstruction du volume de biofilm. De gauche à droite cathepsine K seule, cathepsine K + 3 minutes d'immersion dans la chlorhexidine à 2%, cathepsine K + 3 minutes d'immersion dans l'IKI 0.2%/0.4%, contrôle. (Auteur 2018) .....	34
Figure 15 : Microscopie électronique à balayage laser du biofilm traité avec 1mM de cathepsine K au cours de la nuit (2ème ligne) cathepsine K + immersion de 3 minutes dans Chlorhexidine à 0.2% (3ème ligne) cathepsine K et immersion de 3 minutes dans de l'IKI (4ème	



ligne) montrant une modification et une diminution du nombre de bactéries avec l'ajout des désinfectants. (Gauche grossissement x1500, droite x10000) (Auteur 2018)..... 35

Figure 16 : Effet d'un pré-traitement à la cathepsine K sur le ratio mort/vivant en association avec la chlorhexidine ou l'IKI biofilm âgé de 7 jours. Les barres représentent la déviation standard. (Auteur 2018)..... 36

Figure 17 : Reconstruction du biofilm après traitement à la pronase. De gauche à droite pronase ; pronase + immersion de 3 minutes dans la chlorhexidine 2% ; pronase + immersion de 3 minutes dans l'IKI 0.2/0.4% ; contrôle. (Auteur 2018)..... 37

Figure 18 : Effet du pré-traitement à la pronase sur le ratio vivant/mort en association avec l'IKI ou la chlorhexidine. Les barres représentent l'écart-type. (Auteur 2018)..... 37

Figure 19 : Microscopie électronique à balayage laser du biofilm traité avec la pronase. au cours de la nuit, contrôle (1ère ligne) avec la pronase (2ème ligne) pronase et immersion de 3 minutes dans de l'IKI (3me ligne) (Gauche grossissement x1500, droite x10000) (Auteur 2018) ..... 38

Figure 20 : Reconstruction du biofilm après traitement à la cellulase. De gauche à droite : cellulase ; cellulase + immersion de 3 minutes dans la chlorhexidine 2% ; cellulase + immersion de 3 minutes dans l'IKI 0.2/0.4% ; contrôle.(Auteur 2018)..... 39

Figure 21 : Effet du pré-traitement à la cellulase sur le ratio vivant/mort en association avec l'IKI ou la chlorhexidine. Les barres représentent l'écart-type. (Auteur 2018)..... 40

Figure 22: Microscopie électronique à balayage laser du biofilm traité avec la cellulase. Au cours de la nuit, contrôle (1ère ligne) avec la cellulase (2ème ligne) cellulase et immersion de 3 minutes dans chlorhexidine à 2% (3me ligne) (Gauche grossissement x1500, droite x10000) (Auteur 2018) ..... 41

Figure 23 : Reconstruction avec le Logiciel IMARIS du biofilm après traitement à la Dnase I. De gauche à droite DNase I ; DNase I + immersion de 3 minutes dans la chlorhexidine 2% ; DNase I + immersion de 3 minutes dans l'IKI 0.2/0.4% ; contrôle. (Auteur 2018) ... 42

Figure 24 : Effets du pré-traitement à la DNase I sur le ratio vivant/mort en association avec l'IKI ou la chlorhexidine. Les barres représentent l'écart-type. (Auteur 2018)..... 42

Figure 25 : Microscopie électronique à balayage laser du biofilm traité avec la DNase I au cours de la nuit, contrôle (1ère ligne) DNase I seul (2ème ligne) DNase I + immersion de 3 minutes dans Chlorhexidine à 0.2% (3ème ligne) DNase I et immersion de 3 minutes dans de l'IKI (4<sup>ème</sup> ligne) montrant une modification et une diminution du nombre de bactéries avec l'ajout des désinfectants. (Gauche grossissement x1500, droite x10000) (Auteur 2018)43

## Table des tableaux

Tableau 1 Principales espèces retrouvées dans le système endodontique en fonction du type d'infection d'après Siquiera (José F. Siqueira 2002).....	8
Tableau 2 Classification des nanoparticules disponibles basée sur leurs compositions traduit d'après Kishen 2016 (Shrestha et Kishen 2016) .....	19
Tableau 3 Tableau d'extraction des données de la littérature (Auteur 2020) .....	26

## Index

<b>ADN</b>	acide désoxyribonucléique
<b>CathK</b>	Cathepsine K
<b>CHX</b>	Chlorhexidine
<b>DNase I</b>	désoxyribonucléase I
<b>EDTA</b>	acide éthylène diamine tétra-acétique
<b>HA</b>	hydroxyapatite
<b>IKI</b>	Iodure de potassium
<b>LAI</b>	irrigation activée par laser
<b>MCBL</b>	microscope confocal à balayage laser
<b>MEBL</b>	microscopie électronique à balayage laser
<b>MEC</b>	Matrice extra-cellulaire
<b>NaOCl</b>	Hypochlorite de sodium
<b>PIPS</b>	flux photo-acoustique induit par l'absorption de photons

**Les opinions émises dans les dissertations présentées doivent être considérées comme propre à leurs auteurs, sans aucune approbation ni improbation de la Faculté de Chirurgie Dentaire.**

**JUSSIAUX François. DESINFECTION ENDODONTIQUE : ETAT DES LIEUX DE LA RECHERCHE ET INTERET D'UN PRETRAITEMENT ENZYMATIQUE. 2020. 81 p. : ill., tabl. (25,3). Réf. Biblio. : (52 ; 63).**

**Sous la direction du Professeur BOUKPESSI Tchilalo et du Docteur ZANINI Marjorie**

**Th : Chir Dent. : Université de Paris : 2020**

---

**Résumé :**

Malgré l'usage de solutions d'irrigation hautement bactéricides telles que l'hypochlorite de sodium ou la chlorhexidine au cours du traitement endodontique, les micro-organismes colonisant l'espace endodontique survivent notamment grâce à leur organisation sous forme de biofilm. Le biofilm est une communauté de micro-organismes protégée par une matrice extracellulaire, limitant ainsi le contact entre les solutions de désinfection et les micro-organismes cibles. De nouvelles perspectives en recherche s'orientent vers l'utilisation d'enzymes comme prétraitement des biofilms, celles-ci ayant déjà montré des effets intéressants sur d'autres biofilms. L'intérêt de l'usage des enzymes repose dans leur capacité à désorganiser le biofilm facilitant ainsi le contact entre les solutions de désinfection et les pathogènes.

Ce travail comportera une première partie sur les spécificités du biofilm en endodontie, puis nous ferons un état des lieux des méthodes d'irrigation actuelles et en développement. Enfin, la dernière partie sera consacrée à la présentation d'une étude in vitro réalisée sur les effets des pré-traitements enzymatiques sur un modèle de biofilm oral multi-espèces.

---

**Discipline :**

[Odontologie conservatrice et endodontologie]

---

**Mots clés français (fMeSH et Rameau) :**

Endodontie, microbiologie, biofilm, Irrigants endocanalaire, Enzymes

---

**TITRE en anglais :**

**Endodontic disinfection : current situation in research and interest of enzyme pretreatment**

---

**English keywords (MeSH) :**

Endodontic, root canal irrigants, biofilm, , Enzyme

Université de Paris  
UFR d'odontologie  
5, rue Garancière  
75006 Paris

