

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

ⵜⴰⴳⴷⴰⵢⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴳⴷⴰⵢⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴳⴷⴰⵢⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴳⴷⴰⵢⵜ

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITY ABOU BEKR BELKAID – TLEMCEM –

FACULTE DE MEDECINE

Dr BENZERDJEB-TLEMCEM

DEPARTEMENT DE MEDECINE DENTAIRE



جامعة أبو بكر بلقايد

كلية الطب

د. ب. بن زرجب - تلمسان

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

Intitulé :

**Effet antibactérien de la vitamine C sur *Enterococcus faecalis*  
responsable des infections endodontiques persistantes.**

Présenté par :

**Baba Ahmed Nihel et Louiz Niama**

Soutenue publiquement le 29 septembre 2020, devant le jury constitué de :

<b>Président</b>	<b>Pr A. Mesli</b>	Maitre de conférences B en pathologie bucco-dentaire
<b>Examinatrice</b>	<b>Pr I. Benyelles</b>	Maitre de conférences B en Odontologie Conservatrice Endodontie
<b>Examinatrice</b>	<b>Dr B. Himeur</b>	Maitre assistante en en Odontologie Conservatrice Endodontie
<b>Encadreur</b>	<b>Dr N. Allal</b>	Maitre assistante en en Odontologie Conservatrice Endodontie
<b>Co-Encadreur</b>	<b>Pr H. Hassaine</b>	Microbiologie Faculté SNV-Université Tlemcen

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2019-2020

**Résumé****Introduction :**

L'infection endodontique est la cause de consultation la plus fréquente en odontologie et son traitement qui est le traitement endodontique est le plus couramment réalisé et l'un des plus complexes malgré l'avènement des nouvelles techniques et des technologies pour sa réalisation, et sa réussite n'est pas toujours garantie, ceci est dû en partie à la persistance de la bactérie *Enterococcus faecalis* lors du traitement endodontique initial qui est responsable des infections endodontiques persistantes.

**But :**

Déterminer l'effet de la vitamine C sur la croissance de la bactérie *Enterococcus faecalis* responsable des infections endodontiques persistantes.

**Matériel et méthodes :**

Essai de détermination d'une concentration minimale inhibitrice de concentrations de vitamine C vis-à-vis d'une souche d'*Enterococcus faecalis* par la technique des microplaques à 96 puits.

**Résultats :**

La méthode des microplaques à 96 puits a montré que la vitamine C à une concentration de 0.5mg/mL a diminué la croissance d'*Enterococcus faecalis*.

**Conclusion :**

Cette étude a permis de mettre en évidence la possibilité de l'utilisation de la vitamine C comme solution d'irrigation lors des traitements endodontiques.

**Mots clés :**

Infection endodontique persistante, Infection endodontique récidivante, *Enterococcus faecalis*, vitamine C.

**Abstract:****Introduction:**

The endodontic infection is the most frequent reason for dental consultation, its treatment which is the endodontic treatment is often common and complicated.

Despite the new advanced techniques and technologies, its success is not always guaranteed, this is partly due to the persistence of the bacterium *Enterococcus faecalis* during the initial treatment, causing persistent endodontic infections.

**Aim:**

To determine the effect of vitamin C on the growth of *Enterococcus faecalis* bacteria responsible for persistent endodontic infections.

**Material and methods:**

An assay to determinate a minimal inhibitory concentration of vitamin C against a strain of *Enterococcus faecalis* using the 96-well microplate technique.

**Results:**

The 96-well micro plate method showed that vitamin C at a concentration of 0.5 mg/mL decreased the growth of *Enterococcus faecalis*.

**Conclusion:**

This study highlighted the possibility of using vitamin C as an irrigation solution during endodontic treatments.

**Keywords:**

Persistent endodontic infection, recurrent endodontic infection, *Enterococcus faecalis*, Vitamin C.

**ملخص:**

تعد العدوى اللبية من أكثر الأسباب شيوعاً للاستشارة عند طبيب الأسنان، كما أن علاجها المتمثل في العلاج اللبي يعتبر الأكثر تعقيداً فعلى الرغم من توفر أحدث التقنيات والوسائل، نجاح هذا الأخير غير مضمون. أحد أسباب فشل هذا العلاج اللبي هو تواجد بكتيريا المكورات المعوية البرازية "الاونتيريوكوكيس فيكالييس" أثناء العلاج اللبي الأولي. إذ إنه السبب المسؤول عن الالتهابات اللبية المستمرة.

**الهدف:**

تحديد تأثير فيتامين ج على نمو بكتيريا المكورات المعوية البرازية "الاونتيريوكوكيس فيكالييس" المسؤولة عن العدوى اللبية المستمرة. المواد والطرق: إختبار لتحديد أدنى تركيز مثبط للفيتامين ج ضد سلالة بكتيريا المكورات المعوية البرازية "الاونتيريوكوكيس فيكالييس" باستخدام تقنية الصفيحة الدقيقة ذات 96 ثقب.

**النتائج:**

أظهرت طريقة الصفيحة الدقيقة المكونة من 96 ثقب أن فيتامين ج بتركيز 0.5 مغ/مل يقلل من نمو بكتيريا المكورات المعوية البرازية "الاونتيريوكوكيس فيكالييس".

**الخاتمة:**

سلطت هذه الدراسة الضوء على إمكانية استخدام الفيتامين ج كمحلول أثناء العلاجات اللبية.

**الكلمات الدالة**

العدوى اللبية المستمرة . العدوى اللبية المتكررة . بكتيريا المكورات المعوية البرازية . الفيتامين ج

Avant-propos

## REMERCIEMENTS

A notre encadreur de mémoire, Docteur **Nawel ALLAL**, Maitre-assistante en Odontologie Conservatrice et Endodontie - Tlemcen.

Tout d'abord, nous tenons à vous remercier de nous avoir accompagné tout au long de notre cursus, de nous avoir tant appris, d'avoir été intransigeante et conciliante en même temps, nous vous remercions pour votre patience et votre compréhension, pour tout cela nous vous en serons à jamais reconnaissantes.

Puis, nous vous remercions de nous avoir encadré durant la réalisation de ce travail, d'avoir mis à notre disposition l'ensemble de vos connaissances et de vos compétences. Nous espérons que ce travail est à la hauteur de votre implication et de la dévotion dont vous avez fait preuve.

A notre co-encadreur de mémoire, Professeur **Hafida HASSAINE**, Professeur en microbiologie -Tlemcen.

Nous vous remercions d'avoir accepté de Co-encadrer notre travail, de nous avoir accordé de votre temps, et surtout, nous vous remercions pour vos remarques pleines de pertinences, qui sans elles nous n'aurions pu réaliser un tel travail.

Nous remercions aussi **Wafaa DIDI** pour avoir amplement participé à notre travail, pour sa pédagogie et sa modestie, ainsi que pour sa gentillesse, grâce à vous nous avons pu mener à terme ce travail.

Nos remerciements vont aussi aux membres du jury Professeur **MESLI Amine**, Maitre de conférences en pathologie bucco-dentaire, Professeur **Ilham BENYELLES**, Maitre de conférence en odontologie conservatrice et endodontie et Docteur **Besma HIMEUR**, Maitre assistante en odontologie conservatrice et endodontie, qui ont eu l'amabilité d'accepter de juger ce modeste travail, nous vous remercions de l'intérêt que vous avez porté à notre travail. Soyez assuré de notre profonde gratitude.

## DEDICACES

Je tiens à remercier tout d'abord Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Ce travail est dédié :

A la mémoire de ma chère grand-mère « SADOK YAMINA » et mon cher oncle « DJARDINI MOHAMED SGHIR », Vous êtes toujours présents dans mon cœur. Que DIEU vous accueille dans son éternel paradis.

A mes meilleures : maman « FATIMA » et papa « MOHAMED », sans vous je ne serai pas où j'en suis aujourd'hui. Depuis le départ vous avez été en permanence à mes côtés dans les bons comme dans les mauvais moments. Vous m'avez soutenu quoi qu'il vous en coûte et vous avez eu une confiance quasiment aveugle en moi. Vous m'avez poussé à être toujours à la hauteur. Je ne pourrai jamais vous rendre autant que ce que vous m'avez donné. Vos sacrifices, votre amour, tendresse, et vos prières qui m'ont préservé tout au long de ma vie. Pour tout cela je vous remercie du fond de mon cœur. Merci d'avoir cru en moi, je vous aime.

A celui que j'aime le plus : mon oncle « OMAR », mon deuxième papa. Tu occupes une place toute particulière dans mon cœur, tu as toujours été là pour moi. Tu as su trouver les mots pour me reconforter dans les moments difficiles. Je te remercie pour le soutien financier, moral et l'encouragement que tu m'as accordé et qui m'ont toujours donné de la force pour continuer.

Merci mon cher. Que Dieu le tout puissant te préserve.

A mes deux frères « ILYES » et « AYOUB » : vous êtes ceux sur qui je compte, mes gardiens, mes trésors. Je vous aime et je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Merci pour votre encouragement et support.

A ma famille : mes tantes, oncles, cousins et cousines, chacun de vous occupe une place toute particulière dans mon cœur. Vous êtes en grande partie responsable de ce que je suis devenue.

Merci à tous pour vos nombreux encouragements et conseils qui m'accompagnent et m'accompagneront encore pendant de nombreuses années.

A toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage et qui m'ont aidée lors de la rédaction de ce mémoire, à toute l'équipe de service de « PATHOLOGIE ET CHIRURGIE BUCCO-DENTAIRE » CHU.TLEMEN, j'ai pu apprécier vos qualités techniques et humaines.

A la famille « MEDJAHDI », merci de m'avoir accueillie à bras ouverts, vous étiez tellement aimable et généreux avec moi. Un grand merci pour tous les moments passés et ceux à venir qui je l'espère seront nombreux.

A la famille « MAHMOUDI », merci de m'avoir accueillie à bras ouverts depuis maintenant 6 ans. Vous avez été parfaits dès le début, toujours à l'écoute et prêts à m'aider en cas de problème. Un grand merci pour vous.

A mes amis : Saliha, Sarah, Zahra, Souhila, Rachida, Ikram, Asma, Romaïssa, Sana et Sara, ces 06 années sont passées trop vite en votre compagnie, entre les soirées, les voyages et tout le reste je n'ai que des souvenirs mémorables. Vous êtes tous fantastiques et j'espère qu'on continuera à se voir très régulièrement, je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite.

A mes meilleures : mon amie « NOUR EL HOUDA » et ma chère cousine « ASMA » vous étiez toujours là pour moi au meilleur et au pire, aucun de nos coups de stress, de nos exploits ne sera oublié, j'ai partagé avec vous de inoubliable souvenirs, pour votre disponibilité presque permanente et vos nombreux conseils, je suis ravie de vous avoir avec moi, je vous souhaite de tout mon cœur de la réussite, du bonheur et de la joie autant que vous m'en avez apporté durant ces années.

A ma binôme « NIHEL » depuis le début tu fais partie de cette aventure. C'était un plaisir pour moi de te connaître, nous avons partagé notre déception, notre succès, nos moments heureux et drôles et aussi celles pires, mais tu étais toujours là pour m'écouter, m'aider et me donner des conseils merci pour tout, je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de succès.

A mes chères : « SAMIA » te connaître est la meilleure chose que j'ai fait cette année tu es une perle rare, merci pour tellement de choses. « ASSIA » nos discussions amusantes, nos moments de folie sont gravés dans mon esprit. Merci pour tout. Je vous souhaite de tout mon cœur de la réussite, du bonheur et de la joie autant que vous m'en avez apporté durant cette année.

A tous mes amis de première rotation de « PATHOLOGIE ET CHIRURGIE BUCCO-DENTAIRE » 2019/2020.

**LOUIZ NIAMA**

**Sommaire**

**Résumé** ..... i  
**Avant-propos** ..... iv  
**Tables des matières** ..... Error! Bookmark not defined.  
**Liste des abréviations** ..... viii  
**Liste des tableaux** ..... ix  
**Liste des figures**..... x

**PARTIE THEORIQUE**

**Introduction**..... 1  
**1. L'endodonte** ..... 4  
**1.1. L'anatomie et physiologie**..... 4  
**1.2. La pathologie infectieuse périapicale de l'endodonte** ..... 8  
**1.3. Le traitement de la pathologie infectieuse de l'endodonte** ..... 9  
**1.4. L'échec de traitement endodontique ou l'infection endodontique persistante** 12  
    1.4.1. La complexité de l'anatomie canalaire ..... 13  
        1.4.1.1. Nombre de canaux ..... 13  
        1.4.1.2. Courbures canalaires ..... 13  
        1.4.1.3. Calcifications canalaires ..... 14  
        1.4.1.4. Canaux latéraux et accessoires ..... 15  
    1.4.2. La cause iatrogène lors de la préparation et de l'obturation canalaire ..... 15  
**2. Les infections endodontiques récidivantes à *Enterococcus faecalis*** ..... 15  
**3. La vitamine C et infection endodontique** ..... 18  
**Problématique** ..... 21

**PARTIE PRATIQUE**

**Matériel et méthodes**..... 23  
**1.Lieu et type de l'étude** ..... 23  
**2. La souche bactérienne** ..... 23  
**3. Revivification de la souche d'étude** ..... 24  
**4. Isolement et purification**..... 24  
**5.Effet de la vitamine C sur la souche d'*Enterococcus faecalis*** ..... 24  
**Résultats et discussion** ..... 29  
**1. Résultat de l'isolement et de la purification de la souche d'étude** ..... 29  
**2. Résultat de l'effet de la vitamine C sur *Enterococcus faecalis*** ..... 29  
**Conclusion et perspectives** ..... 35  
**Bibliographie** ..... 37



## Liste des abréviations

<b>AA</b>	: acide ascorbique.
<b>AAA</b>	: abcès apical aigue.
<b>BHIB</b>	: bouillon cœur cervelle.
<b>CBM</b>	: concentration bactéricide minimale.
<b>CDM</b>	: un milieu chimiquement définit.
<b>CMI</b>	: concentration minimale inhibitrice.
<b>COVID-19</b>	: virus 2019-nCoV.
<b>CPB</b>	: concentration de prévention des biofilms.
<b>DO</b>	: densité optique
<b>E FEACALIS</b>	: <i>Enterococcus faecalis</i> .
<b>ECR</b>	: essai randomisé contrôlé.
<b>EDTA</b>	: acide éthylène diamine-tétra acétique.
<b>ERV</b>	: <i>Enterococcus faecalis</i> résistante à la vancomycine.
<b>HGF</b>	: fibroblastes gingivaux humains.
<b>IV</b>	: voie intraveineuse.
<b>LAMAABE</b>	: laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au
<b>LIPOE</b>	: lésion inflammatoire péri-radriculaire d'origine endodontique.
<b>MTAD</b>	: mixture tetracycline citric acid and detergent.
<b>NiTi</b>	: Nickel Titane.
<b>PAA</b>	: parodontite apicale aigue.
<b>SARM</b>	: Methicillin resistant staphylococcus aureus.
<b>TCP</b>	: microplaques à 96 puits.
<b>USI</b>	: unité de soins intensifs.
<b>Vit C</b>	: vitamine C.

## Liste des tableaux

Tableau 1: Les signes cliniques et radiologiques pouvant caractériser un échec de traitement endodontique.....	13
Tableau 2:Tableau représentant les résultats de densité optique (DO). ....	30

## Liste des figures

Figure 1 :Schéma des principaux composants anatomiques de l'endodonte .....	4
Figure 2 : Schéma représentant l'endodonte d'une dent pluriradiculée .....	5
Figure 3 : Classification des configurations canalaires selon Vertucci 1974 .....	6
Figure 4 : Schéma représentant les quatres types de configuration canalair selon la classification de Weine 1994 .....	7
Figure 5 : Schéma représentant l'évolution de la carie vers la parodontite apicale aigue	8
Figure 6 : Iconographie représentant le système Réciproc .....	10
Figure 7 : Iconographie représentant le système PathFile .....	10
Figure 8 : Iconographie représentant la bactérie <i>Enterococcus faecalis</i> .....	16
Figure 9 : Structure chimique de la vitamine C .....	18
Figure 10 : Iconographie représentant la souche de référence d' <i>Enterococcus faecalis</i> .	23
Figure 11 : Ajustement de la charge bactérienne. ....	25
Figure 12 : La méthode de micro dilution. ....	26
Figure 13 : La vitamine C synthétique pure à 100%. ....	26
Figure 14 : Préparation de la vitamine C. ....	27
Figure 15: Isolement sur milieu sélectif de gélose au sang .....	29
Figure 16: Histogramme représentant l'Effet de l'acide ascorbique sur la croissance d' <i>Enterococcus faecalis</i> .....	31

# **Introduction**

## **Introduction**

L'endodontie est une science venant du Grec ancien et signifie « les connaissances du contenu de la dent », cette discipline s'intéresse à l'anatomie de l'endodonte. Cette connaissance permet de prendre en toute connaissance de cause, les meilleures décisions cliniques pour la réussite du traitement de la dent, c'est aussi l'une des disciplines les plus complexes à maîtriser en odontologie de part la complexité et les particularités du réseau endodontique <sup>(1)</sup>.

Lorsqu'une lésion carieuse se développe sur une dent, en l'absence de traitement, va détruire progressivement l'intégrité de l'organe dentaire jusqu'à atteindre la pulpe et causer une atteinte irréversible qui impose de réaliser un traitement endodontique. Ce traitement consiste en une action mécanique et une action chimique sous forme d'irrigations et de médications temporaires, qui permet d'éliminer l'ensemble des débris inorganiques et organiques pulpaire et à obturer les canaux dentaires afin d'obtenir un scellement correct de l'ensemble du réseau canalaire<sup>(2)</sup>. Il est à noter que l'infection endodontique représente la principale cause de consultation dentaire en urgence et que son traitement, qui est le traitement endodontique, est l'acte le plus fréquent en pratique quotidienne, ceci renseigne sur la place qu'occupe la pathologie endodontique en Odontologie conservatrice endodontie <sup>(3)</sup>.

Malgré l'augmentation des approches thérapeutiques et les innovations récentes en matière de technique, matériel et matériau, ce traitement reste très difficile à réaliser et fait souvent l'objet d'échec directement liés à la persistance de bactéries au sein d'une anatomie canalaire complexe, se manifestant sous forme d'infection endodontique secondaire ou bien récurrente. La bactérie la plus incriminée et le plus souvent retrouvée lors des échecs des traitements endodontiques est *Enterococcus faecalis* qui possède une résistance remarquable à plusieurs moyens de notre arsenal thérapeutique<sup>(3)</sup>.

En Europe, les échecs de traitement endodontiques, ont une prévalence qui varie de 52,2% à 61%, nécessitent une prise en charge délicate qui consiste en la reprise du traitement endodontique initial engendrant des répercussions médicales, économiques et psychologiques lourdes <sup>(3,4)</sup>.

Il n'est plus à démontrer que les vitamines ont un rôle essentiel dans le maintien de la santé orale et générale, efficaces même en infimes quantités d'apports journaliers, particulièrement la vitamine C, vitamine hydrosoluble, qui a prouvé son effet bénéfique comme antiviral et comme anticancéreux <sup>(5)</sup>.

Ce travail a pour objectif l'étude de l'effet de la vitamine C sur *Enterococcus faecalis* associé à l'échec des traitements endodontiques. Il contient une synthèse bibliographique regroupant un rappel sur l'endodonte, dans sa physiologie et pathologie, la vitamine C et ses propriétés ainsi qu'une partie pratique représentée par l'essai au laboratoire de l'effet de la vitamine C sur des souches d'*Enterococcus faecalis*.

**Partie**  
**bibliographique**

## 1. L'endodonte

### 1.1. L'anatomie et physiologie

Le système endodontique ou endodonte est un espace situé au centre de la dentine qui contient la pulpe. Il est composé d'une partie coronaire où se trouve la chambre pulpaire qui contient la pulpe camérale, et d'une partie radiculaire où se trouve le canal principal ou les canaux principaux ainsi que les canaux accessoires qui contiennent la pulpe radiculaire. La pulpe émerge de la racine par les foramina apicaux <sup>(6)</sup>(Figure 1).

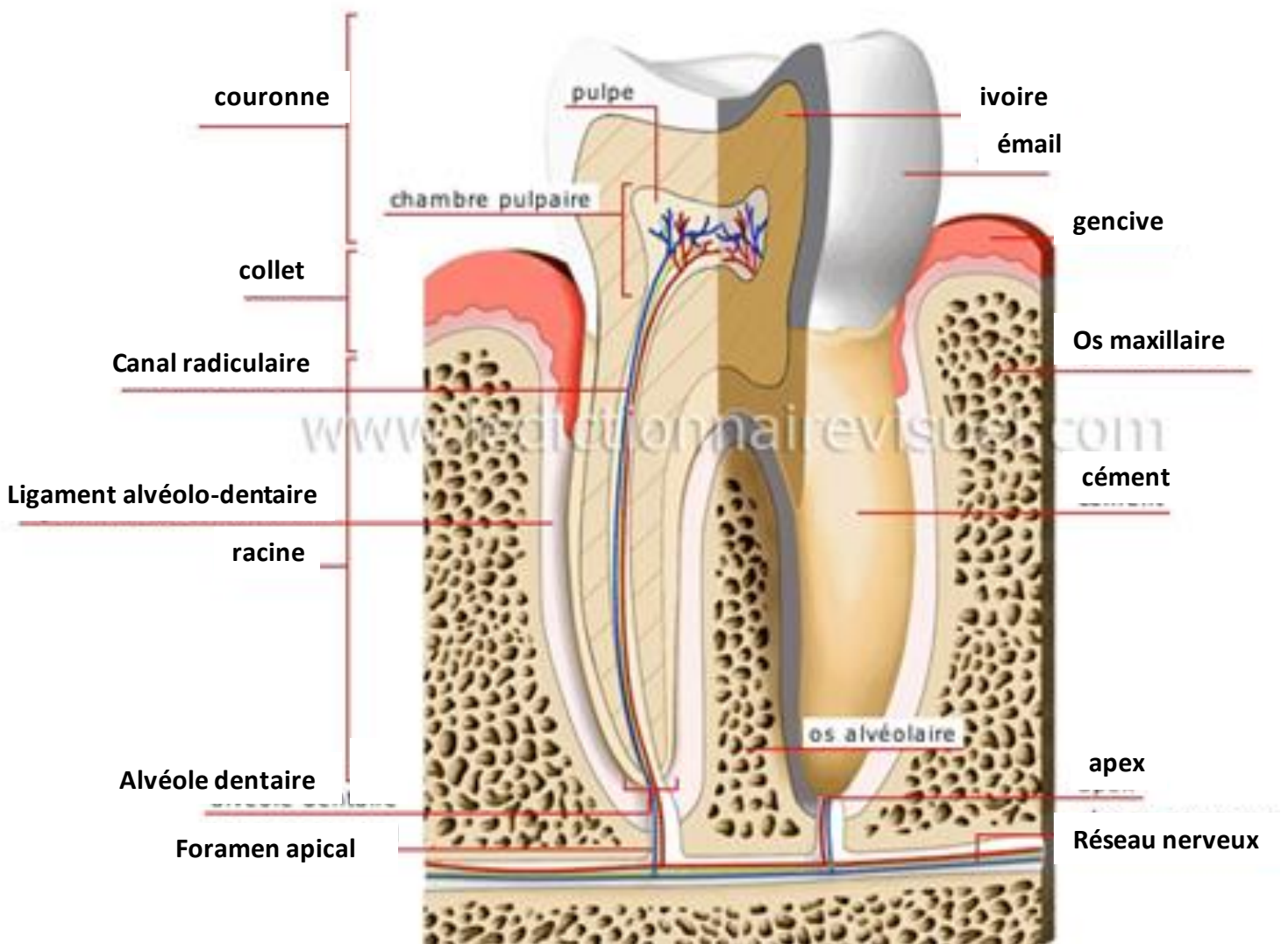


Figure 1: Schéma des principaux composants anatomiques de l'endodonte<sup>(7)</sup>

La chambre pulpaire occupe le centre de la couronne dentaire. Sa forme est homothétique à la forme de la couronne <sup>(8)</sup>. Dans la partie la plus coronaire de cette dernière se situent les cornes pulpaires. Pour les dents postérieures, à chaque cuspide



correspond une corne. Pour les dents antérieures, il existe une corne mésiale, une corne médiane et une corne distale<sup>(9)</sup>(Figure 2).

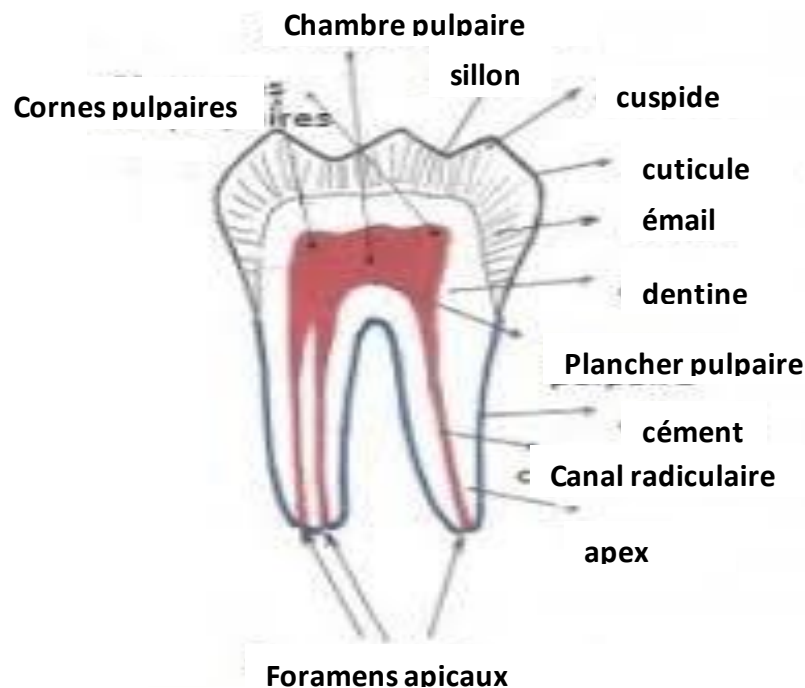


Figure 2 : Schéma représentant l'endodonte d'une dent pluriradiculée<sup>(10)</sup>

L'anatomie des canaux radiculaires est complexe avec de nombreuses variations anatomiques.

**Vertucci** a défini en 1974 une classification regroupant les huit configurations possibles du réseau canalaire <sup>(11, 12)</sup>(Figure 3) :

- Type I : Un seul canal avec un seul orifice et un seul foramen apical (1-1).
- Type II : Deux canaux se rejoignant en un seul canal et présentant une seule sortie foraminale (2-1).
- Type III : Canal unique se divisant en deux dans la partie moyenne ; les deux canaux se rejoignent dans le tiers apical (1-2-1).
- Type IV : Deux canaux restant distincts jusqu'au tiers apical (2-2).
- Type V : Un canal se divisant en deux canaux dans le tiers moyen ou apical (1-2).

## Chapitre 2 Les infections endodontiques récidivantes à *Enterococcus faecalis*

Type VI : Deux canaux se rejoignant dans le tiers moyen puis se redivisant dans le tiers apical (2-1-2).

Type VII : Un seul canal se divisant, puis se rejoignant et se divisant à nouveau (1-2-1-2).

Type VIII : Trois canaux restant distincts jusqu'au tiers apical (3-3).

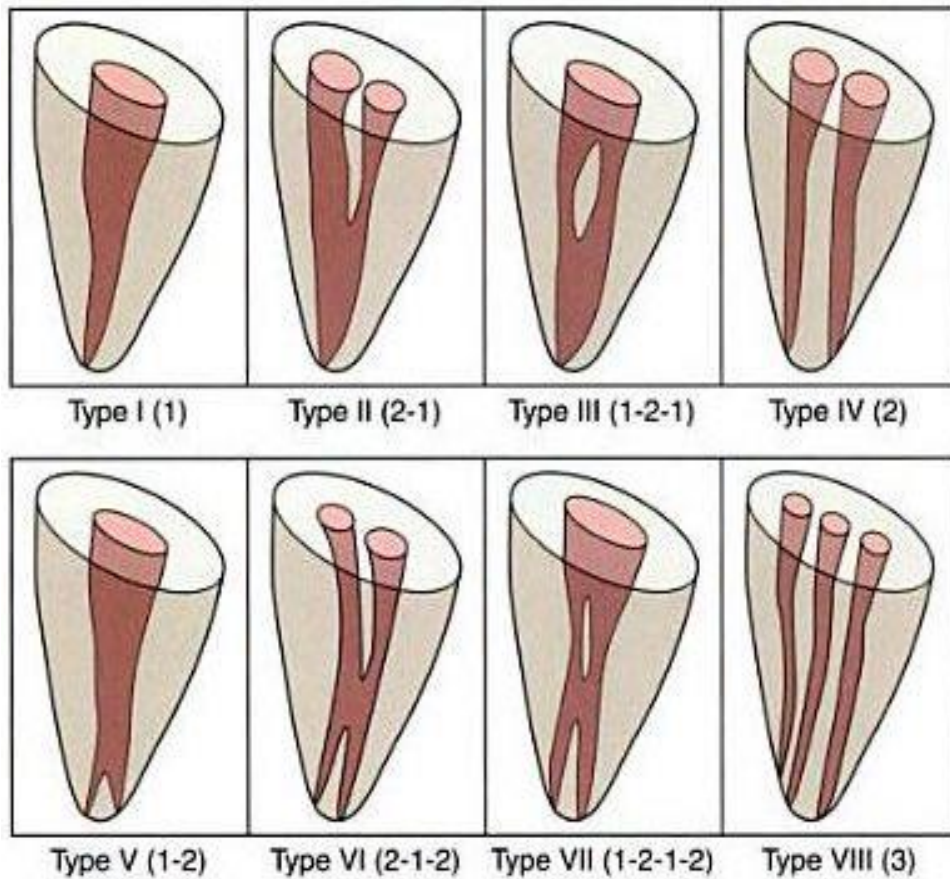


Figure 3 : Classification des configurations canalaires selon Vertucci 1974<sup>(13)</sup>

En 1994, **Weine** a proposé une autre classification pour décrire la morphologie canalaire <sup>(14)</sup>(Figure 4) :

- Type I : Un seul canal partant de la chambre pulpaire jusqu'à l'apex.
- Type II : Deux canaux quittant la chambre pulpaire et se réunissant en un seul canal à proximité de l'apex.
- Type III : Deux canaux séparés et distincts de la chambre pulpaire jusqu'à l'apex, se terminant par deux foramens apicaux différents.
- Type IV : Un canal quittant la chambre pulpaire et se divisant à proximité de l'apex en deux canaux séparés et distincts avec des foramina apicaux différents.

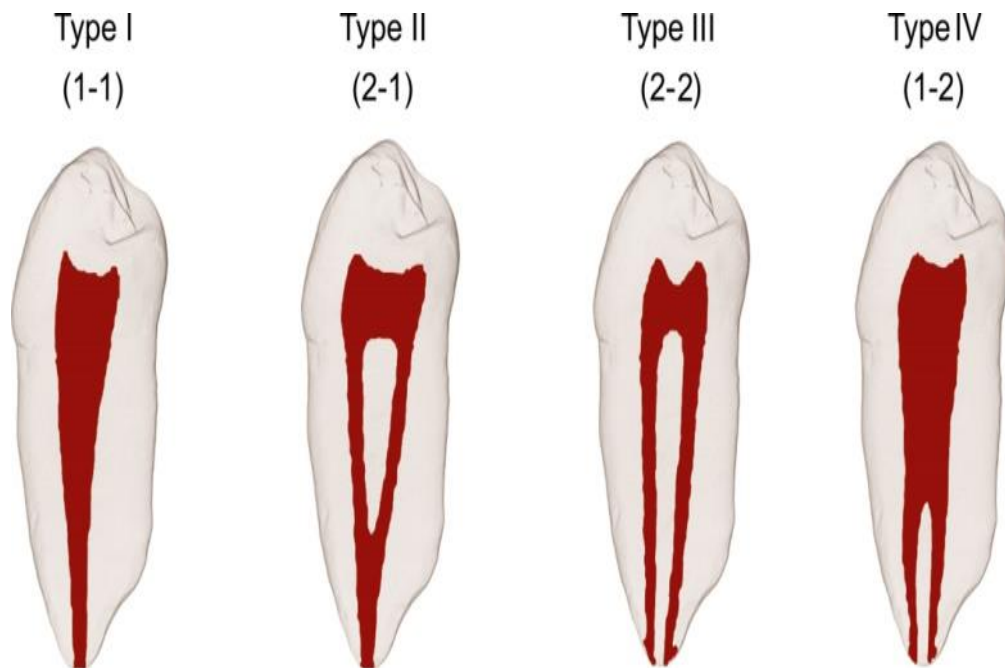


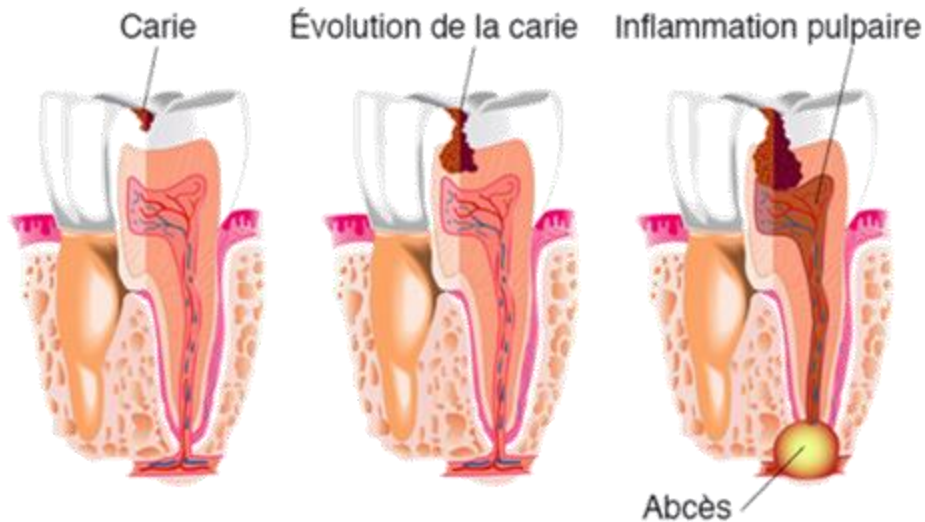
Figure 4 : Schéma représentant les quatre types de configuration canalaire selon la classification de Weine 1994<sup>(15)</sup>

Il est à noter qu'en présence de conditions physiologiques, la dentinogénèse se poursuit tout au long de la vie de la dent et entraîne une réduction du volume de la cavité pulpaire, pouvant aller à l'extrême jusqu'à sa disparition. Le maximum de dépôt s'effectue aux dépens du plancher pulpaire puis du plafond<sup>(16)</sup>.

## **1.2. La pathologie infectieuse périapicale de l'endodonte**

La carie dentaire est la pathologie la plus répandue dans le monde. C'est une pathologie infectieuse qui va déminéraliser les tissus durs de la dent et provoquer leur destruction.

Après l'atteinte de l'émail, la pathologie va s'étendre à la dentine. A ce stade, les bactéries vont pouvoir coloniser les tubulis dentinaires et proliférer jusqu'à la pulpe: il se développe alors une maladie pulpaire. A ce stade, si on entreprend pas un traitement endodontique, les bactéries vont continuer à progresser dans le système canalaire et provoquer une infection des tissus parodontaux apicaux appelée : parodontites péri-apicales<sup>(2)</sup>(**Figure 5**).



**Figure 5 : Schéma représentant l'évolution de la carie vers la parodontite apicale aiguë<sup>(17)</sup>**

Pour se défendre l'hôte déclenche un processus immunologique afin de contrer l'agression des bactéries du canal au niveau apical, ce qui aboutit à la formation d'une lésion inflammatoire péri-radicaire d'origine endodontique (LIPOE) ou parodontite apicale aiguë (PAA)<sup>(18)</sup>. A la suite de cette réponse initiale aiguë de l'hôte, plusieurs évolutions sont possibles :

Une exacerbation de l'inflammation : transformation de la parodontite apicale aiguë (PAA) en un abcès apical aigu (AAA). Celui-ci peut évoluer en fistulisation et se drainer, ce qui entraîne une diminution des symptômes. Cependant, en l'absence de traitement, l'infection localisée peut devenir diffuse : des signes cliniques de cellulites et des signes généraux tels que fièvre et adénopathies peuvent alors apparaître<sup>(19, 20)</sup>. Ou alors on assiste à une évolution vers la chronicité et un équilibre s'installe entre les défenses de l'hôte et les attaques bactériennes<sup>(21)</sup>. La lésion péri-apicale prend alors la forme de lésion encapsulée sous forme de granulome ou de kyste. Ce fragile équilibre peut se rompre, ce qui provoque une poussée inflammatoire aiguë au sein de la phase chronique : l'abcès secondaire<sup>(19, 22)</sup>. La flore incriminée lors de ces pathologies est une flore agressive protéolytique, anaérobie, pouvant survivre avec un faible apport nutritif, et plus difficile à éliminer que celle présente dans la partie coronaire du canal infecté<sup>(19, 22, 23)</sup>. Le type d'espèces retrouvées, leur virulence, leur nombre et leur synergisme sont variables d'une parodontite apicale à une autre<sup>(24)</sup>.

### 1.3. Le traitement de la pathologie infectieuse de l'endodonte

Deux termes « Cleaning and shaping » ou le nettoyage et la mise en forme du système canalaire dans sa totalité. Ce sont les principes de l'endodontie exposés il y a plus de 103 décennies par **Schilder**. En éradiquant les bactéries et leurs toxines du système canalaire ainsi que tous les débris susceptibles de servir de support et de nutriments à la prolifération bactérienne, on va prévenir ou éliminer l'infection. La finalité du traitement est d'obtenir une obturation tridimensionnelle complète de l'endodonte. Pour terminer avec la reconstitution coronaire qui complète l'étanchéité du système endodontique et qui joue un rôle important dans le succès à long terme du traitement<sup>(2, 3, 25)</sup>.

#### Le parage canalaire

Après une radiographie préopératoire, une reconstitution pré-endodontique est réalisée et la digue est posée, vient ensuite l'étape la plus importante de la cavité d'accès endodontique ayant pour but de faciliter le travail des instruments endodontiques utilisés, d'éviter leur fracture et d'assurer un réservoir constant de solution d'irrigation, tout en éliminant les contraintes corono-radicales<sup>(2, 3, 26, 27)</sup>. La préparation canalaire proprement dite est entreprise tout de suite après, ce qui permet la mise en forme du

canal radiculaire, son nettoyage par la solution de désinfection et l'obturation canalaire<sup>(2, 3, 25, 26)</sup>. En utilisant une multiplicité de systèmes d'instruments, citant par exemple les instruments manuels tel que le système NiTi (Nickel Titane) et les instruments rotatifs là où plusieurs gammes sont disponibles comme les PathFiles<sup>®</sup> (Dentsply Maillefer), le Proglider<sup>™</sup> (Dentsply Maillefer) et les Race ISO 10 (FKG), les instruments utilisés dans la technique de «Instrument unique et réciprocité». Il existe aujourd'hui plusieurs gammes disponibles sur le marché citant : le système Reciproc<sup>®</sup> (Dentsply VDW) et le système Wave One<sup>™</sup> (Dentsply Maillefer)<sup>(3, 25, 27)</sup> (Figures 6 et 7).



Figure 6 : Iconographie représentant le système Reciproc<sup>(28)</sup>

# PathFile<sup>®</sup>



Figure 7 : Iconographie représentant le système PathFile<sup>(29)</sup>

Il existe deux types de désinfection canalaire ; une immédiate sous forme d'irrigation canalaire et une autre extemporanée qui est une médication intra-canal.

**L'irrigation canalaire :** c'est l'irrigation qui va pallier aux manques de l'instrumentation<sup>(30)</sup>. Les variabilités, les particularités ainsi que la complexité anatomique du système canalaire vont constituer des milieux favorables à la prolifération et à la survie bactérienne. Ainsi que pourraient abriter des restes de tissus nécrotiques pulpaire que l'instrumentation en Nickel-Titane (ou NiTi) de préparation mécanique ne pourra plus l'atteindre (ce qui fait que plus de 35% de l'aire canalaire serait non instrumentée)<sup>(25, 31-33)</sup>. La solution d'irrigation canalaire doit répondre à certaines critères : un large spectre antibactérien, un effet antibactérien à long terme appelé effet de rémanence, une pénétration aisée et efficace du système canalaire complet, une dissolution rapide et totale des contenus canaux organiques et inorganiques, la capacité d'inactiver les endotoxines, mais surtout ne doit pas présenter de risques pour le patient : risque antigénique, toxique voir carcinogénique, risque allergique ou un risque corrosif. La solution doit également pouvoir être manipulée aisément par le praticien et ne pas représenter un coût important <sup>(25, 30, 34)</sup>. Les solutions d'irrigations disponibles sont :

L'hypochlorite de sodium : est actuellement la solution d'irrigation de choix, la plus utilisée par les médecins dentistes. Elle possède un large spectre antibactérien et un effet solvant sur les tissus organiques et le biofilm à partir d'une concentration de 2,5%<sup>(2, 25, 30)</sup>.

La chlorhexidine à 0.12% : antiseptique, possédant un large spectre antibactérien utilisé sous forme de chlorhexidine gluconate<sup>(35-38)</sup>.

L'EDTA : (acide éthylène diamine-tétraacétique) : est un agent chélatant, sous forme liquide (8 et 17% d'EDTA) ou gel (15% d'EDTA et de 10% peroxyde de carbamide), il optimise l'action des solutions désinfectantes telles que l'hypochlorite de sodium par l'élimination de la «smear layer» et l'ouverture des tubuli dentinaires <sup>(2, 39, 40)</sup>. Il existe d'autre solution d'irrigation tel que : l'acide citrique et le sérum physiologique<sup>(2)</sup>.

L'irrigation peut être effectuée d'une manière manuelle, passive, simple, consiste à introduire la solution dans les canaux à l'aide d'une seringue et d'une aiguille appropriée, qui sera déplacée par l'opérateur selon un mouvement corono apical de



faible amplitude, en prenant garde à ne jamais bloquer l'aiguille dans le canal. Ou bien d'une manière manuelle dynamique : en fin de préparation et après calibrage du ou des maîtres cônes de gutta-percha, un cône de conicité et de diamètre équivalent est utilisé pour activer la solution d'irrigation par des mouvements de va-et-vient rapides de faible amplitude (2-3 mm), générant des modifications de la pression intra-canalair, permettant une meilleure circulation et renouvellement du liquide. De même, l'irrigation peut être activée en utilisant un instrument endodontique fixé sur une pièce à main sonore possédant une fréquence d'oscillations comprise entre 1 et 6 kHz. L'inconvénient principal de cette technique est le risque que l'instrument endommage les parois canalaire. Il existe également une méthode d'activation ultrasonique qui consiste à activer le liquide par la mise en place d'une lime vibrant à une fréquence de 20 000 Hz sans modification de la préparation canalaire<sup>(27)</sup>.

### **Désinfection extemporanée**

Est une médication canalaire avec un effet moins fort mais plus important dans le temps par rapport à une solution d'irrigation.

L'hydroxyde de calcium : agent antiseptique, antimicrobien et blanchissant, possède un pH alcalin proche de 12,4. Il joue un rôle efficace dans la dissolution de la boue dentinaire puisqu'il diffuse très bien dans les tubulis dentinaires. Cependant, il se résorbe rapidement et donc doit être fréquemment renouveler<sup>(3, 41)</sup>.

Le MTAD : (mixture de tracycline citric acid and detergent) antibiothérapie locale, est composé de doxycycline auquel a été ajouté un tensioactif émulsifiant, le Tween 80 et de l'acide citrique. Sa composition est proche de l'EDTA et sa particularité est que c'est un agent chélatant qui se présente sous la forme d'un antibiotique topique avec un pH acide de 2,5<sup>(2, 34)</sup>.

### **1.4. L'échec de traitement endodontique ou l'infection endodontique persistante**

A la suite d'un traitement endodontique, trois (03) scénarios différents sont possibles : soit un succès établi, un échec potentiel ou un échec avéré. Les signes cliniques et radiologiques caractérisant un échec de traitement endodontique sont les suivants :



**Tableau 1: Les signes cliniques et radiologiques pouvant caractériser un échec de traitement endodontique<sup>(3)</sup>.**

Signes cliniques	Signes radiologiques
<ul style="list-style-type: none"><li>- Persistance de symptômes après traitement canalair.</li><li>- Fistule ou tuméfaction récurrentes.</li><li>- Douleur à la percussion ou à la palpation, gêne à la mastication.</li><li>- Mobilité excessive ou destruction évolutive des tissus de soutien.</li><li>- Impotence fonctionnelle de la dent.</li><li>- Sinusite en rapport avec la dent traitée.</li><li>- Adénopathie, fièvre.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Augmentation de la largeur de l'espace desmodontal (&gt; 2 mm).</li><li>- Absence de réparation osseuse ou augmentation de taille de la raréfaction osseuse.</li><li>- Absence de nouvelle lamina dura ou augmentation significative de la densité osseuse des tissus péri-radicaux.</li><li>- Apparition de nouvelles zones de raréfactions osseuses péri-radicaux (raréfactions latérales).</li><li>- Espace canalair visiblement non obturé ou présence de vide au sein de l'obturation.</li><li>- Extrusion excessive de matériaux d'obturation dans le péri-apex avec des vides manifestes dans la portion apicale du canal.</li><li>- Signes de résorption dentaire active associés à d'autres signes d'échecs radiographiques.</li></ul>

### 1.4.1. La complexité de l'anatomie canalair

La complexité anatomique des canaux va rendre leur mise en forme plus délicate et donc compliquer la pénétration des solutions d'irrigation permettant leur désinfection<sup>(42)</sup>.

#### 1.4.1.1. Nombre de canaux

L'anatomie canalair des dents postérieures est plus complexe que celle des dents antérieures. En effet, les dents postérieures comportent plusieurs canaux qui compliquent le travail de mise en forme. De plus, la position très postérieure des molaires sur l'arcade dentaire augmente la difficulté d'accès et donc de préparation canalair<sup>(42)</sup>.

#### 1.4.1.2. Courbures canalaires

L'étude menée par **Nguy et Sedgley (2006)** sur l'influence de la courbure canalair et l'efficacité mécanique de l'irrigation celle-ci démontre que l'irrigation était significativement moins efficace sur les dents présentant une courbure canalair importante<sup>(43)</sup>. En effet, plus le degré de courbure canalair augmente ; plus l'accès à la longueur de travail est difficile. Plus la courbure, commence à distance de l'apex, plus la préparation canalair est irrégulière. Or, l'irrigation sera moins efficace sur un canal mal préparé<sup>(42)</sup>.

### **1.4.1.3. Calcifications canalaires**

Les calcifications résultent en des irrégularités morphologiques et des obstructions du canal<sup>(42)</sup>. La taille de la préparation va jouer un rôle sur l'efficacité des solutions d'irrigations dans l'élimination bactérienne et de la smear layer. Plus le diamètre de préparation est important et plus l'irrigation pénétrera efficacement le système endocanalinaire. Or, si le canal est obstrué par des calcifications, la préparation canalinaire s'avère plus délicate et ne pourra atteindre une taille adéquate, au risque de fragiliser le canal <sup>(44)</sup>.

### **1.4.1.4. Canaux latéraux et accessoires**

Sur les dents mono-radiculées, la présence d'un second canal est exceptionnelle mais la présence de canaux latéraux est, quant à elle, beaucoup plus fréquente. Les canaux latéraux vont être une source de nutriments endogènes pour les bactéries colonisant le système endodontique. L'infection peut ainsi s'étendre par les tubulis dentinaires et les canaux latéraux ou accessoires du réseau canalaire. Les systèmes de préparation canalaire ne permettant pas d'accéder à ces canaux comme aux tubulis dentinaires, la préparation des canaux principaux va permettre d'éliminer la couche de dentine infectée et ainsi permettre la désinfection de ces canaux par une irrigation abondante (45).

### **1.4.2. La cause iatrogène lors de la préparation et de l'obturation canalaire**

Une technique d'asepsie inadéquate, une cavité d'accès mal dessinée, un canal endodontique oublié lors du parage canalaire, une instrumentation non adaptée et des restaurations temporaires ou définitives manquants d'étanchéité sont la cause de la persistance ou l'émergence d'une flore bactérienne endodontique, l'origine d'un échec de traitement endodontique(2, 3)

## **2. Les infections endodontiques récidivantes à *Enterococcus faecalis***

La cause la plus commune des échecs de traitements endodontiques est la persistance d'une infection intra-radiculaire primaire ou la difficulté de supprimer le biofilm bactérien endodontique dans la portion apicale du canal(46).

La flore bactérienne endodontique isolée lors d'un échec de traitement est différente de celle retrouvée lors d'une infection endodontique primaire(46). Cette flore est essentiellement constituée de bactéries à Gram + anaérobies facultatives, elles sont plus résistantes et ont une meilleure capacité d'adaptation face aux modifications environnementales avec une croissance rapide (47), contrairement à la plupart des bactéries aérobies qui ne survivent pas dans un canal obturé (46). En plus des bactéries à Gram+, représentées uniquement par des bactéries résistantes telles que les streptocoques et enterocoques(46, 48), une grande variété de microorganismes est également présente tel que les bactéries à Gram-, représentées par *Fusobacterium nucleatum* et *Prevotella intermedia*(41, 46, 48), ainsi que les levures(3). Nous citons par ordre de fréquence décroissant : *Enterococcus faecalis*, *Streptocoques*, *Pseudomonas*

*aeruginosa*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Candida*, *Actinomyces*<sup>(41, 46, 48)</sup>.

La nomination : *Enterococcus faecalis* vient du latin : *faex*, qui signifie fèces <sup>(49)</sup>. Les entérocoques issus de la famille des *Enterococcaceae*, appartiennent, pour la plupart, au groupe sérologique D de la classification de **Lancefield**<sup>(50)</sup>. Ce sont des bactéries à Gram positif, anaérobies facultatives, oxydase et catalase négatives, non-sporulantes, de 0,5–0,9 µm, pouvant être en coques isolées, en paires ou en courtes chaînes, immobiles. Elles ont une température de croissance optimale de 35°C<sup>(51-53)</sup>(**Figure8**).

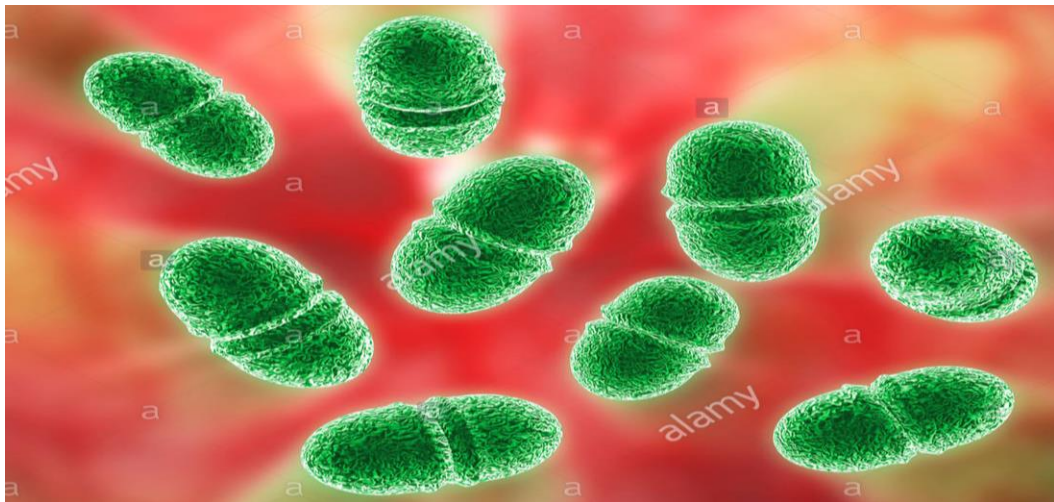


Figure 8 : Iconographie représentant la bactérie *Enterococcus faecalis*<sup>(54)</sup>

Les entérocoques sont des bactéries ubiquistes, présentes dans différentes niches écologiques<sup>(55, 56)</sup>, parmi elles, la cavité buccale où elles représentent l'espèce la plus communément isolées lors d'une persistance de l'infection après un traitement endodontique<sup>(57-60)</sup>. La prévalence des différentes espèces d'entérocoques semble varier selon l'hôte et est aussi influencée par l'âge, l'alimentation et d'autres facteurs qui peuvent être reliés aux changements des conditions physiologiques notamment les maladies sous-jacentes et thérapie antérieure aux antimicrobiens <sup>(61)</sup>. De nombreuses études ont établi que *E.faecalis* est l'espèce la plus communément retrouvée parmi les entérocoques <sup>(62, 63)</sup>. En raison de ses capacités de résistance, cette bactérie est communément utilisée comme indicateur de contamination fécale afin de tester la qualité hygiénique des échantillons environnementaux <sup>(64)</sup>. Les infections liées à *E. faecalis* varient d'une simple infection aux pathologies potentiellement mortelles, principalement attribuées à plusieurs facteurs de virulence caractéristiques de *E. faecalis*

et qui ont pour rôle : l'adhérence aux cellules hôtes, l'invasion des tissus, la modulation de la réponse immunitaire et l'induction des dommages par l'intermédiaire de toxines<sup>(65)</sup>. De part sa virulence, cette bactérie est difficile à éradiquer avec nos procédures de détersion chimiques et mécaniques, contrairement aux autres espèces colonisant l'espace canalaire, elle persiste et se multiplie après obturation canalaire et pendant les phases de médication temporaire. Elle prend la place des espèces ne survivant pas à nos traitements. Dès lors qu'*Enterococcus faecalis* envahit l'endodonte et fait preuve d'une résistance extrême<sup>(3)</sup>, due à sa capacité de survivre dans des conditions normalement létales pour d'autres micro-organismes : un milieu très salé (6,5% NaCl), une large gamme de pH, une large gamme de température (10 à 60°C)<sup>(3)</sup>, une période de privation de nutriments durant laquelle *Enterococcus faecalis* conserve la capacité d'adhésion aux parois canalaire et notamment la capacité d'invasion des tubulis dentinaires. Il peut rester un an dans un canal obturé et à partir du moment où il retrouve des nutriments, il peut continuer à exprimer une certaine virulence et donc à entretenir ou faire naître une infection péri-apicale. La présence ou non d'oxygène n'altère en rien la survie de la bactérie. Elle a une faible sensibilité aux agents antimicrobiens et est capable de les inactiver. Les bactéries se mettent dans un état où elles sont vivantes mais difficiles à mettre en évidence car faiblement actives métaboliquement. Elles restent virulentes. Cet état de quiescence fait partie des mécanismes de résistance mis en œuvre par les bactéries pour résister à un stress environnemental. Elles peuvent sortir de cet état et ressusciter<sup>(66)</sup>. *Enterococcus faecalis* est également capable d'interagir avec la dentine péri-canalaire. Après formation d'un biofilm endodontique, il a été démontré que cette bactérie est capable d'induire une dissolution de la fraction minérale de la dentine grâce à ses toxines. Il se produit parallèlement une augmentation du pH canalaire (il passe de 7,1 à 8,2). Cette bactérie induit une réprécipitation des minéraux de la dentine au niveau du biofilm. L'augmentation locale de la concentration en ions calcium et phosphates est responsable d'une calcification du biofilm et rend cette bactérie super-résistante voire intouchable. La dégradation de la surface dentinaire par les produits métaboliques bactériens apparaît dès que la quantité de nutriments canalaire devient insuffisante<sup>(67)</sup>. Elle présente également une résistance à plusieurs antibiotiques, dont la vancomycine «ERV»<sup>(65, 68-71)</sup>. Toutes ces caractéristiques rendent cette bactérie plus tenace face à nos traitements qu'ils soient chimiques ou mécaniques<sup>(72)</sup>.

### 3. La vitamine C et infection endodontique

Les vitamines sont des substances organiques, sans valeur énergétique propre, agissant à faible dose. Parmi elles, la vitamine C ou acide L-ascorbique, qui est un composé organique chimiquement très proche du glucose et très répandue dans le monde vivant<sup>(28, 73-76)</sup>.

Sa formule brute est  $C_6H_8O_6$ , nommée aussi :Acide ascorbique , se présente sous forme d'une poudre de granulométrie variable, très soluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol et insoluble dans l'éther<sup>(77)</sup>(Figure 9).

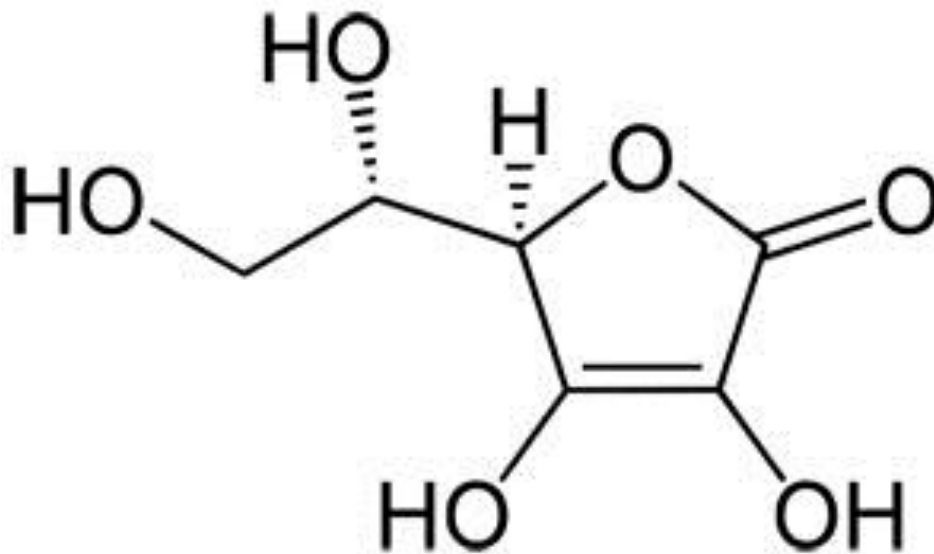


Figure 9 : Structure chimique de la vitamine C<sup>(78)</sup>

La vitamine C est essentielle au maintien de la santé générale, étant donné qu'au cours de son évolution l'être humain a perdu la capacité d'en synthétiser, puisqu'il ne possède pas l'enzyme hépatique nécessaire à la biosynthèse de l'acide ascorbique qui est la L-gulonogamma-lactone-oxydase, ce qui nécessite un apport exogène. On la retrouve essentiellement dans les fruits, les légumes ou bien sous forme de complément alimentaire issu du procédé de fabrication Reichstein (un procédé chimique pour la production de l'acide ascorbique à partir du D-glucose)<sup>(76, 77, 79-82)</sup>. Depuis que **Szent-Gyorgi** a reconnu la vitamine C comme remède du scorbut en 1932, de nombreuses études ont été menées pour élucider ses diverses propriétés biologiques, qui proviendraient de sa propriété chimique d'agent réducteur<sup>(83, 84)</sup>. Ses propriétés auraient

une incidence sur de nombreuses maladies<sup>(85)</sup>, un apport quotidien de cette vitamine réduirait le risque de l'arthrite, l'asthme, la cataracte et les accidents vasculaires cérébraux<sup>(83, 86)</sup>. De nombreuses études ont démontré et évalué son action antibactérienne due à sa capacité à inhiber les bactéries pathogènes et les biofilms, notamment un effet inhibiteur sur la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*<sup>(83, 87, 88)</sup> *Helicobacter pylori*, *Campylobacter jejuni*<sup>(83, 89)</sup>, *Mycobacterium tuberculosis*<sup>(83, 90)</sup>. Il réduit les effets cytotoxiques et apoptotiques de *Porphyromona gingivalis* sur le HGF (human gingival fibroblasts-fibroblastes gingivaux humains)<sup>(91)</sup>. L'ascorbate de sodium (acide ascorbique + Bicarbonate de sodium) pourrait fonctionner comme modulateur de signal et inhibiteur de virulence chez *Pseudomonas aeruginosa*<sup>(92)</sup>. L'application d'acide ascorbique en combinaison avec l'acide lactique, pourrait avoir le potentiel d'inhiber la croissance d'*Escherichia coli* dans les aliments en tant que conservateur<sup>(93)</sup>. L'ajout de vitamine C peut être utile pour l'élimination des biofilms bactériens ceci est évalué sur les biofilms des souches de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes* isolées de la nourriture<sup>(94)</sup>. D'autres études ont démontré qu'un mélange de miel et de Vit C était partiellement efficace contre *Enterococcus faecalis*, alors que le miel seul ne présentait aucune activité antibactérienne contre cette bactérie<sup>(95)</sup>.

La vitamine C a de même un effet inhibiteur sur les champignons comme *Aspergillus*<sup>(83, 96)</sup>. Elle potentialise les activités antifongiques de l'honokiol contre *Candida albicans*<sup>(97)</sup>.

D'autres études *in vitro* ont montré que la vitamine C peut améliorer l'effet inhibiteur des antibiotiques tel que la lévofloxacine (Quinolone)<sup>(83, 98)</sup> et l'azithromycine<sup>(99)</sup>.

Des recherches ont souligné la relation entre la vitamine C et les maladies parodontales, leurs études épidémiologiques indiquent qu'une faible concentration de cette vitamine dans le plasma est un facteur de risque de parodontite, ainsi que sa carence peut aggraver la maladie<sup>(100, 101)</sup>. Ils ont également constaté que l'acide ascorbic détoxifie l'histamine dans les inflammations gingivales (gingivite)<sup>(102, 103)</sup>. En odontologie conservatrice endodontie la Vitamine C était liée au risque de carie, ce paramètre salivaire peut être utilisé comme indicateur d'une activité carieuse élevée et d'un risque de carie chez les enfants en bonne santé<sup>(104)</sup>. La vit C a également un rôle crucial dans le maintien du collagène, un peptide essentiel à la construction du tissu conjonctif retrouvé

---

dans la substance organique des os et des dents, et jouant un rôle essentiel dans la réparation et la cicatrisation des blessures (28, 73, 83, 105-108). Récemment la vitamine C fait l'objet de plusieurs recherches d'étude du cancer, elle joue un rôle antioxydant très important appelé aussi effet tumoricide de l'ascorbate (rôle protecteur et de défense), elle a déjà prouvé son activité dans le traitement du cancer (83, 85, 109). Une concentration minimale de vitamine C est essentielle au bon fonctionnement des mécanismes de défense de l'hôte, son administration permet d'améliorer la fonction immunitaire en favorisant et renforçant les activités des cellules natural killer, la prolifération ainsi que l'activation des fonctions cellulaires des lymphocytes T et B, le développement des cellules immunitaires<sup>(110-112)</sup> et la chimiotaxie<sup>(113-116)</sup>. Plusieurs études expérimentales ont démontré qu'une carence (induite) en vitamine C, réduit la réponse cellulaire (113, 117, 118). Les concentrations de vitamine C dans les cellules immunitaires telles que les leucocytes sont de 10 à 100 fois plus élevées que celles mesurées dans le plasma<sup>(119)</sup>. Et le fait que ces cellules accumulent de la vitamine C en fonction d'un gradient de concentration souligne davantage l'importance immunitaire de cette vitamine<sup>(120, 121)</sup>. Outre ses propriétés anti-inflammatoires (105, 109, 122, 123).

Actuellement, la vitamine C est le supplément vitaminique le plus utilisé dans le monde car il est bon marché, facilement accessible et n'a que peu ou pas d'effets négatifs<sup>(83, 84)</sup>.



## Problématique

La fréquence des échecs du traitement endodontique, même si elle reste minime, elle n'en demeure pas moins contraignante, puisque l'échec implique le plus souvent une reprise du traitement endodontique qui peut s'avérer problématique pour le patient, car elle engendre un coût économique supplémentaire, une perte de temps sans oublier les risques encourus lors du retraitement qui pourraient compromettre la longévité de la dent sur l'arcade.

La vitamine C, en plus de ses propriétés antioxydantes, antiscorbutique et immunomodulatrice, a prouvé son efficacité comme molécule antibactérienne, antivirale et antifongique sur de nombreux micro-organismes, tout en étant entièrement inoffensive vis à vis de l'organisme, même en cas de surdosage, avec un cout économique assez abordable.

Suite à la réalisation de la revue de la littérature, nous constatons qu'il existe très peu d'études portants sur l'effet de la vitamine C sur la bactérie *Enterococcus faecalis* responsable d'infections buccales de même une absence d'étude Algérienne à ce sujet, nous avons jugé utile et intéressant de faire un essai thérapeutique évaluant l'effet de la vitamine C sur *Enterococcus faecalis* responsable des échecs de traitement endodontiques. Le tout dans une perspective d'utilisation de nouvelles substances naturelles pour l'amélioration du traitement endodontique, et plus précisément lors de l'irrigation canalaire, afin de diminuer la prévalence des infections endodontiques persistantes à *Enterococcus faecalis*.

# **Matériel et méthodes**

## Matériel et méthodes

### 1. Lieu et type de l'étude

Il s'agit d'un essai thérapeutique *in vitro* mené au Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire Biomédical et à l'Environnement «LAMAABE», de la faculté de biologie SNV/STU - Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen – Algérie sur une période allant de Aout 2019 à Décembre 2019. Cette contribution a pour :

#### a-Objectif principal

Déterminer l'effet de la vitamine C sur la croissance *Enterococcus faecalis*.

#### b-Objectif secondaire:

Projet d'utilisation de la vitamine C comme solution d'irrigation endodontique.

### 2. La souche bactérienne

La souche utilisée dans cette étude est une souche de référence *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (American Type Culture Collection) qui nous a été donnée par le laboratoire LAMAABE.

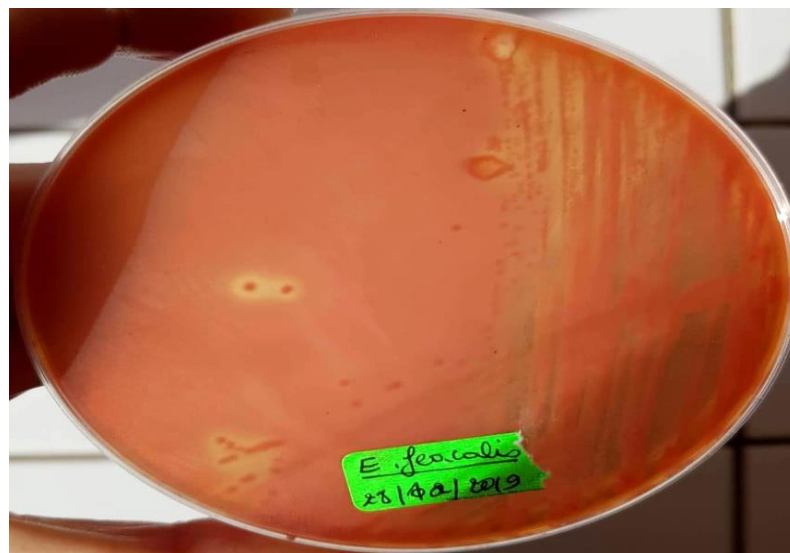


Figure 10 : Iconographie représentant la souche de référence d'*Enterococcus faecalis*.

### 3. Revivification de la souche d'étude

Afin de poursuivre cette étude, une re-confirmation de l'identification de la souche *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 était nécessaire ; pour cela une revivification de cette dernière a été réalisée sur une gélose au sang et incubée pendant 24h à 35°C.

### 4. Isolement et purification

Après incubation sur milieu gélosé additionné de sang, les colonies sont repérées selon leurs aspects morphologiques puis elles sont isolées et purifiées sur les mêmes milieux jusqu'à l'obtention de colonies pures qui seront identifiées par une étude de leur caractère macroscopique (aspects des colonies sur milieux gélosés au sang).

### 5. Effet de la vitamine C sur la souche d'*Enterococcus faecalis*

En premier un inoculum bactérien d'*Enterococcus faecalis* est préparé en ensemençant des colonies dans un bouillon cœur de cerveau BHIB, le tout est incubé à  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , après incubation la charge bactérienne a été ajustée par un densitomètre à une densité optique comprise 0.08 à 0.1 ce qui correspond à une charge d'environ  $10^8$  UFC/mL.

Après préparation de l'inoculum, la technique utilisée est celle des microplaques à 96 puits (TCP). Les puits de la microplaque contiennent chacun 100 µL de la vitamine C testée à des concentrations et dilution de base allant de 65,53 à 0,06 mg/mL et 100 µL de la suspension bactérienne de la souche testée ( $10^8$  UFC/mL) diluée dans du bouillon BHIB.

La première ligne des puits contenant du BHIB inoculés par la souche déterminée sont utilisés comme contrôles positifs.

La microplaque ainsi préparée est incubée à 35°C pendant 24h. La densité optique de chaque puits a été mesurée à 490 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque ELISA (ELx808IU, BioTek Instruments Inc., Winooski VT, USA). La concentration minimale inhibitrice (CMI) est visuellement déterminée comme étant la plus petite concentration où on note l'absence de toute croissance bactérienne après incubation.

Une charge bactérienne a été ajusté à une densité optique comprise 0.08 à 0.1 ce qui correspond à une charge d'environ  $10^8$  UFC/mL, ceci a été déterminé grâce à un densitomètre.



Figure 11 : Ajustement de la charge bactérienne.



Figure 12 : La méthode de micro dilution.

### Préparation de la vitamine C :

La solution mère de vitamine C synthétique (Nutri power, ALGERIE) a été préparé dans le Diméthyle sulfoxyde DMSO (la vitamine C ne s'est pas dissoute en totalité dans l'eau distillée et dans le milieu de culture BHIB), nous avons obtenu une solution de vitamine C dosée à 200 mg/ mL.



Figure 13 : La vitamine C synthétique pure à 100%.

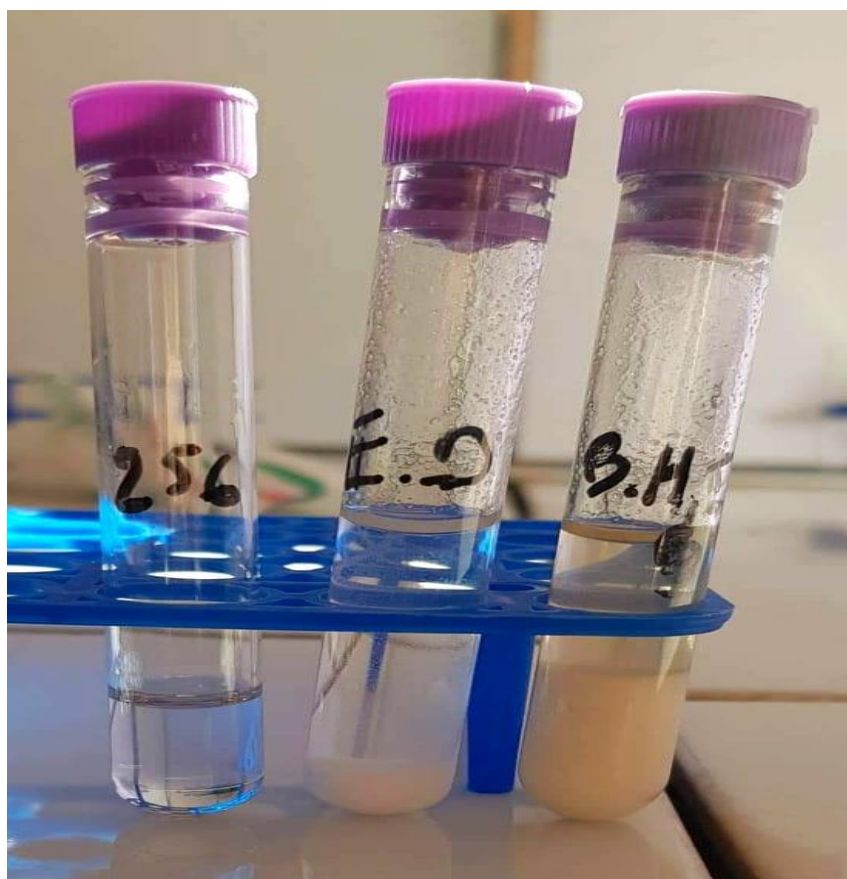


Figure 14 : Préparation de la vitamine C.

# **Résultats et discussion**



**Résultats et discussion****1. Résultat de l'isolement et de la purification de la souche d'étude**

Après une purification et un isolement sur une gélose au sang, les colonies d'*Enterococcus faecalis* se présentent sous forme de courtes chainettes, grises, de 0,5 à 2  $\mu\text{m}$  de diamètre, luisantes et muqueuses confirmant la présence d'une capsule. Toutes les colonies produisent une hémolyse de type  $\beta$  complète et à bords nets, détruisant totalement les globules rouges incorporés dans la gélose.



**Figure 15:** Isolement sur milieu sélectif de gélose au sang

**2. Résultat de l'effet de la vitamine C sur *Enterococcus faecalis***

Les résultats de densités optiques (DO) sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 2: Tableau représentant les résultats de densité optique (DO).**

concentration (mg/mL)	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,063	0,031	0,016	0,008	0,004	0,002	0,001
Temoin	1,48	1,37	1,42	1,31	1,31	1,32	1,43	1,3	1,31	1,29	1,50	1,46	1,48	1,37	1,42	1,31	1,31	1,32	1,43
moyenne T	1,38																		
DO ESSAI 1	0,089	0,072	0,163	0,143	0,132	0,065	0,12	0,519	0,822	1,069	1,18	1,308	1,38	1,37	1,409	1,385	1,418	1,41	1,393
DO ESSAI 2	0,088	0,111	0,096	0,106	0,12	0,117	0,075	0,296	0,397	0,409	0,833	0,99	1,06	1,245	1,405	1,41	1,44	1,407	1,408
DO ESSAI 3	0,065	0,072	0,108	0,118	0,125	0,117	0,067	0,157	0,484	0,804	1,062	1,11	1,19	1,346	1,406	1,38	1,422	1,415	1,405
DO moyenne	0,0807	0,0850	0,1020	0,1305	0,1285	0,1170	0,1200	0,3240	0,5677	0,9365	1,1210	1,2090	1,3800	1,3700	1,4067	1,4100	1,4200	1,4107	1,4020

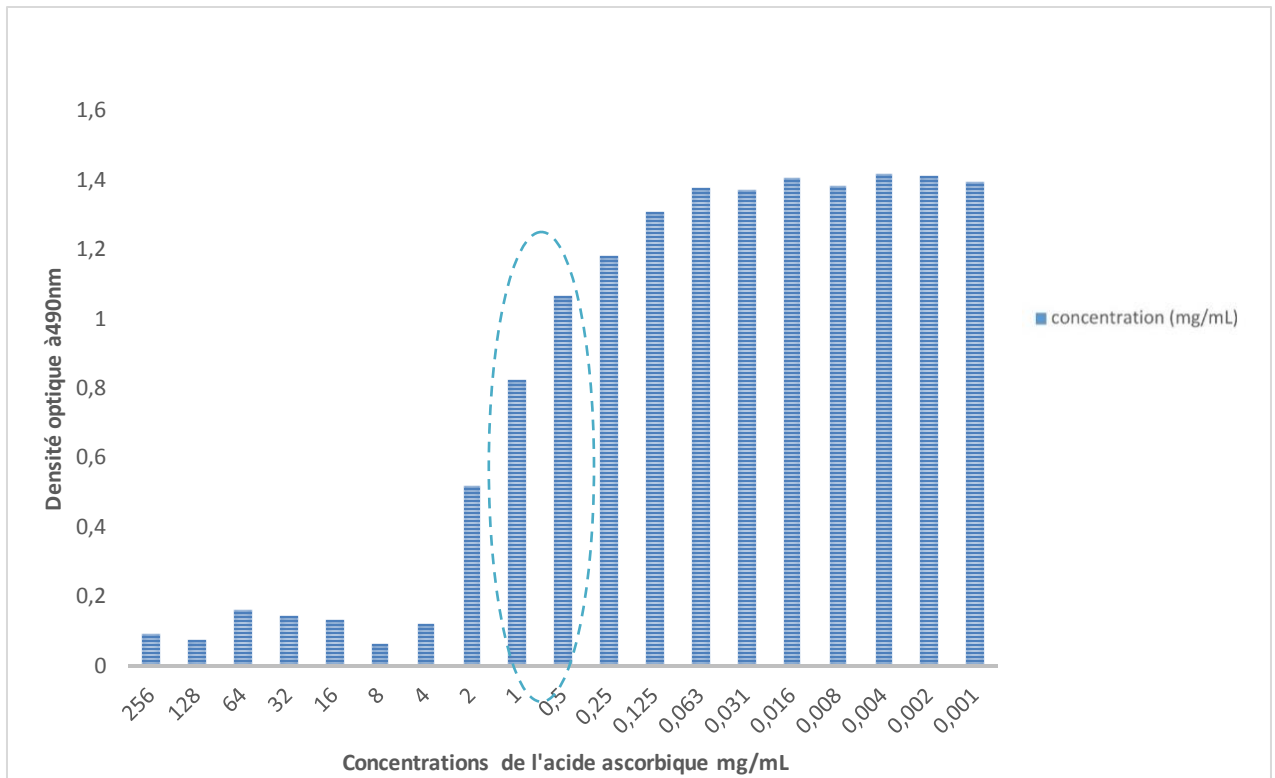


Figure 16: Histogramme représentant l'Effet de l'acide ascorbique sur la croissance d'Enterococcus faecalis.

La méthode des microplaques nous a permis d'obtenir cet histogramme qui démontre que les concentrations de la vitamine C se situant entre 0.001 et 0.063 mg/mL n'influent pas sur la croissance d'*Enterococcus faecalis*, mais qu'au-delà de 0.125mg/mL de vitamine C on observe un effet bactériostatique où la DO a diminué et passe de 1.4 à 1.2 par rapport à celle du tube témoin.

La concentration de 0.5 mg/mL semble être la concentration minimale inhibitrice (CMI), au-delà de 0.5mg/mL de Vitamine C on assiste à une action bactéricide avec une DO qui diminue jusqu'à devenir presque nulle (inférieure à 0,2), sachant que la diminution maximale de la DO est observée à partir de 4mg/mL de vitamine C.

L'essai thérapeutique de **Mehmeti et al .,(2013)**, qui a pour objet l'étude de la croissance d' *Enterococcus faecalis* en présence d'acide ascorbique, a démontré que, dans un milieu chimiquement défini "CDM" au quel 1,25 mM (qui est égale à 0,4 mg/mL) de vitamine C ont été ajoutés, le rendement final de la croissance d'*E.faecalis* n'était pas élevé et représentait 0.3 g (poids sec = dry weight [DW])/liter and  $2.5 \times 10^8$  puissance 8 CFU/ml , ce rendement était identique à celui mesuré sur un CDM contenant 1,25 mM de glucose, ceci signifie qu'en absence de glucose *E.faecalis* utilise l'acide ascorbique comme source d'énergie puisque ce dernier a une structure chimique semblable à celle du glucose <sup>(124)</sup>. L'augmentation de la concentration d'acide ascorbique à 12,5 mM (qui est l'équivalent de 4 mg/mL) n'a pas permis d'améliorer le rendement cellulaire, cependant, 55 mM (qui est égale à 18,33 mg/mL) de vitamine C a complètement inhiber la croissance d'*E.faecalis* et ceci est en accord avec nos résultats <sup>(124)</sup>.

L'étude de **Golonka et al.,(2017)**, a pour thème l'étude des propriétés physicochimiques et biologiques de l'acide éthyl-ascorbique comparé à l'acide ascorbique, a prouvé qu'une concentration d'acide ascorbique (AA) comprise entre 0,15 et 0,31 mg/mL réduit le nombre de cellules d'*Enterococcus faecalis* de 84%, de même qu'à des concentrations plus élevées, l'inhibition de la croissance d'*E.faecalis* atteint les 91 %. Ceci est plus ou moins en accord avec nos résultats, car dans notre expérience 0.31mg/mL de vitamine C qui est pratiquement égale à la CMI a fait diminué la DO, à cette concentration elle reste non bactéricide, le tout confirme l'effet antibactérien de la vitamine C contre *Enterococcus faecalis*<sup>(125)</sup>.

L'étude de **Majtan et al.,(2020)** qui a pour thème : la vitamine C renforce l'activité antibactérienne du miel contre les bactéries planctoniques et les bactéries intégrées dans les biofilms, a prouvé que l'adjonction de la vitamine C au miel est efficace contre *E. faecalis*, alors que le miel seul ne présente aucune activité antibactérienne contre cette bactérie. L'effet antibactérien du miel de miellat (100%), auquel a été ajouté de la vitamine C : 100 mg/mL, était plus efficace, ce mélange a une concentration de 100 mg/g de miel a réduit de manière significative le nombre d'*E. faecalis* en 24 heures. Ceci est en accord avec nos résultats sur le fait que la vitamine C inhibe la croissance d'*E. faecalis*, sauf que pour cette étude la concentration inhibitrice est nettement supérieure à la notre qui est de 0,5 mg/mL<sup>(126)</sup>.

Une enquête de l'impact de la vitamine C sur la croissance et le potentiel de formation des biofilms de *Streptococcus mutans* isolés chez des patients souffrant de caries dentaires, fait par **Eydou et al.,(2020)**, démontre qu'il existe un effet inhibiteur de la vitamine C dépendant de la concentration sur toutes les souches de *S. mutans* testées. Les valeurs moyennes du CBM(La *concentration* bactéricide minimale), de la CMI et de la CPB(concentration de prévention des biofilms) de la vitamine C étaient respectivement de 10,16 ; 9,38 ; 5,61 mg/mL <sup>(127)</sup>.

L'essai thérapeutique mené par **Mirani et al.,(2018)**, traitant l'effet de la vitamine C sur la formation du biofilm et les processus de dissémination des colonies de *Staphylococcus aureus* et de *Staphylococcus aureus* résistant à la methicilline SARM, présente des résultats concordants avec les nôtres, à savoir que 0.15 mg/mL de vitamine C inhibe la croissance de *S.aureus* et que 8 à 16 µg/mL d'AA peut efficacement contrer la formation de biofilm par SARM <sup>(128)</sup>.

En plus de son effet inhibiteur sur la croissance de plusieurs bactéries Gram+, la vitamine C a également un impact sur les bactéries Gram- comme il est démontré par plusieurs auteurs.

Dans l'étude de **Golonka et al(2017)**,l'application de 0,31mg/mL de vitamine C sur des espèces de *Pseudomonas aeruginosa* a provoqué une diminution de la croissance cellulaire de l'ordre de 86%, et 0,625-10 mg/mL de vitamine C a entraîné une diminution de 95% de *P. aeruginosa*, donc la vitamine C inhibe sa croissance. Par contre, 0,16 mg/mL de vitamine C appliqué sur *Candida albicans*, en a réduit la croissance que de 20%, même avec des concentrations beaucoup plus élevées de 1,25 et 10 mg/mL, 25% des microorganismes ont pu survivre. Donc la vitamine C a une activité bactériostatique relativement faible contre *C. albicans*<sup>(125)</sup>.

Les recherches de **Mukhopadhyay et al .,(2016)** ont conclu que *Salmonella enterica* n'est pas affectée par la vitamine C dans un milieu de purée de cantaloupe <sup>(129)</sup>, par contre **Patlan et al .,(2017)** a prouvé que la vitamine C possède un effet antibactérien sur *Salmonella Enteritidis*. Une autre étude de **Ghosh et al .,(2018)** a démontré qu'une triple combinaison de vitamine C, cuivre et linalol a une activité antibactérienne contre *S. enterica subsp. enterica serovar Typhi* et *Vibrio fluvialis*<sup>(130)</sup>.

D'autres études se sont intéressées à l'effet de la vitamine C sur les différentes pathologies buccales, telle que la maladie parodontale abordée dans l'étude de **Sulaiman et al., (2010)**, dans laquelle 30 patients atteints de parodontite chronique ont bénéficié d'un traitement parodontal non chirurgical (détartrage + surfaçage) et 15 d'entre eux ont reçu une supplémentation quotidienne de vitamine C à la dose de 02 g/J pendant 04 semaines. Les résultats ont démontré qu'il n'y a pas de différence significative entre les patients traités exclusivement par un traitement non chirurgical et ceux supplémentés en vitamine C. Ceci implique que la vitamine C ne permet pas d'améliorer le traitement des parodontites chroniques <sup>(131)</sup>.

Puisque la vitamine C a un impact sur différentes bactéries, d'innombrables études se sont penchées sur l'effet de cette dernière sur les virus, comme tout récemment enregistré sur **clinicaltrials.gov**, un nouvel essai clinique visant à étudier le potentiel effet de l'utilisation de la vitamine C en perfusion parmi les traitements de la pneumonie grave due à l'infection par le virus 2019-nCoV(COVID-19), a débuté à Wuhan, en Chine en **2020**. C'est l'un des premiers ECR (essai randomisé contrôlé) à tester les effets de la vitamine C en IV (voie intraveineuse) chez les patients infectés par ce virus. Dans cet essai, les chercheurs traitent 140 patients, soit avec un contrôle placebo ou de la vitamine C par voie intraveineuse à une dose de 24 g/jour pendant 7 jours. Ils évaluent ensuite les besoins en ventilation mécanique, en médicaments vasopresseurs, les scores de défaillance des organes, la durée du séjour en USI (unité de soins intensifs) et la mortalité à 28 jours. Les chercheurs espèrent terminer l'essai d'ici la fin du mois de septembre. Bien que les résultats de cet essai soient trop tardifs pour les milliers de personnes actuellement infectées par le virus, l'étude fournira néanmoins des informations précieuses quant à l'atténuation potentielle des symptômes par la vitamine C lors de futures épidémies virales.

### Conclusion et perspectives

Le réseau endodontique est un système complexe de part : sa situation, son anatomie et son traitement qui peut s'avérer compliqué selon les cas c'est pour cela que la fréquence et la récurrence des parodontites apicales constituent un réel problème de santé publique (ou pour le maintien ou bien la pérennité de la santé buccale).

Les innombrables propriétés de la vitamine C ainsi que ses apports à la santé humaine ne sont plus à démontrer, elle est à la fois antioxydante, antimicrobienne et immunomodulatrice, les études se multiplient à son sujet et à propos de ses mécanismes d'action.

Dans ce travail, nous avons réalisé un essai thérapeutique qui avait pour but d'évaluer l'effet de la vitamine C sur la bactérie *Enterococcus faecalis*, qui est la plus souvent incriminée et retrouvée lors des échecs de traitement endodontique. Nos résultats ont démontré que la vitamine C a un effet inhibiteur sur la croissance de la bactérie et ceci à une CMI de 0.5 mg/mL.

Notre étude nous a donc permis de proposer les perspectives suivantes :

- Introduire la vitamine C dans la préparation d'une solution désinfectante.
- Faire un essai thérapeutique en *ex vivo* sur des dents naturelles extraites dont le diagnostic d'une parodontite apicale récidivante a été établi au préalable.
- Faire un essai thérapeutique en *in vivo* étudiant l'effet de la vitamine C sur l'ensemble de la flore responsable des infections endodontiques récidivantes.
- Associer la vitamine C à d'autres molécules naturelles possédant des propriétés antibactériennes et faire des essais thérapeutiques en *ex vivo* et en *in vivo*.
- Exploiter les paramètres immunologiques de la vitamine C.

# **Bibliographie**



**Bibliographie**

1. Lush V. Textbook of endodontology. Nature Publishing Group; 2010.
2. Dellacherie C. Place de l'irrigation en endodontie 2015.
3. Berger L. Le biofilm bactérien endodontique: UHP-Université Henri Poincaré; 2010.
4. López-López J, Jané-Salas E, Estrugo-Devesa A, Castellanos-Cosano L, Martín-González J, Velasco-Ortega E, et al. Frequency and distribution of root-filled teeth and apical periodontitis in an adult population of Barcelona, Spain. *International dental journal*. 2012;62(1):40-6.
5. Meunier C. Le rôle des vitamines dans la santé orale de l'enfant. *Médecine humaine et pathologie* 2017.
6. Vertucci FJ. Root canal morphology and its relationship to endodontic procedures. *Endodontic topics*. 2005;10(1):3-29.
7. <502.pdf>.
8. Deutsch AS, Musikant BL. Morphological measurements of anatomic landmarks in human maxillary and mandibular molar pulp chambers. *Journal of endodontics*. 2004;30(6):388-90.
9. Torabinejad M, Walton RE, Fouad A, Lévy G. *Endodontie: Principes et pratique*: Elsevier Masson; 2016.
10. <2010 lesion precancereue.pdf>.
11. Hess W, Zuercher E. *The Anatomy of the Root-canals of the Teeth*: Bale & Danielsson; 1925.
12. Vertucci F. The endodontic significance of the mesiobuccal root of the maxillary first molar. *US Navy medicine*. 1974;63(5):29-31.
13. Traber MG, Stevens JF. Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011;51(5):1000-13.
14. Weine FS, Association AE. The C-shaped mandibular second molar: incidence and other considerations. *Journal of Endodontics*. 1998;24(5):372-5.
15. Bachar M, Raimann JG, Kotanko P. Impulsive mathematical modeling of ascorbic acid metabolism in healthy subjects. *Journal of theoretical biology*. 2016;392:35-47.
16. Bodereau B. la cavité d'accès en endodontie: réalisation de vidéos de démonstration: UNIVERSITÉ NICE-SOPHIA ANTIPOLIS 24 Avenue des Diables Bleus, 06357 Nice Cedex 04 16 décembre 2016.
17. Qiao H, May JM. Regulation of the human ascorbate transporter SVCT2 exon 1b gene by zinc-finger transcription factors. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011;50(9):1196-209.
18. Colić M, Gazivoda D, Majstorović I, Dragicević A, Vasilijić S, Rudolf R, et al. Immunomodulatory activity of IL-27 in human periapical lesions. *Journal of dental research*. 2009;88(12):1142-7.
19. Lasfargues J, Machtou P. Pathogenèse des lésions périapicales. *Réalités Cliniques*. 2001;12(2):139-48.
20. Krah-Sinan A, Adou-Assoumou M, Adou J, Traoré DK, Faye B, Mansilla E. Antibiotic therapy in Endodontics: a survey from dental surgeons in Ivory Coast. *Giornale Italiano di Endodonzia*. 2019;33(1).
21. Siqueira Jr JF. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2002;94(3):281-93.
22. Nair PR. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontology 2000*. 1997;13(1):121-48.

23. Özok A, Persoon I, Huse S, Keijser B, Wesselink P, Crielaard W, et al. Ecology of the microbiome of the infected root canal system: a comparison between apical and coronal root segments. *International endodontic journal*. 2012;45(6):530-41.
24. Khemaleelakul S, Baumgartner JC, Pruksakorn S. Identification of bacteria in acute endodontic infections and their antimicrobial susceptibility. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2002;94(6):746-55.
25. AUTREMENT E. Le traitement endodontique: l'essentiel. *Clinic*. 2010;31:1.
26. A. Bauman M, Beer R. *Endodontology*. Thieme, editor. Stuttgart · New York: Georg Thieme Verlag; 2008.
27. Guivarc'h M, Soler T, Pérez F, Bukiet F. Mise en forme canalaire et irrigation. *Inf Dent*. 2015;32:2-14.
28. Du J, Cullen JJ, Buettner GR. Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*. 2012;1826(2):443-57.
29. Carr AC, Bozonet SM, Pullar JM, Simcock JW, Vissers MC. Human skeletal muscle ascorbate is highly responsive to changes in vitamin C intake and plasma concentrations. *The American journal of clinical nutrition*. 2013;97(4):800-7.
30. DELCLOY L. LES CANAUX EN « C » : LES COMPRENDRE, LES TRAITER.: UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE DE LILLE 2; 12 septembre 2018.
31. D'Arcangelo C, Varvara G, De PF. An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic-anaerobic, obligate anaerobic, and microaerophilic bacteria. *Journal of endodontics*. 1999;25(5):351-3.
32. Jafarzadeh H, Wu Y-N. The C-shaped root canal configuration: a review. *Journal of endodontics*. 2007;33(5):517-23.
33. Melton DC, Krell KV, Fuller MW. Anatomical and histological features of C-shaped canals in mandibular second molars. *Journal of Endodontics*. 1991;17(8):384-8.
34. Torabinejad M. Root canal irrigants and disinfectants. *Endodontics: Colleagues for Excellence*. 2011:2-7.
35. Kandaswamy D, Venkateshbabu N. Root canal irrigants. *Journal of conservative dentistry: JCD*. 2010;13(4):256.
36. Delany GM, Patterson SS, Miller CH, Newton CW. The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1982;53(5):518-23.
37. Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *Journal of endodontics*. 1994;20(6):276-8.
38. Gomes B, Souza S, Ferraz C, Teixeira F, Zaia A, Valdrighi L, et al. Abstract. *International Endodontic Journal*. 2003;36(4):267-75.
39. Mohammadi Z, Shalavi S, Jafarzadeh H. Ethylenediaminetetraacetic acid in endodontics. *European journal of dentistry*. 2013;7(S 01):S135-S42.
40. Pérard M, Le Clerc J, Gautier T, Perez F, Vulcain J, Dautel A, et al. Asepsie-antiseptie en endodontie. *EMC-Médecine buccale* 2013; 8 (2): 1-11 [Article 28-720-X-20]. 2013.
41. Ørstavik D, Ford TP. *Essential endodontology: prevention and treatment of apical periodontitis*: Am Dental Educ Assoc; 2008.
42. Tang L, Sun Tq, Gao Xj, Zhou Xd, Huang Dm. Tooth anatomy risk factors influencing root canal working length accessibility. *International journal of oral science*. 2011;3(3):135-40.
43. Nguy D, Sedgley C. The influence of canal curvature on the mechanical efficacy of root canal irrigation in vitro using real-time imaging of bioluminescent bacteria. *Journal of endodontics*. 2006;32(11):1077-80.
44. Falk KW, Sedgley CM. The influence of preparation size on the mechanical efficacy of root canal irrigation in vitro. *Journal of endodontics*. 2005;31(10):742-5.
45. Simon S PW-J. *Endodontie*. Editions CdP ed2008.

46. Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral microbiology and immunology*. 2003;18(4):234-9.
47. Chavez de Paz L, Molander A, Dahlen G. Gram-positive rods prevailing in teeth with apical periodontitis undergoing root canal treatment. *International endodontic journal*. 2004;37(9):579-87.
48. Siqueira Jr JF, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *Journal of endodontics*. 2008;34(11):1291-301. e3.
49. Purcell EK, Thompson DE, Ludwig KA, Kipke DR. Flavopiridol reduces the impedance of neural prostheses in vivo without affecting recording quality. *Journal of neuroscience methods*. 2009;183(2):149-57.
50. Lancefield RC. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *Journal of experimental medicine*. 1933;57(4):571-95.
51. Rôças IN, Siqueira Jr JF, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *Journal of endodontics*. 2004;30(5):315-20.
52. Gilmore M, Clewell D, Courvalin P, Dunny G, Murray B, Rice L. *The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance* Washington, DC: ASM Press. 2002.
53. Klein G, Pack A, Bonaparte C, Reuter G. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*. 1998;41(2):103-25.
54. Padayatty SJ, Doppman JL, Chang R, Wang Y, Gill J, Papanicolaou DA, et al. Human adrenal glands secrete vitamin C in response to adrenocorticotrophic hormone. *The American journal of clinical nutrition*. 2007;86(1):145-9.
55. Beargie R, Lynd P, Tucker E, Duhning J. Perinatal infection and vaginal flora. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1975;122(1):31-3.
56. Tokgöz H, Polat F, Tan MÖ, Sipahi B, Sultan N, Bozkırlı İ. Preputial bacterial colonisation in preschool and primary school children. *International urology and nephrology*. 2005;37(1):101-5.
57. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *International endodontic journal*. 1998;31(1):1-7.
58. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 1998;85(1):86-93.
59. Kurrle E, Bhaduri S, Krieger D, Gaus W, Heimpel H, Pflieger H, et al. Risk factors for infections of the oropharynx and the respiratory tract in patients with acute leukemia. *Journal of Infectious Diseases*. 1981;144(2):128-36.
60. Koch S, Hufnagel M, Theilacker C, Huebner J. Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities. *Vaccine*. 2004;22(7):822-30.
61. Jensen LB, Garcia-Migura L, Valenzuela AJS, Løhr M, Hasman H, Aarestrup FM. A classification system for plasmids from enterococci and other Gram-positive bacteria. *Journal of microbiological methods*. 2010;80(1):25-43.
62. Benno Y, Suzuki K, Suzuki K, Narisawa K, Bruce WR, Mitsuoka T. Comparison of the fecal microflora in rural Japanese and urban Canadians. *Microbiology and immunology*. 1986;30(6):521-32.
63. Noble C. Carriage of group D streptococci in the human bowel. *Journal of clinical pathology*. 1978;31(12):1182-6.
64. Wheeler AL, Hartel PG, Godfrey DG, Hill JL, Segars WI. Potential of *Enterococcus faecalis* as a human fecal indicator for microbial source tracking. *Journal of environmental quality*. 2002;31(4):1286-93.
65. Kayaoglu G, Ørstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 2004;15(5):308-20.
66. Sedgley C, Lennan S, Appelbe O. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *International endodontic journal*. 2005;38(10):735-42.

67. Ingle JI, Bakland LK, Baumgartner JC. Ingle's endodontics/John I. Ingle, Leif K. Bakland, J. Craig Baumgartner: Hamilton, Ont.: BC Decker; 2008.
68. Rizzotti L, Rossi F, Torriani S. Biocide and antibiotic resistance of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from the swine meat chain. *Food microbiology*. 2016;60:160-4.
69. Schwaiger K, Harms KS, Bischoff M, Preikschat P, Mölle G, Bauer-Unkauf I, et al. Insusceptibility to disinfectants in bacteria from animals, food and humans — is there a link to antimicrobial resistance? *Frontiers in microbiology*. 2014;5:88.
70. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *Journal of endodontics*. 2006;32(2):93-8.
71. Woodford N, Johnson A, Morrison D, Hastings J, Elliott T, Worthington A, et al. Vancomycin-dependent enterococci in the United Kingdom. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1994;33(5):1066-.
72. Tang YJ, Laidlaw D, Gani K, Keasling JD. Evaluation of the effects of various culture conditions on Cr (VI) reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 in a novel high-throughput mini-bioreactor. *Biotechnology and bioengineering*. 2006;95(1):176-84.
73. schwartz E. la vitamine C: université du québec à chicoutmi; 18/11/2016.
74. <trt endo l'essentiel.pdf>.
75. Sitbon N ToM. Un système performant de « distribution » de la vitamine C chez l'Homme pallie son incapacité à la produire. inserm: institut national de la santé et de la recherche médicale. 21/03/2008:02.
76. FADHILA S-B. Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly(3,4-éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin: université de toulouse III- paul sabatier; 02/02/2011.
77. Bruno J, Nicolas M, SIALLI. l'acide ascorbique et son utilisation en tant qu'additif dans les industries alimentaires. université paris XII VRL de MARNE. 2003/2004:24.
78. Koba H, KAWAO K, YAMASHITA K. Effect of human chorionic gonadotrophin on the discharge of ascorbic acid from the canine testis. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 1971;104(1):65-71.
79. Levine M, Dhariwal KR, Welch RW, Wang Y, Park JB. Determination of optimal vitamin C requirements in humans. *The American journal of clinical nutrition*. 1995;62(6):1347S-56S.
80. Carr AC, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American journal of clinical nutrition*. 1999;69(6):1086-107.
81. Guiland J-C, Lequeu B. Encyclopédie des vitamines: du nutriment au médicament. Données fondamentales: métabolisme et fonctions: Tec & Doc; 2009.
82. Reichstein T, Grüssner A. « Eine ergiebige Synthese der L-Ascorbinsäure (C-Vitamin) ». *Helvetica Chimica Acta*,. 1934;17( 311–328).
83. Mathew S, Verghese R, David A. Antimicrobial activity of Vitamin C demonstrated on uropathogenic *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Current Research in Scientific Medicine*. 2017;3(2):88.
84. Naidu KA. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition journal*. 2003;2(1):7.
85. Sengupta M, Shaharyar MA, Rahman M, Anand K, Kundu A. Vitamin C Loaded Chemically Modified Nano Carrier for Human Health Care Application. *Current Biochemical Engineering*. 2020;6(1):34-40.
86. Ge M, O'reilly A, Baille N. Vitamin C: evidence, application and commentary. *NZFP*. 2008;35:312-8.

87. Isela N-NR, Sergio N-C, José M-SJ, Rene H-D, Claudio C-R. Ascorbic acid on oral microbial growth and biofilm formation. *The Pharma Innovation*. 2013;2(4).
88. Kallio J, Jaakkola M, Mäki M, Kilpeläinen P, Virtanen V. Vitamin C inhibits staphylococcus aureus growth and enhances the inhibitory effect of quercetin on growth of *Escherichia coli* in vitro. *Planta medica*. 2012;78(17):1824-30.
89. Zhang HM, Wakisaka N, Maeda O, Yamamoto T. Vitamin C inhibits the growth of a bacterial risk factor for gastric carcinoma: *Helicobacter pylori*. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. 1997;80(10):1897-903.
90. Vilchèze C, Hartman T, Weinrick B, Jacobs WR. *Mycobacterium tuberculosis* is extraordinarily sensitive to killing by a vitamin C-induced Fenton reaction. *Nature communications*. 2013;4(1):1-10.
91. Staudte H, Güntsch A, Völpel A, Sigusch B. Vitamin C attenuates the cytotoxic effects of *Porphyromonas gingivalis* on human gingival fibroblasts. *Archives of oral biology*. 2010;55(1):40-5.
92. El-Mowafy S, Shaaban M, Abd El Galil K. Sodium ascorbate as a quorum sensing inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of applied microbiology*. 2014;117(5):1388-99.
93. Tajkarimi M, Ibrahim SA. Antimicrobial activity of ascorbic acid alone or in combination with lactic acid on *Escherichia coli* O157: H7 in laboratory medium and carrot juice. *Food Control*. 2011;22(6):801-4.
94. Przekwas J, Wiktorczyk N, Budzyńska A, Wałęcka-Zacharska E, Gospodarek-Komkowska E. Ascorbic Acid Changes Growth of Food-Borne Pathogens in the Early Stage of Biofilm Formation. *Microorganisms*. 2020;8(4):553.
95. Majtan J, Sojka M, Palenikova H, Bucekova M, Majtan V. Vitamin C Enhances the Antibacterial Activity of Honey against Planktonic and Biofilm-Embedded Bacteria. *Molecules*. 2020;25(4).
96. Gupta G, Guha B. The effect of vitamin C and certain other substances on the growth of microorganisms. *Annals of Biochemistry and Experimental Medicine*. 1941;1:14-26.
97. Sun L, Ye X, Ding D, Kai L. Opposite effects of vitamin C and vitamin E on the antifungal activity of honokiol. *Journal of microbiology and biotechnology*. 2019;29(4):538-47.
98. El-Gebaly E, Essam T, Hashem S, El-Baky R. Effect of levofloxacin and vitamin C on bacterial adherence and preformed biofilm on urethral catheter surfaces. *J Microb Biochem Technol*. 2012;4(6):131-6.
99. BISWAS S, THOMAS N, MANDAL A, MULLICK A, CHANDRA D, MUKHERJEE S, et al. In vitro analysis of antibacterial activity of vitamin C alone and in combination with antibiotics on gram positive rod isolated from soil of a dumping site of Kolkata. *Int J Pharm Biol Sci*. 2013;3:101-10.
100. Merchant AT. Plasma vitamin C is inversely associated with periodontitis. *Journal of evidence based dental practice*. 2008;8(2):103-4.
101. Amaliya, Timmerman M, Abbas F, Loos B, Van der Weijden G, Van Winkelhoff A, et al. Java project on periodontal diseases: the relationship between vitamin C and the severity of periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. 2007;34(4):299-304.
102. Nakamoto T, McCroskey M, Mallek HM. The role of ascorbic acid deficiency in human gingivitis—a new hypothesis. *Journal of theoretical biology*. 1984;108(2):163-71.
103. Johnston CS, Huang S. Effect of ascorbic acid nutrition on blood histamine and neutrophil chemotaxis in guinea pigs. *The Journal of nutrition*. 1991;121(1):126-30.
104. Syed S, Yassin SM, Dawasaz AA, Amanullah M, Alshahrani I, Togoo RA. Salivary 1, 5-Anhydroglucitol and Vitamin Levels in Relation to Caries Risk in Children. *BioMed research international*. 2019;2019.
105. Bougrat M. l'hypovitaminose C: savoir y penser à partir de quatre cas cliniques. 13/04/2017: université de nantes; 13/04/2017.



106. Padayatty SJ, Levine M. Vitamin C: the known and the unknown and Goldilocks. *Oral diseases*. 2016;22(6):463-93.
107. Fain O. Musculoskeletal manifestations of scurvy. *Joint bone spine*. 2005;72(2):124-8.
108. Sperte M. Vitamines et oligoéléments: manifestations buccales des déficits et implications thérapeutiques en chirurgie dentaire: éditeur inconnu; 2016.
109. OLIGOÉLÉMENTS VE. Marion SPERTE: UNIVERSITÉ TOULOUSE III; 2016.
110. Maggini S, Wintergerst ES, Beveridge S, Hornig DH. Selected vitamins and trace elements support immune function by strengthening epithelial barriers and cellular and humoral immune responses. *British Journal of Nutrition*. 2007;98(S1):S29-S35.
111. Esteban MA, Wang T, Qin B, Yang J, Qin D, Cai J, et al. Vitamin C enhances the generation of mouse and human induced pluripotent stem cells. *Cell stem cell*. 2010;6(1):71-9.
112. Carr AC, Maggini S. Vitamin C and immune function. *Nutrients*. 2017;9(11):1211.
113. Woo A, Kim J-H, Jeong Y-J, Maeng HG, Lee Y-T, Kang JS, et al. Vitamin C acts indirectly to modulate isotype switching in mouse B cells. *Anatomy & cell biology*. 2010;43(1):25-35.
114. Levy R, Shriker O, Porath A, Riesenberk K, Schlaeffer F. Vitamin C for the treatment of recurrent furunculosis in patients with impaired neutrophil functions. *Journal of Infectious Diseases*. 1996;173(6):1502-5.
115. Maeng HG, Lim H, Jeong Y-j, Woo A, Kang JS, Lee WJ, et al. Vitamin C enters mouse T cells as dehydroascorbic acid in vitro and does not recapitulate in vivo vitamin C effects. *Immunobiology*. 2009;214(4):311-20.
116. Heuser G, Vojdani A. Enhancement of natural killer cell activity and T and B cell function by buffered vitamin C in patients exposed to toxic chemicals: the role of protein kinase-C. *Immunopharmacology and immunotoxicology*. 1997;19(3):291-312.
117. Alvares O, Altman LC, Springmeyer S, Ensign W, Jacobson K. The effect of subclinical ascorbate deficiency on periodontal health in nonhuman primates. *Journal of periodontal research*. 1981;16(6):628-36.
118. Wintergerst ES, Maggini S, Hornig DH. Immune-enhancing role of vitamin C and zinc and effect on clinical conditions. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2006;50(2):85-94.
119. Strohle A, Wolters M, Hahn A. Micronutrients at the interface between inflammation and infection ascorbic acid and calciferol. Part 1: general overview with a focus on ascorbic acid. *Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy)*. 2011;10(1):54-63.
120. Dhariwal K, Hartzell W, Levine M. Ascorbic acid and dehydroascorbic acid measurements in human plasma and serum. *The American journal of clinical nutrition*. 1991;54(4):712-6.
121. Levine M, Wang Y, Padayatty SJ, Morrow J. A new recommended dietary allowance of vitamin C for healthy young women. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001;98(17):9842-6.
122. Cárcamo JM, Bórquez-Ojeda O, Golde DW. Vitamin C inhibits granulocyte macrophage–colony-stimulating factor–induced signaling pathways. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2002;99(9):3205-12.
123. Bowie AG, O'Neill LA. Vitamin C inhibits NF- $\kappa$ B activation by TNF via the activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *The Journal of Immunology*. 2000;165(12):7180-8.
124. Mehmeti I, Solheim M, Nes IF, Holo H. *Enterococcus faecalis* grows on ascorbic acid. *Applied and environmental microbiology*. 2013;79(15):4756-8.
125. Golonka I, Oleksy M, Junka A, Matera-Witkiewicz A, Bartoszewicz M, Musiał W. Selected Physicochemical and Biological Properties of Ethyl Ascorbic Acid Compared to Ascorbic Acid. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2017;40(8):1199-206.
126. Majtan J, Sojka M, Palenikova H, Bucekova M, Majtan V. Vitamin C Enhances the Antibacterial Activity of Honey against Planktonic and Biofilm-Embedded Bacteria. *Molecules*. 2020;25(4):992.

127. Eydou Z, Jad BN, Elsayed Z, Ismail A, Magaogao M, Hossain A. Investigation on the effect of vitamin C on growth & biofilm-forming potential of *Streptococcus mutans* isolated from patients with dental caries. 2020.
128. Mirani ZA, Khan MN, Siddiqui A, Khan F, Aziz M, Naz S, et al. Ascorbic acid augments colony spreading by reducing biofilm formation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2018;21(2):175.
129. Mukhopadhyay S, Sokorai K, Ukuku D, Fan X, Juneja V, Sites J, et al. Inactivation of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in cantaloupe puree by high hydrostatic pressure with/without added ascorbic acid. *International Journal of Food Microbiology*. 2016;235:77-84.
130. Ghosh T, Srivastava SK, Gaurav A, Kumar A, Kumar P, Yadav AS, et al. A combination of linalool, vitamin C, and copper synergistically triggers reactive oxygen species and DNA damage and inhibits *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Typhi and *Vibrio fluvialis*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2019;85(4).
131. Abou Sulaiman AE, Shehadeh RM. Assessment of total antioxidant capacity and the use of vitamin C in the treatment of non-smokers with chronic periodontitis. *Journal of periodontology*. 2010;81(11):1547-54.

