



HAL
open science

Effet de la prophylaxie orale individuelle sur l'inflammation interdentaire

Ina Saliasi

► **To cite this version:**

Ina Saliasi. Effet de la prophylaxie orale individuelle sur l'inflammation interdentaire. Santé. Université de Lyon, 2020. Français. NNT : 2020LYSE1119 . tel-03588335

HAL Id: tel-03588335

<https://theses.hal.science/tel-03588335v1>

Submitted on 24 Feb 2022

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.



N°d'ordre NNT : 2020LYSE1119

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale N° 205
École Doctorale Interdisciplinaire Sciences-Santé

Spécialité de doctorat :
Santé publique

Discipline :
Odontologie

Soutenue publiquement le 08/07/2020, par :

Ina SALIASI

Effet de la prophylaxie orale individuelle sur l'inflammation interdentaire

Devant le jury composé de :

Mme Laurence LUPI, Professeur des Universités, Université Côte d'Azur
M. Paul TRAMINI, Maître de Conférences des Universités, Université de Montpellier

Mme Sylvie AZOGUI-LEVY, Professeur des Universités, Université de Paris 7
M. Yves MATILLON, Professeur Émérite, Université Claude Bernard Lyon 1

Mme Florence CARROUEL, Maître de Conférences des Universités, Université Claude Bernard Lyon 1
M. Stéphane VIENNOT, Maître de Conférences des Universités, Université Claude Bernard Lyon 1

M. Claude DUSSART, Praticien Hospitalier, Hospices Civils de Lyon

Rapporteuse
Rapporteur

Examinatrice
Examineur

Directrice de Thèse
Co-directeur de Thèse

Invité

Université Claude Bernard – LYON 1

Président de l'Université	M. Frédéric FLEURY
Président du Conseil Académique	M. Hamda BEN HADID
Vice-Président du Conseil d'Administration	M. Didier REVEL
Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. Philippe CHEVALLIER
Vice-Président de la Commission de Recherche	M. Jean-François MORNEX
Directeur Général des Services	M. Damien VERHAEGHE

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon-Est – Claude Bernard	Doyen : M. Gilles RODE
Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon Sud Charles. Mérieux	Doyenne : Mme Carole BURILLON
UFR d'Odontologie	Doyenne : Mme Dominique SEUX
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation	Directeur : M. Xavier PERROT
Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directrice : Mme Anne-Marie SCHOTT

COMPOSANTES & DEPARTEMENTS DE SCIENCES & TECHNOLOGIE

UFR Biosciences	Directrice : Mme Kathrin GIESELER
Département Génie Electrique et des Procédés (GEP)	Directrice : Mme Rosaria FERRIGNO
Département Informatique	Directeur : M. Behzad SHARIAT
Département Mécanique	Directeur M. Marc BUFFAT
UFR - Faculté des Sciences	Administrateur provisoire : M. Bruno ANDRIOLETTI
UFR (STAPS)	Directeur : M. Yannick VANPOULLE
Observatoire de Lyon	Directrice : Mme Isabelle DANIEL
Ecole Polytechnique Universitaire Lyon 1	Directeur : Emmanuel PERRIN
Ecole Supérieure de Chimie, Physique, Electronique (CPE Lyon)	Directeur : Gérard PIGNAULT
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1	Directeur : M. Christophe VITON
Institut de Science Financière et d'Assurances	Directeur : M. Nicolas LEBOISNE
ESPE	Administrateur Provisoire : M. Pierre CHAREYRON

REMERCIEMENTS

A Madame Florence CARROUEL, Maître de Conférences des Universités à l'Université Lyon 1,

Je tiens à vous remercier infiniment de votre encadrement dynamique et dévoué tout au long des travaux de cette thèse de doctorat et de m'avoir fait partager un professionnalisme de qualité. Je vous remercie également de votre gentillesse, de votre disponibilité permanente peu importe le jour de la semaine, de votre compréhension, de vos nombreux encouragements et de votre soutien durant des moments difficiles. Dans l'optique de persévérer dans un futur proche au domaine de la recherche, il est évident que ce travail d'équipe m'a apporté des acquis très précieux.

A Monsieur Stéphane VIENNOT, Maître de Conférences des Universités à l'Université Lyon 1,

Cette thèse de doctorat est le fruit d'une collaboration d'un peu plus de trois ans avec vous. Je tenais à vous remercier de votre aide précieuse, de votre temps consacré à toutes nos réunions, de m'avoir prodigué de nombreux conseils pour bien aboutir ce travail de longue haleine dont cette thèse est l'accomplissement. C'est à vos côtés que j'ai compris ce que rigueur, précision et cohésion incarnent dans une équipe. Je vous en remercie.

A Monsieur Denis Bourgeois, Professeur des Universités à l'Université Lyon 1, Ancien Doyen de l'UFR d'Odontologie de Lyon,

Je vous remercie infiniment de m'avoir initié au domaine de la recherche dont les thèmes explorés par vous ont fortement inspiré cette thèse de doctorat. J'ai apprécié infiniment la richesse de vos conseils d'un grand professionnalisme. Je tenais à vous remercier de votre collaboration productive qui restera la première pierre dans le fondement de mon parcours de nouveau chercheur.

A Madame Laurence LUPI, Professeur des Universités à l'Université Côte d'Azur,

Je vous exprime ma gratitude d'avoir accepté d'être examinatrice de cette thèse de doctorat. Je tiens à vous remercier de votre temps précieux.

A Monsieur Paul TRAMINI, Maître de Conférences des Universités à l'Université de Montpellier,

Je vous exprime ma gratitude d'avoir accepté d'être examinateur de cette thèse de doctorat. Je tiens à vous remercier de votre temps précieux.

A Madame Sylvie AZOGUI-LEVY, Professeur des Universités à l'Université de Paris 7,

Je tenais à vous remercier d'avoir accepté d'être membre du jury de cette thèse de doctorat.

A Monsieur Yves MATILLON, Professeur Émérite à l'Université Claude Bernard Lyon 1,

Je tenais à vous remercier d'avoir accepté d'être membre du jury de cette thèse de doctorat.

A Monsieur Claude DUSSART, Directeur du laboratoire « Parcours Santé Systémique » EA4129,

Je tiens à vous remercier de m'avoir accueilli pendant quatre ans au sein de votre laboratoire. C'est grâce à vous que j'ai réussi à concilier avec bonheur recherche théorique et appliquée pendant les travaux de cette thèse.

A l'amour de ma vie, mon compagnon de tous les jours et le super papa de notre bébé Lucie,

Merci d'avoir été à mes côtés pendant toutes ces années de travail de longue haleine, de m'avoir soutenu et encouragé à ne pas lâcher malgré les difficultés rencontrées. Je suis heureuse de t'avoir dans notre vie. Je t'aime !

A ma Lucie d'amour, zhog i mamit, shpirt i vogël që dua pafund,

Falenderoj Zotin çdo ditë që më ka dhënë fatin të jem nëna e një zhogu të bukur dhe unik si ti bija ime. Mama të do fort dhe do jetë gjithmonë pranë teje. Tu as été ma force pendant ces longues journées de rédaction en confinement. Je t'aime fort ma Lucie ! Të dua fort shpirti im !

Prindërve të mi, krenarisë sime, dy dashurive të para të jetës sime,

Faleminderit për përkushtimin, edukimin dhe mbështetjen pa kursim në çdo hap të jetës sime. Tani e di po aq mirë sa ju çdo të thotë të jesh prind. Edhe sikur çdo ditë ti isha lutur Zotit prindër më shembullorë dhe gjenialë si ju nuk do kisha patur. Ju kam jetë ! Faleminderit për gjithçka !

Motrushes sime Juelda dhe vëllaçkos tim Ertush,

Motra ju do fort dhe është shumë krenare për çdo gjë që keni arritur në jetë. Nuk ka lumturi më të madhe se sa të qënit motra juaj. E si mos të jesh e lumtur kur sheh sesi motra jote është një mjeke anesteziste e shkëlqyer në Frankfurt dhe vëllaço inteligjent e i pasionuar pas iniciativave të reja po hedh themelet e një pune të palodhur. Faleminderit që me mbështesni dhe me inkurajoni gjithmonë edhe kur ndihem e pashpresë. Ju kam shpirt daja dhe tete !

A ma belle-famille,

Merci maminou, pépé Jeannot, tatas et tonton de Lucie de nous soutenir et aider tous les jours. Merci pour les bons moments partagés en famille. On vous aime !

Shoqeve dhe shokëve të mi shqiptarë,

Faleminderit që jeni pjesë e jetës sime ! Miqtë e mirë janë një thesar i paçmuar dhe unë jam me fat që ju kam pavarësisht largësisë.

A mes ami(e)s français,

Ce n'est pas toujours évident d'avoir de vrai(e)s ami(e)s lorsqu'on arrive dans un autre pays qui n'est pas le nôtre. Personnellement je me considère chanceuse de vous avoir tous dans ma vie. Merci à toi Béné de m'avoir choisi en tant que témoin de ton mariage. Hâte d'y être ! Merci à vous tous d'avoir partagé des moments inoubliables ensemble. Et ce n'est pas fini !

RESUME

Effet de la prophylaxie orale individuelle sur l'inflammation interdentaire

Le microbiote commensal de la sphère buccale, écosystème complexe, joue un rôle essentiel dans le maintien de la santé orale et systémique. Une relation homéostatique s'établit entre l'hôte et son microbiote résidant. Une perturbation de cet équilibre finement régulé, appelée dysbiose, favorise l'apparition de pathologies bucco-dentaires. A l'intérieur de cette sphère, les espaces interdentaires sont des niches écologiques riches en micro-organismes commensaux et pathogènes. Ces espaces interdentaires restent un défi majeur pour la garantie d'une prophylaxie individuelle de qualité, car inaccessibles aux méthodes traditionnelles de désorganisation du biofilm par voie mécanique et/ou chimique.

Notre recherche porte sur l'évaluation clinique de l'efficacité de mesures de prophylaxie orale individuelle des espaces interdentaires chez l'adulte jeune. Elle s'articule autour de deux axes : la désorganisation mécanique du biofilm et l'action chimique. Ainsi, sont évaluées l'efficacité de l'utilisation de brossettes interdentaires calibrées et l'efficacité d'un dentifrice/bain de bouche à base d'extrait de feuille de *Carica papaya* contenant des flavonoïdes antioxydants, sur la réduction de l'inflammation du parodonte interdentaire cliniquement sain, objectivée par l'évolution du saignement gingival.

De même est évaluée la mise en œuvre de modules d'enseignement théoriques et pratiques auprès des étudiants nécessaires à la transmission d'une connaissance de qualité.

En conclusion, ce travail apporte des recommandations pour une orientation novatrice de la valorisation et de l'efficacité de la prophylaxie individuelle en santé bucco-dentaire.

Mots clés

espace interdentaire, prophylaxie orale individuelle, inflammation interdentaire, biofilm, brossette interdentaire calibrée, dentifrice naturel, *Carica papaya*, éducation

Laboratoire de rattachement

Laboratoire Parcours Santé Systémique EA4129
Faculté de Médecine Laennec
11 rue Guillaume Paradin
69372 Lyon Cedex 08

ABSTRACT

Effect of individual oral prophylaxis on interdental inflammation

The commensal microbiota of the oral sphere, a complex ecosystem, plays an essential role in maintaining oral and systemic health. A homeostatic relationship is established between the host and its resident microbiota. A disturbance of this finely regulated balance, called dysbiosis, promotes the appearance of oral pathologies. Within this sphere, the interdental spaces are ecological niches rich in commensal and pathogenic microorganisms. These interdental spaces remain a major challenge in guaranteeing quality individual prophylaxis, as they are inaccessible to traditional methods of biofilm disorganization by mechanical and/or chemical means.

Our research focuses on the clinical evaluation of the effectiveness of individual oral prophylaxis measures in the interdental spaces of young adults. It revolves around two axes: the mechanical disorganization of the biofilm and chemical action. Thus, the effectiveness of the use of calibrated interdental brushes and the effectiveness of a toothpaste/mouthwash based on *Carica papaya* leaf extract containing antioxidant flavonoids, on the reduction of the inflammation of clinically healthy interdental periodontium, objectified by the evolution of gingival bleeding are evaluated.

The implementation of theoretical and practical teaching modules for the students in dental medicine necessary for the transmission of quality knowledge, is also assessed.

In conclusion, this work provides recommendations for an innovative orientation for the enhancement and efficiency of individual prophylaxis in oral health.

Keywords

interdental space, individual oral prophylaxis, interdental inflammation, biofilm, calibrated interdental brush, natural toothpaste, *Carica papaya*, education

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Représentation schématique des 4 embrasures de l'espace interdentaire.....	19
Figure 2. Représentation schématique de l'espace interdentaire en vue frontale.....	19
Figure 3. Représentation schématique de la papille interdentaire.....	20
Figure 4. Coupe histologique de l'épithélium gingival interproximal dans le sens vestibulo-lingual	21
Figure 5. Radiographie rétro alvéolaire de deux incisives centrales maxillaires et des mesures qui définissent les dimensions de l'espace interdentaire.....	22
Figure 6. Représentation schématique de la classification de Nordland et Tarnow.	24
Figure 7. Représentation schématique de la classification de Cardaropoli <i>et al.</i>	25
Figure 8. Vue clinique d'une récession de la papille interdentaire entre les incisives centrales maxillaires	27
Figure 9. Hiérarchisation des facteurs de risque responsables de l'apparition des triangles noirs	27
Figure 10. Caractérisation du microbiote oral en fonction de la localisation.....	29
Figure 11. Répartition en pourcentage des micro-organismes oraux selon la base de données du microbiome oral humain	30
Figure 12. Propriétés émergentes des biofilms et formation de l'habitat.....	32
Figure 13. Différentes phases du développement d'un biofilm	34
Figure 14. Cycle de vie des biofilms et principaux acteurs impliqués dans leur dispersion	36
Figure 15. Microbiote sous-gingival associé à l'apparition de la maladie parodontale.....	38
Figure 16. Hypothèse de plaque écologique en relation avec la maladie parodontale	40
Figure 17. De la santé à la maladie parodontale	42
Figure 18. Voies cellulaires et moléculaires reliant la réponse immunitaire inflammatoire de l'hôte à la progression de la maladie parodontale.	44
Figure 19. Description des éléments constitutifs du parodonte	45
Figure 20. Classification des maladies parodontales	46
Figure 21. Transition de la santé parodontale vers la gingivite et son évolution en parodontite ..	47
Figure 22. Profondeur de la poche parodontale au sondage (distance en millimètres de la gencive marginale à la base de la poche). Perte d'attache clinique (distance en millimètres de la jonction cément-émail à la base de la poche).....	48
Figure 23. Exemple de sonde parodontale graduée (ici, sonde à pression constante) (A) et son utilisation en clinique (B).....	48
Figure 24. Diagramme comparant les tissus parodontaux sains à ceux atteints de maladie parodontale	49
Figure 25. Periodontal Risk Assessment	53
Figure 26. Diffusion des bactéries orales, des produits bactériens et des molécules de l'inflammation dans l'organisme et maladies associées.....	54
Figure 27. Vues cliniques intra-orales chez une patiente de 50 ans au niveau de l'arcade mandibulaire postérieure.	72
Figure 28. Distribution des sites interproximaux chez 99 adultes.....	72

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Classification des parodontites en fonction des stades définis par la sévérité (selon le niveau de perte d'attache, la perte osseuse radiographique, la perte dentaire) la complexité, l'étendue et la distribution.....	51
Tableau 2. Classification des parodontites selon les grades en fonction des caractéristiques biologiques incluant l'évidence ou le risque d'une progression rapide, d'une réponse anticipée au traitement et des effets sur la santé générale	51

LISTE DES ABREVIATIONS

A

A. actinomycetemcomitans : *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

A. odontolyticus : *Actinomyces odontolyticus*

A. viscosus : *Actinomyces viscosus*

AAP : Association Américaine de Parodontologie

ADN : Acide Désoxyribonucléique

Ag : Argent

AHLs : Acyl Homosérine Lactones

AI-2 : Autoinducteur-2

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Anti-CCP : Anti-peptides cycliques citrullinés

AR : Arthrite rhumatoïde

Au : Or

B

B. cereus : *Bacillus cereus*

BID : Brossette interdentaire

BOIB : Bleeding On Interdental Brushing

C

C. concisus : *Campylobacter concisus*,

C. gracilis : *Campylobacter gracilis*

C. ochracea : *Capnocytophaga ochracea*

C. pneumoniae : *Chlamydia pneumoniae*

C. rectus : *Campylobacter rectus*

C. sputigena : *Capnocytophaga sputigena*

CHX : Chlorhexidine

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CPIITN : Community Periodontal Index and Treatment Needs

CRC : Cancer colorectal

CuO : Oxide de cuivre

E

E. coli : *Escherichia coli*

E. corrodens : *Eikenella corrodens*

EFP : Fédération Européenne de Parodontologie

EI : Espace Interdentaire

EPS : Substances Polymères Extracellulaires

ESCC : Carcinome épidermoïde de l'œsophage

F

F. necrophorum : *Fusobacterium necrophorum*

F. nucleatum : *Fusobacterium nucleatum*

FDA : Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux

G

GCF : Liquide sulculaire gingival

H

HOMD : Microbiote Oral Humain
HTG : Transfert Horizontal de Gènes

I

Ig : Immunoglobines
IL : Interleukine

J

JEC : Jonction Émail-Cément

L

LPS : Lipopolysaccharides

M

MIP-1 α : Protéine inflammatoire des macrophages
MMP : Métalloprotéases Matricielles
MP : Maladie Parodontale

N

NaF : Fluorure de sodium
NP : Nanoparticules

O

OSCC : Carcinome épidermoïde oral

P

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*
P. gingivalis : *Porphyromonas gingivalis*
P. intermedia : *Prevotella intermedia*
P. micra : *Parvimonas micra*
P. nigrescens : *Prevotella nigrescens*
PAE : Pellicule Acquise Exogène
PRA : Periodontal Risk Assessment

Q

QS : Quorum Sensing

R

RANK-L : Ligand du récepteur activateur du facteur nucléaire kappa-B
ROS : Dérivés réactifs de l'oxygène

S

SARM : *S. aureus* résistant à la méticilline
S. mitis : *Streptococcus mitis*
S. oralis : *Streptococcus oralis*
SMFP : Monofluorophosphate de sodium
SnF₂ : Fluorure d'amine et le fluorure stanneux

T

T. denticola : *Treponema denticola*

T. forsythensis : *Tannerella forsythensis*

Tcs : Triclosan

TLR : Récepteur de type Toll

TNF : Facteur de Nécrose Tumorale

V

V. parvula : *Veillonella parvula*

Z

ZnO : Oxyde de zinc

TABLE DES MATIERES

RESUME	5
ABSTRACT	6
LISTE DES FIGURES	7
LISTE DES TABLEAUX	8
LISTE DES ABREVIATIONS	9
INTRODUCTION	14
SYNTHESE DE LA LITTERATURE	18
1 Espace interdentaire : un élément clé de la santé générale.....	19
1.1 Anatomie et physiologie de l'espace interdentaire.....	19
1.1.1 La papille interdentaire.....	20
1.1.2 Le point ou la zone de contact interdentaire.....	22
1.1.3 Classification des espaces interdentaires en fonction de la hauteur de la papille interdentaire	23
1.1.4 Les facteurs affectant la forme anatomique et le volume de la papille interdentaire	25
1.1.4.1 Le biotype gingival et parodontal.....	25
1.1.4.2 La morphologie dentaire.....	26
1.1.4.3 Age du patient.....	26
1.1.5 Aspects physiologiques de l'espace interdentaire	27
1.2 De l'espace interdentaire sain à la maladie parodontale	28
1.2.1 Microbiote oral	28
1.2.1.1 Caractéristiques générales	28
1.2.1.2 Organisation structurale et développement des biofilms oraux	31
1.2.2 Microbiote interdentaire et santé parodontale	36
1.2.2.1 Étiologie microbienne de la maladie parodontale.....	37
1.2.2.2 Dysbiose du microbiote à l'origine de la maladie parodontale	40
1.2.3 Réaction immunitaire et inflammatoire de l'hôte	43
1.2.4 Maladie parodontale.....	45
1.2.4.1 Généralités.....	45
1.2.4.2 Signes cliniques de la maladie parodontale.....	47
1.2.4.3 Classification de la maladie parodontale et diagnostic	50
1.2.4.4 Facteurs de risque de la maladie parodontale	52
1.3 De la maladie parodontale à la maladie systémique	53
1.3.1 Diffusion des bactéries orales dans l'organisme.....	55
1.3.1.1 Diffusion par voie sanguine	55
1.3.1.2 Diffusion par voie digestive	56
1.3.1.3 Diffusion par voie respiratoire	56
1.3.2 Principales maladies systémiques en lien avec les pathologies orales	57
1.3.2.1 Maladie cardiovasculaire	57
1.3.2.2 Infection des voies respiratoires et pneumonie	58
1.3.2.3 Le diabète	59
1.3.2.4 Cancer oral et colorectal	60
1.3.2.5 L'arthrite rhumatoïde	62
1.3.2.6 La maladie d'Alzheimer.....	62
1.3.2.7 L'issue défavorable de la grossesse	64
1.3.2.8 Le lupus érythémateux	65
2 Prophylaxie individuelle appliquée à l'espace interdentaire	66
2.1 Action mécanique	67
2.1.1 Fil dentaire	67
2.1.2 Pics interdentaires en bois.....	68
2.1.3 Jets dentaires.....	69
2.1.4 Brossettes interdentaires	70
2.2 Action chimique	75
2.2.1 Chlorhexidine	75
2.2.2 Fluorures	77

2.2.3	Triclosan.....	78
2.2.4	Argent	79
2.2.5	Or	82
2.2.6	Oxyde de zinc.....	83
2.2.7	Dioxyde de titane.....	85
2.2.8	Oxyde de cuivre.....	86
2.2.9	Ferumoxytol	87
2.2.10	Scutellaria baicalensis	87
2.2.11	Propolis	88
2.2.12	Robinia pseudoacacia L	89
2.2.13	Salvadora Persica	90
2.2.14	Extrait de feuille de papayer.....	90
RESULTATS DES ETUDES CLINIQUES		92
<i>1 Efficacité des brossettes interdentaires calibrées sur la réduction du saignement : Un essai contrôlé randomisé de 3 mois (ARTICLE 1).....</i>		
		<i>93</i>
<i>2 Effet d'un dentifrice/bain de bouche contenant de l'extrait de feuille de papayer sur le saignement gingival interdentaire : Un essai contrôlé randomisé (ARTICLE 2).....</i>		
		<i>100</i>
<i>3 Résultats pédagogiques d'un nouveau programme d'études sur la prophylaxie orale interproximale pour les étudiants en médecine dentaire (ARTICLE 3).....</i>		
		<i>118</i>
DISCUSSION		137
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....		147
ANNEXE : ARTICLE 4		150
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		169

INTRODUCTION

Le corps humain contient de nombreux écosystèmes distincts qui fournissent un environnement unique pour les micro-organismes vivant en colonie (1). Avec environ 500 espèces bactériennes différentes identifiées aujourd'hui, la cavité buccale est, après le microbiote intestinal, le deuxième plus grand microbiote de notre organisme (2,3).

Dans la majorité des cas, une relation symbiotique ou mutualiste entre le microbiote résidant et l'hôte s'établit (4). Les bactéries du microbiote résidant, de par leurs activités pro- et anti-inflammatoires, participent au maintien de l'homéostasie dans des sites fortement colonisés tel que la cavité buccale (5). Une perturbation, de cet équilibre finement régulé de l'écosystème buccal, appelée dysbiose, permet aux bactéries promotrices de la maladie de se manifester et de provoquer des pathologies telles que la carie, la gingivite et la parodontite (4).

Le microbiote oral est en fait la résultante de plusieurs microbiotes tels que le microbiote salivaire, le microbiote dentaire, le microbiote parodontal supragingival, sous-gingival et le microbiote des muqueuses. Le microbiote des espaces interdentaires (EIs) est à lui seul une entité, une niche écologique riche en micro-organismes qui, du fait de son environnement anatomique, vit en autarcie. L'EI est un point d'initiation du développement de la maladie parodontale (MP) chez l'adulte car un microbiote dysbiotique va facilement pouvoir se mettre en place étant donné que l'accès requis pour perturber le biofilm par le brossage des dents et la salive est restreint (6). A titre d'exemple, les jeunes adultes en bonne santé parodontale, bien que pratiquant une hygiène bucco-dentaire optimale, possèdent en moyenne 10^{10} bactéries par site interdentaire avec, ce qui peut sembler paradoxal, l'identification des principales bactéries parodontopathogènes du complexe de Socransky (7).

La spécificité de l'EI conduit à nous interroger sur l'efficacité des mesures de prophylaxie individuelle recommandée depuis 30 ans. Ces mesures reposent essentiellement sur deux piliers institutionnels : l'élimination mécanique de la plaque dentaire, concept à remplacer ce jour par la désorganisation du biofilm et, par l'action chimique avec l'utilisation de dentifrices ou de bains de bouche composés d'agents antibactériens, d'agents anti-inflammatoires...

La prévention est une clé de la santé bucco-dentaire (8). Le meilleur moyen de maintenir une symbiose orale chez l'adolescent et chez l'adulte jeune, de réduire le risque de la gingivite et de MP, outre une surveillance de la nutrition, reste la désorganisation du biofilm dentaire (9) en associant deux actions bien distinctes et complémentaires en même temps : mécanique et chimique. Le brossage des dents est la méthode mécanique principale, la plus largement acceptée pour perturber le biofilm oral, mais il ne peut pas atteindre efficacement les zones interproximales (10). Malgré une activité d'hygiène bucco-dentaire quotidienne, il est techniquement impossible

d'atteindre l'EI et de perturber le biofilm de l'adolescent et de l'adulte dans les parties postérieures de la cavité buccale (11). Certes, des données factuelles suggèrent que les brossettes interdentaires (BIDs) sont le dispositif le plus efficace dans la désorganisation du biofilm de l'EI, sous réserve de pouvoir accéder à cet espace (12). « Pouvoir accéder à cet espace » a été jusqu'à une période récente un critère rédhibitoire, réservé à une population spécifique présentant des pertes tissulaires, osseuses entre les dents. L'alternative liée à la culture anglo-saxonne d'utiliser du fil interdentaire a sans doute pénalisé la recherche et le développement en ce domaine. Quoiqu'il en soit, la perturbation mécanique auto-réalisée du biofilm oral *via* le brossage des dents et le brossage interdentaire est actuellement la meilleure méthode de prophylaxie individuelle pour prévenir et réduire l'inflammation gingivale et par conséquent la MP (13).

Cette désorganisation mécanique orale est classiquement complétée par l'utilisation de produits chimiques d'hygiène orale classés comme produits cosmétiques pour la grande majorité d'entre eux. Les dentifrices et bains de bouche réduisent l'accumulation de la plaque, leur utilisation est répandue et divers principes actifs sont utilisés comme adjuvant pour renforcer l'action antibactérienne (14). Certains dentifrices actuellement disponibles sur le marché sont critiqués du fait de composants qui ont des effets secondaires indésirables (15). C'est un sujet d'actualité qui incite de plus en plus les fabricants à orienter leurs productions vers des produits de santé naturels (16).

De nombreuses études ont démontré l'efficacité de produits naturels d'hygiène orale, tels que des dentifrices et bains de bouche à base de plantes, dans le contrôle de la plaque dentaire et de l'inflammation gingivale, ce qui pourrait constituer une alternative parallèle valable aux dentifrices commerciaux classiques (17–20).

L'hypothèse principale de ce travail de thèse est qu'une prophylaxie individuelle efficace, non traumatique et acceptable dès le plus jeune âge, focalisée sur la désorganisation mécanique ou chimique du biofilm interdentaire peut contribuer à une réduction de la dysbiose, de l'inflammation interdentaire et ainsi prévenir l'apparition de la MP.

Notre premier objectif est de déterminer si une prophylaxie individuelle basée sur la désorganisation du biofilm interdentaire avec l'utilisation de BIDs calibrées peut être scientifiquement et cliniquement recommandée pour toute la population à l'image de la brosse à dents pour les faces dentaires accessibles.

L'objectif secondaire est de situer parmi les principes actifs chimiques disponibles sur le marché des produits cosmétiques, leurs contributions « santé » par rapport à la prophylaxie mécanique des jeunes adultes. En d'autres termes, quelle est l'utilité, la plus-value de recommander

des dentifrices, des bains de bouche en plus de l'usage de BIDs dans la réduction de l'inflammation, du saignement gingival interdentaire et de la contribution à maintenir la symbiose du microbiote.

Notre troisième objectif s'inscrit dans une logique de motivation et d'assurance qualité : Comment mettre en place une stratégie de communication et d'explications pour l'utilisation de technologies innovantes en prophylaxie individuelle ? Quels modèles pédagogiques privilégier, quels messages, quelles organisations et quelles méthodes mettre en avant dans une situation délicate car pouvant aller à l'opposé de propos mis en avant depuis des années ? Concrètement cela revient à se poser la question fondamentale dans notre discipline : comment faire adhérer son patient à la mise en application dans son quotidien de nouvelles connaissances, la motivation étant la pierre angulaire de toute initiative en prophylaxie individuelle ?

SYNTHESE DE LA LITTERATURE

1 Espace interdentaire : un élément clé de la santé générale

1.1 Anatomie et physiologie de l'espace interdentaire

L'EI est une structure anatomique et histologique bucco-dentaire délimitée par le point de contact, les surfaces proximales des deux dents adjacentes, les faces internes de la papille interdentaire et la gencive papillaire (21). Cet espace peut être divisé en 4 volumes appelés embrasures (vestibulaire, occlusale, linguale, cervicale ou gingivale) qui ont une forme de pyramide dont le sommet est le point de contact (Figure 1)(22).

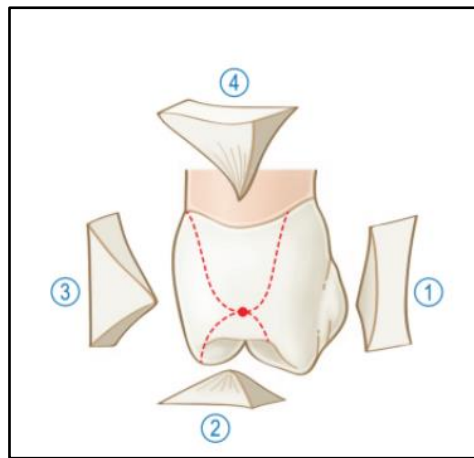


Figure 1. Représentation schématique des 4 embrasures de l'espace interdentaire (22).
1. Vestibulaire, 2. Occlusale, 3. Linguale, 4. Cervicale ou gingivale.

En vue frontale, cet espace peut être divisé en deux dimensions, une dimension verticale entre le point de contact et la crête alvéolaire et une dimension horizontale entre les surfaces proximales mésiale et distale des dents adjacentes (Figure 2)(23).

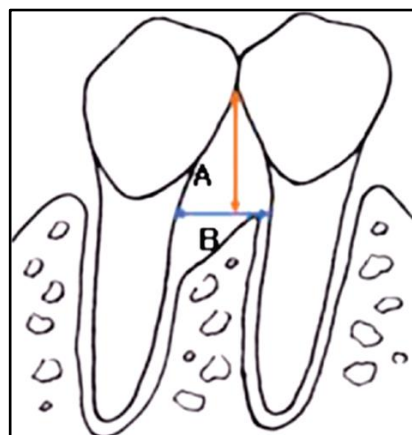


Figure 2. Représentation schématique de l'espace interdentaire en vue frontale (23).
A. Distance entre le point de contact et la crête alvéolaire (dimension verticale). B. Distance interproximale entre les racines des dents adjacentes (dimension horizontale).

1.1.1 La papille interdentaire

La papille interdentaire est la partie de la gencive qui occupe l'embrasure cervicale ou gingivale (22,24). Sa forme est déterminée par le point de contact interdentaire, la largeur des faces proximales de deux dents adjacentes, la jonction émail-cément et la crête osseuse sous-jacente qui la soutient (25).

La papille interdentaire est constituée de deux sommets, vestibulaire et lingual ou palatin, qui sont reliés par une structure anatomique à concavité coronaire appelée col papillaire ou « col de Cohen » (26,27).

Cette structure anatomique est très fragile, sensible aux récessions et peut être responsable de l'arrêt de cicatrisation car l'apport sanguin y est très faible (28–30). En effet, les papilles vestibulaire et linguale ou palatine sont composées de tissu conjonctif dense recouvert par un épithélium oral (28). Ces structures tissulaires peu vascularisées possèdent une boucle capillaire terminale composée d'une artère ascendante et d'une veine descendante (31–33). Cette vascularisation de type terminale et d'origine apicale prédispose à la stase sanguine et à l'œdème. De plus, le col papillaire, dont la largeur (vestibulo-linguale) et la profondeur (corono-apicale) sont déterminées par la morphologie des dents, la taille des couronnes dentaires et la position des dents les unes par rapport aux autres, est, quant à lui, recouvert d'un épithélium fin non kératinisé, vulnérable à l'inflammation (25,34).

La papille interdentaire présente des différences en fonction de la localisation au sein de l'arcade dentaire. Chacune des papilles vestibulaires et linguales ou palatines a une forme pyramidale dont la pointe coronaire s'aplatie lorsque l'on passe des dents antérieures aux dents postérieures (Figure 3)(25).

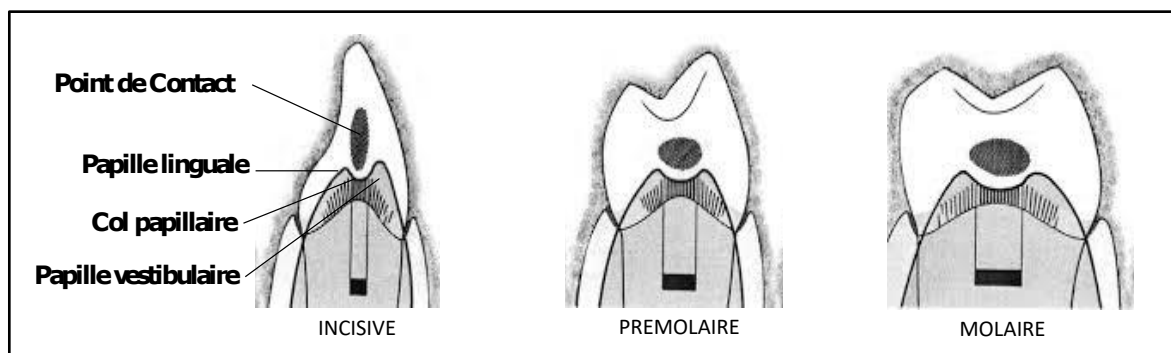


Figure 3. Représentation schématique de la papille interdentaire (34).

Dans le secteur antérieur la papille interdentaire est étroite et présente une forme pyramidale avec son sommet juste en dessous du point de contact tandis qu'entre les prémolaires et les molaires elle est plus large et plus aplatie dans le sens vestibulo-lingual avec son col non kératinisé et couvert d'épithélium stratifié squameux. Ce dernier détermine la position et l'étendue du point de contact des dents adjacentes (Figure 3) (25,35).

La papille interdentaire est constituée de tissus gingivaux de nature différente en fonction de la localisation dans l'embrasure (Figure 4). Les bords latéraux et les sommets de la papille interdentaire sont formés par de la gencive libre ou marginale alors que le reste de son volume est constitué de la gencive attachée.

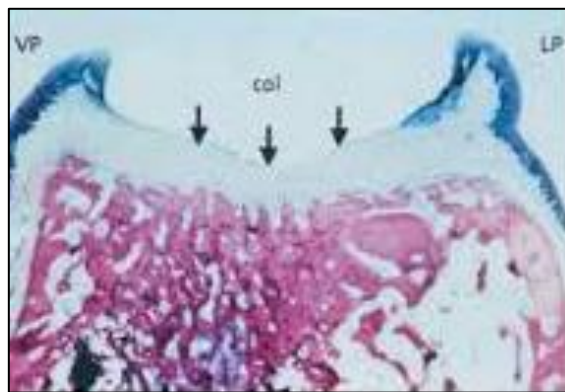


Figure 4. Coupe histologique de l'épithélium gingival interproximal dans le sens vestibulo-lingual.(36). L'épithélium non kératinisé du col de la papille interdentaire est indiqué par les flèches. LP : Linguo-palatin. VP : Vestibulo-palatin.

La papille interdentaire joue un rôle très important dans l'esthétique du sourire (37). Ainsi, la diminution ou l'absence de papille interdentaire est responsable de l'apparition de triangles noirs considérés comme disgracieux (37). Plusieurs facteurs tels que la hauteur de l'os alvéolaire, les dimensions de l'espace interproximal, l'aspect des tissus mous, l'épaisseur de la table vestibulaire, le biotype parodontal, la morphologie dentaire et la zone de contact interdentaire peuvent influencer la présence ou l'absence de cette structure (24,38). Cependant, les principaux critères de présence ou d'absence de papille interdentaire seraient liés aux dimensions qui définissent la zone interdentaire : la distance entre le point de contact et la crête osseuse alvéolaire, ainsi que les distances entre les racines au niveau de la jonction amélo-cémentaire (Figure 5)(24).

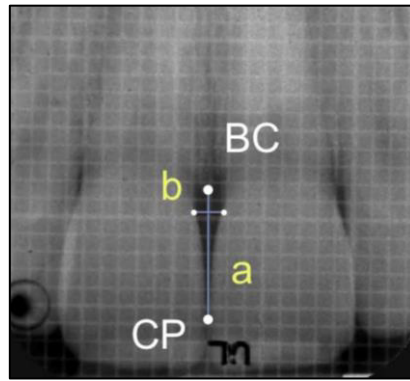


Figure 5. Radiographie rétro-alvéolaire de deux incisives centrales maxillaires et des mesures qui définissent les dimensions de l'espace interdentaire (34).

a. distance verticale (distance de la crête alvéolaire osseuse BC (Bone Crest) au point de contact interdentaire CP (Contact Point)). b. distance horizontale (distance entre les racines des deux incisives au niveau de la jonction émail-cément).

1.1.2 Le point ou la zone de contact interdentaire

Le point ou la zone de contact interdentaire, considéré comme étant le « toit » de la papille interdentaire (37), est défini comme la zone dans laquelle deux dents adjacentes semblent se rencontrer (39).

Une zone de contact courte peut entraîner des triangles noirs, tandis qu'une grande zone de contact interproximale peut empiéter sur la gencive et impliquer une apparence inesthétique (40).

Stappert *et al.* (2010) ont mesuré la zone de contact proximale à partir du point apical de la zone de contact, correspondant au sommet de la papille interdentaire, jusqu'au point incisal de la zone de contact qui initie l'embrasure incisale (41). À partir des observations réalisées chez 120 jeunes patients (moyenne d'âge de 27 ans et 9 mois) n'étant porteurs d'aucune affection systémique ou parodontale, ils ont conclu que la zone de contact proximale diminuait antéropostérieurement entre les incisives centrales maxillaires et les premières prémolaires bilatéralement, de 4 à 3 et de 2 à 1,5 mm, respectivement (41). L'étendue corono-apicale du point de contact diminue lorsqu'on l'observe depuis 11-21 vers 13-14. La limite dentaire de l'embrasure gingivale tend à rester à la même distance de la jonction émail-cément, quand l'embrasure occlusale voit sa limite évoluer apicalement (41). Dans le sens vestibulo-palatin, le point de contact est toujours situé dans la portion médiane de la dent et garde la même étendue sur cet axe au fil de l'évolution postérieure de l'observation (41).

Sghaireen *et al.* ont obtenu des résultats similaires et démontré que la dimension apico-gingivale de la zone de contact interproximale diminue en passant des dents antérieures aux dents

postérieures (Figure 3)(42). La zone de contact entre les incisives centrales est la plus grande tandis que la zone de contact entre canine et prémolaire est la plus petite (42).

Dans leur essai clinique, Kolte *et al.* ont observé que les dimensions de la zone de contact proximale entre les incisives centrales étaient plus élevées en secteur antérieur, à la fois chez les hommes et les femmes des deux groupes d'âge et sachant que les mesures étaient enregistrées distalement de chaque côté, il y avait une réduction progressive (43). Cela indique que la zone de contact proximale diminue lorsque nous nous éloignons de la ligne médiane dans la dentition maxillaire. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Stappert *et al.* (2010), mais les auteurs n'ont pas commenté les variations en fonction de l'âge et du sexe car la population d'étude était limitée (41).

Le point de contact interproximal maintient une denture stable et limite l'accumulation des débris alimentaires dans l'embrasure interdentaire. De plus le point de contact interdentaire protège la papille interdentaire (44).

1.1.3 Classification des espaces interdentaires en fonction de la hauteur de la papille interdentaire

Plusieurs classifications permettent de répertorier les espaces interdentaires en fonction de la hauteur papillaire.

Dans la classification de Nordland et Tarnow (1998), il existe 4 classes liées à la hauteur de la papille interdentaire (Figure 6) :

- Classe normale (0) : la papille interdentaire remplit l'espace de l'embrasure jusqu'à l'étendue apicale du point ou de la zone de contact interdentaire.
- Classe I : le sommet de la papille interdentaire se situe entre le point de contact interdentaire et l'étendue la plus coronaire de la jonction émail-cément (JEC) interproximale. Il y a un espace présent mais la JEC interproximale n'est pas visible.
- Classe II : le sommet de la papille interdentaire se situe au niveau de la JEC interproximale ou en apicale de cette jonction mais coronaire à l'étendue apicale de la JEC vestibulaire. La JEC interproximale est visible.
- Classe III : le sommet de la papille interdentaire est au niveau de la JEC ou en apical de la JEC en vestibulaire.

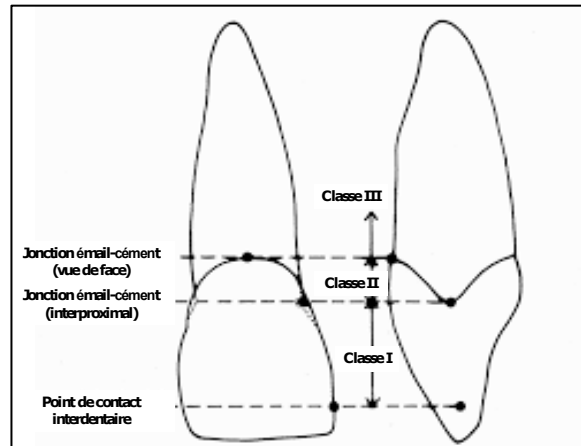


Figure 6. Représentation schématique de la classification de Nordland et Tarnow (45).

Cette classification se base sur trois repères anatomiques : le point de contact interdentaire, la jonction amélo-cémentaire vestibulaire et la jonction amélo-cémentaire interproximale.

Dans une étude de 1992, Tarnow *et al.* ont établi la « règle du millimètre ». Ils ont montré que lorsque la distance entre le point de contact et la crête osseuse interproximale est de 5 mm ou moins, la papille interdentaire remplit complètement les embrasures gingivales. Au-delà de 5 mm, pour chaque mm supplémentaire, le remplissage de l'embrasure diminue de 50% (40). Dans leur étude, Cho *et al.* ont également démontré que le pourcentage de papilles interdentaires présentes baisse fortement quand la distance entre la crête alvéolaire et le point de contact interproximal passe de 4 à 6 mm (23).

Une autre classification plus récente est celle qui découle de l'étude menée par Cardaropoli *et al.* en 2004 (46). Elle est basée sur la relation entre la papille gingivale et la jonction amélo-cémentaire d'un côté et le point de contact interproximal de l'autre côté, comparée à la papille interdentaire de la dent adjacente. L'indice de mesure est appelé « Indice de Présence Papillaire » (IPP). Cette classification peut être utilisée dans les cas cliniques présentant un diastème entre les dents antérieures maxillaires et intègre également la présence de récession gingivale. Les auteurs ont mis en évidence 4 classes (Figure 7) :

- IPP1 : la papille est entièrement présente, s'étend jusqu'au point de contact et comble la totalité de l'embrasure. La papille est au même niveau que la papille adjacente.
- IPP2 : la papille est partiellement présente, apicale au point de contact mais la jonction amélo-cémentaire est invisible. La papille n'est pas au même niveau que la papille adjacente.
- IPP3 : la papille est partiellement présente, apicale au point de contact et la jonction amélo-cémentaire devient visible.

- IPP4 : la papille est située apicalement aux deux jonctions amélo-cémentaires qui sont visibles au niveau des deux régions proximales. Présence de récession gingivale buccale visible qui compromet fortement l'esthétique.

Pour les classes IPP1 et IPP2, il existe les sous-classes IPP1r et IPP2r si une récession gingivale buccale est observée.

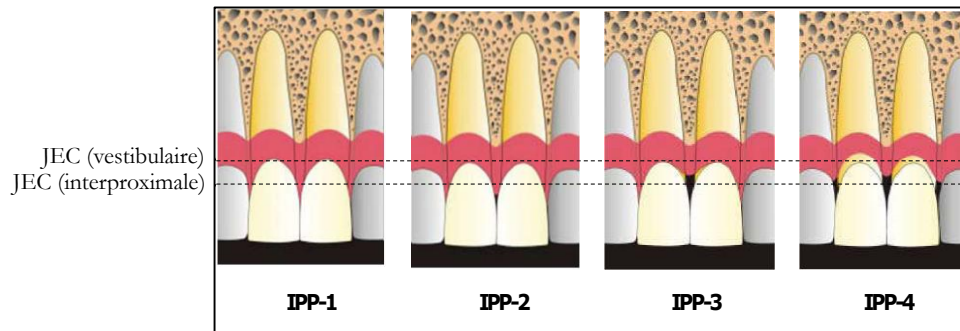


Figure 7. Représentation schématique de la classification de Cardaropoli *et al.* (46). D'après Apoorva (47) JEC : jonction émail-cément. IPP : indice de présence papillaire.

1.1.4 Les facteurs affectant la forme anatomique et le volume de la papille interdentaire

1.1.4.1 *Le biotype gingival et parodontal*

Seibert et Lindhe en 1989 ont défini les biotypes parodontaux comme étant « des états distincts du complexe muco-gingival en tenant compte de l'os alvéolaire sous-jacent » (48). Ils distinguent deux biotypes parodontaux : (i) le parodonte plat et épais et (ii) le parodonte fin et festonné. Cette classification a aussi été reprise par Bennani *et al.* (2000) qui comparent les deux types de parodontes (49). Pour eux, le biotype 1 correspond à des tissus denses et opaques, l'os sous-jacent plat et épais et la présence d'une gencive kératinisée. Le biotype 2 correspond à des tissus fragiles et translucides, l'os sous-jacent fin et festonné, à la présence de déhiscence et de fenestration et à la présence limitée de gencive kératinisée.

Chow *et al.*, ont démontré que la présence des papilles interdentaires était corrélée préférentiellement à un biotype épais plutôt qu'à un biotype fin (30). Dans une étude transversale menée en 2016, Kolte *et al.* ont confirmé l'impact du biotype sur la présence ou l'absence de papille interdentaire. La papille centrale maxillaire était présente dans plus de 88% des cas dès lors que l'épaisseur du biotype gingival se situait entre 1,5 et 2 mm (50). Ces résultats sont liés au fait que

les biotypes fins et festonnés sont plus réactifs aux traumatismes et aux réactions inflammatoires (51). Ainsi, le risque de perte papillaire après un traitement chirurgical ou une restauration s'accroît chez les patients ayant un biotype parodontal fin et festonné (52–55). Contrairement à ces études, Rafiee *et al.* n'ont pas trouvé de corrélation entre le biotype parodontal et la présence de papille interdentaire (56).

1.1.4.2 *La morphologie dentaire*

La morphologie dentaire (dents rondes, carrées ou triangulaires) serait corrélée au feston gingival et par conséquent à la présence ou l'absence de papille dentaire (57). Dans une étude transversale réalisée en 2016, Kolte *et al.* ont démontré que la papille interdentaire était présente dans 100% des cas lorsque les incisives centrales maxillaires présentaient une forme anatomique carrée avec un taux qui diminue significativement pour les formes rondes et triangulaires (50). Des résultats concordants avaient été obtenus par Ahmad *et al.* en 2005. Ils avaient démontré que les dents de forme triangulaires formaient un feston prononcé et prédisposaient à la perte papillaire (58). À l'inverse, les dents carrées présentaient moins de perte papillaire car elles avaient une distance interproximale plus petite entre la crête osseuse et le point de contact et des points de contact plus larges que les dents triangulaires (40,58).

Olsson et Lindhe ont réalisé une étude visant à déterminer si la forme et le type des incisives centrales supérieures pouvaient avoir une influence sur le parodonte (59). Ils ont rapporté que les sujets ayant des dents avec des couronnes longues et étroites ont des tissus parodontaux minces et une forte probabilité de récession gingivale par rapport au biotype gingival épais, suggérant une relation entre la forme de la dent et le biotype gingival. D'autre part, Olsson *et al.* n'ont rapporté aucune relation entre la forme de la dent et l'épaisseur gingivale selon la largeur coronaire et la longueur coronaire chez les adolescents (60).

1.1.4.3 *Âge du patient*

Une récession papillaire est observée lorsque l'âge des sujets augmente (Figure 8)(24,30,40,61,62). Dans une étude de 2003, Ko-Kimura *et al.* ont observé que 67% des patients de plus de 20 ans présentaient une récession papillaire contre seulement 18% des patients de moins de 20 ans (63). En effet, la récession papillaire est une conséquence (i) de l'augmentation progressive de la distance verticale entre le point de contact et la crête osseuse, (ii) de la résorption physiologique de la crête osseuse (Figure 8)(24) et (iii) d'un amincissement de la muqueuse (64).



Figure 8. Vue clinique d'une récession de la papille interdentaire entre les incisives centrales maxillaires (24). CP : point de contact, PT : sommet de la papille interdentaire (PT).

Esthétiquement, avec la récession de la papille interdentaire, des embrasures gingivales ouvertes, autrement appelées des triangles noirs, apparaissent et vont affecter le sourire du patient. L'étiologie de l'embrasure gingivale ouverte est multifactorielle. La distance accrue entre le point de contact interproximal et l'os alvéolaire, ainsi que les angulations radiculaires divergentes semblent être les facteurs les plus significatifs (Figure 9)(35).

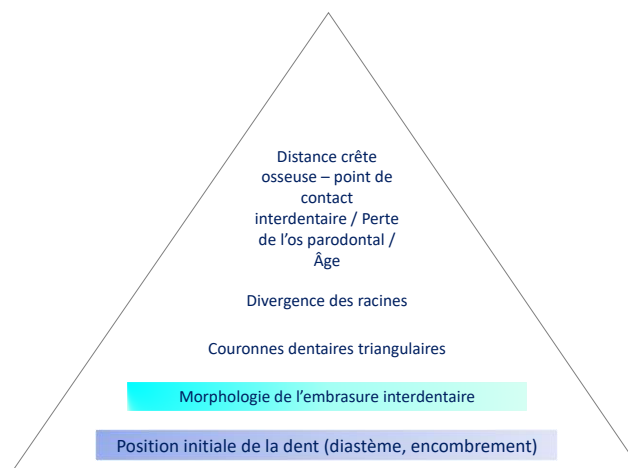


Figure 9. Hiérarchisation des facteurs de risque responsables de l'apparition des triangles noirs (35). Plus on se dirige vers le sommet de la pyramide, plus le risque augmente.

1.1.5 Aspects physiologiques de l'espace interdentaire

La papille interdentaire, comme tout autre tissu gingival, a un rôle de défense. Elle est constituée de tissu épithélial et de tissu conjonctif (65).

L'épithélium gingival sépare les micro-organismes des biofilms en développement des tissus parodontaux sous-jacents, en prévenant ainsi l'infection. Ceci est accompli dans sa fonction comme une barrière physique et par le transport des polymorphonucléaires neutrophiles à travers elle (66). L'épithélium gingival est conçu pour résister aux forces de friction de la mastication et pour

défendre les tissus sous-jacents contre les envahisseurs étrangers, tels que les micro-organismes. Cette fonction est due à un certain nombre de caractéristiques structurales et fonctionnelles. Le réseau de jonction intercellulaire de l'épithélium gingival contribue à sa fonction de barrière. La réponse immunitaire adaptative des tissus oraux reconnaît l'infection microbienne et est capable de la gérer. Ainsi, la barrière épithéliale est le résultat de l'interaction d'un certain nombre de protéines structurales et fonctionnelles qui lui permettent de réagir à une variété d'influences nocives exogènes possibles (67). La fonction protectrice de l'épithélium gingival est également renforcée par la sécrétion de salive qui lubrifie physiquement les surfaces épithéliales et fournit une protection antimicrobienne par sa teneur en immunoglobines (Ig) A sécrétoires et lysozyme (68).

1.2 De l'espace interdentaire sain à la maladie parodontale

De toutes les parties du corps humain, l'EI est une entité particulière, véritable niche écologique pour laquelle l'organisme dispose de peu ou pas de défenses alternatives. Sa spécificité anatomique est une source de rétention bactérienne, l'histologie particulière du col interpapillaire pénalise le potentiel de protection (69). De même, la complexité d'accès aux techniques traditionnelles de prophylaxie individuelle et la restriction du débit salivaire sont autant de risques complémentaires qui favorisent le développement de maladies parodontales (6).

1.2.1 Microbiote oral

1.2.1.1 *Caractéristiques générales*

Le microbiome a évolué au cours de centaines de milliers d'années de cohabitation en une symbiose microbe-humain avec des avantages mutuels (70). La communauté écologique des micro-organismes commensaux, symbiotiques et pathogènes qui partagent notre espace corporel a d'ailleurs été longtemps ignorée comme un des déterminants de la santé et des maladies (71).

La cavité orale est fortement colonisée par une microflore buccale aussi appelée microbiote oral constitué de divers micro-organismes, notamment des bactéries, des virus, des protozoaires (*Entamoeba gingivalis* et *Trichomonas tenax*), des champignons (85 genres dont les genres prédominants sont *Candida*, *Cladosporium*, *Aureobasidium*, *Saccharomycetales*, *Aspergillus*, *Fusarium*, et *Cryptococcus*) et des archées (72–74). Le microbiote oral contient un nombre de communautés bactériennes qui diffèrent selon les sites de la cavité buccale qu'elles colonisent. La muqueuse buccale, les gencives et le palais dur ont un microbiote similaire, tandis que la salive, la langue, les amygdales et la gorge, ainsi que la plaque supra et sous-gingivale présentent chacune des communautés de micro-

organismes bien distinctes (Figure 10)(75). Ce microbiote oral est également connu comme un réservoir d'infection pour d'autres sites corporels (76).

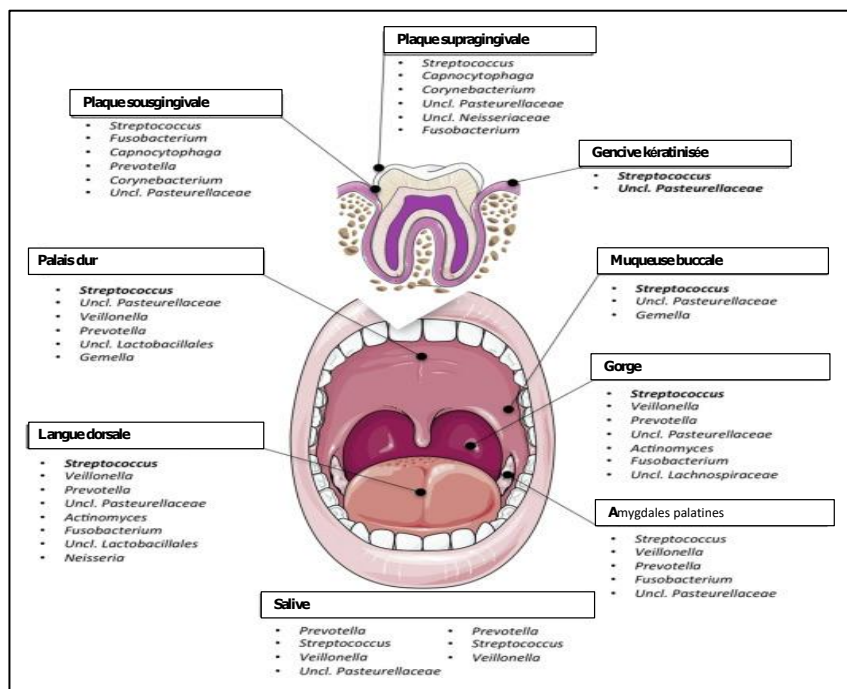


Figure 10. Caractérisation du microbiote oral en fonction de la localisation (77).

Le microbiote commensal de la cavité buccale est un écosystème complexe qui joue un rôle important dans le maintien de la santé orale et systémique. En fonction de la localisation, un microbiote résidant caractéristique se développe. La diversification du microbiote agit comme une protection contre les maladies (4). La composition du microbiote oral est impactée par de nombreux facteurs tels que le pH, l'atmosphère, et par les défenses immunitaires et la génétique de l'hôte. De plus, l'hôte fournit des nutriments endogènes et une variété de surfaces avec des microenvironnements bien distincts, telles que les surfaces dures des dents et les surfaces épithéliales des muqueuses, pour la formation des biofilms (78). D'autres facteurs tels que l'âge, le régime alimentaire, l'hygiène buccale, les conditions systémiques et immunitaires et l'utilisation de médicaments, qui induisent par exemple l'hyposalivation vont pouvoir aussi impacter la composition du microbiote oral (79).

La cavité orale, avec plus de 1000 espèces de bactéries répertoriées, contient la deuxième microflore la plus complexe du corps après l'intestin (73). L'étude des communautés microbiennes, révolutionnée par les approches métagénomiques et métatranscriptomiques, a révélé une énorme complexité (80). La liste des genres bactériens et des phylums est continuellement mise à jour dans la base de données du Microbiote Oral Humain (HOMD - Human Oral Microbiota Database) accessible au public (Figure 11)(81).

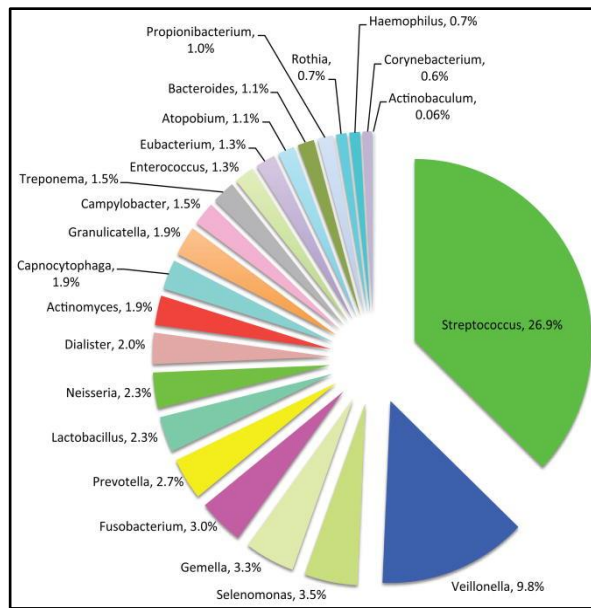


Figure 11. Répartition en pourcentage des micro-organismes oraux selon la base de données du microbiome oral humain (82).

Les communautés microbiennes au sein de la cavité buccale sont distinctes de celles des autres sites tels que l'intestin, le vagin, la peau et sont parmi les plus diverses en termes de diversité microbienne (83). Lors de l'initiation de pathologie bucco-dentaire (parodontite, carie), le microbiote se complexifie (84).

En l'absence de pathologie, les communautés microbiennes qui sont à faible diversité et richesse abritent des agents pathogènes clés, c'est-à-dire qu'elles abritent des organismes vivant en symbiose et des pathobionts à très basse fréquence et dans des proportions suffisantes pour assurer la santé. Certains micro-organismes sont associés à la santé parodontale, notamment le phylum *Protéobactérie* et la classe des bacilles *Firmicutes*, et les genres *Streptococcus*, *Actinomyces* et *Granulicatella* (85). Lorsque des perturbations environnementales se produisent dans les tissus parodontaux ou que l'hôte est génétiquement sensible, les agents pathogènes clés induisent une inflammation qui modifie le fondement nutritif de la niche écologique. La fondation nutritive altérée favorise l'expansion proportionnelle des pathobionts par rapport aux organismes vivant en symbiose, favorisant l'inflammation qui conduit finalement à la destruction du tissu conjonctif et des os. La diversité et la richesse sont plus élevées (84).

1.2.1.2 Organisation structurelle et développement des biofilms oraux

Alors que la recherche médicale s'est concentrée sur la phase planctonique des bactéries au cours des 100 dernières années, il est de nos jours généralement connu que les micro-organismes oraux sont organisés en biofilms (86) et que le microbiome oral peut être considéré comme un groupe de biofilms microbiens diversifiés (87). Les communautés microbiennes adhérentes aux dents forment des biofilms avec une organisation structurelle complexe (88). Les biofilms supragingivaux sont localisés sur les surfaces amélaire exposées alors que les biofilms sous-gingivaux sont localisés sous la gencive au niveau du sillon gingival et dans la poche parodontale (89). Les surfaces épithéliales plus transitoires nécessitent une stratégie de colonisation spécialisée, et bien que les organismes forment des biofilms sur ces surfaces, il y a moins de temps pour la maturation du biofilm qu'avec les surfaces abiotiques ou dentaires. De plus, les bactéries pénètrent et se développent dans les tissus épithéliaux et même intracellulairement (90).

Les biofilms sont comme des cellules fixées de manière irréversible à une surface ou une interface, incorporées dans une matrice de substances polymères extracellulaires (EPS) que ces cellules ont produites, et incluant les composants non cellulaires ou abiotiques (91). Au sein du biofilm, au niveau des espèces microbiennes, la physiologie cellulaire est assez hétérogène, ce qui signifie que les cellules peuvent être à différents stades physiologiques même lorsqu'elles sont proches les unes des autres. Lorsque des facteurs environnementaux affectent une espèce, les cellules de la même espèce dans les couches plus profondes du biofilm peuvent rester indemnes (92). La biomasse du biofilm est constituée en majeure partie de substances polymères extracellulaires hydratées (jusqu'à 97% d'eau) plutôt que des cellules microbiennes (93). Les EPS remplissent et façonnent l'espace entre les cellules du biofilm, déterminant directement l'environnement et les conditions de vie des cellules et apportent une stabilité mécanique au biofilm (94). Les propriétés structurelles et biochimiques de la matrice fournissent les propriétés émergentes des biofilms, y compris l'adhésion de surface, les interactions sociales, la capture des ressources par sorption, la rétention enzymatique qui fournit des capacités digestives et une tolérance antimicrobienne (Figure 12)(95).

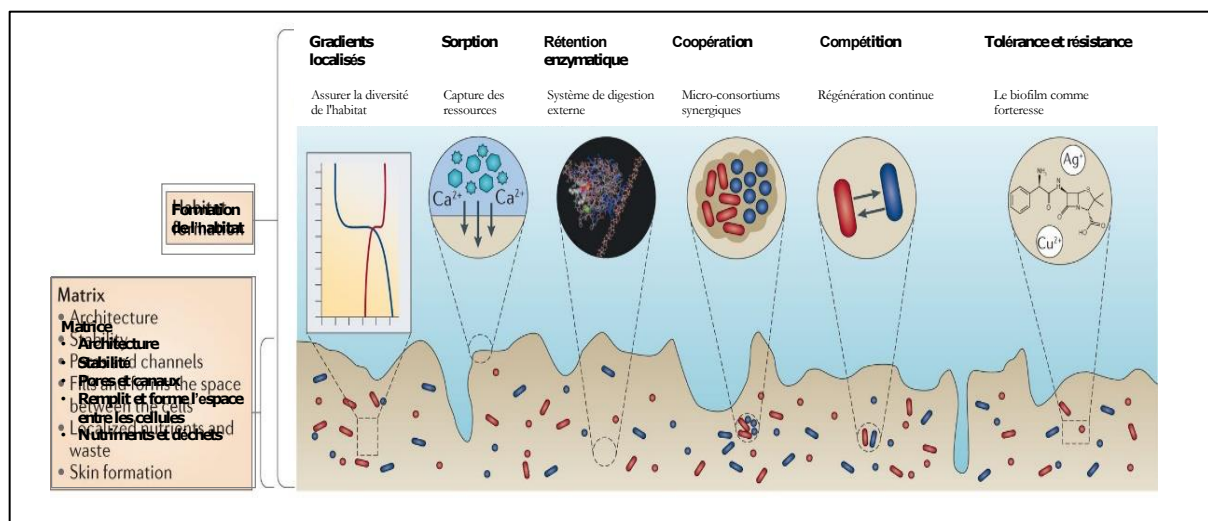


Figure 12. Propriétés émergentes des biofilms et formation de l'habitat (95).

La tolérance antimicrobienne des biofilms oraux est due aux propriétés physicochimiques de la matrice qui peuvent également fournir une protection aux bactéries intégrées en réduisant l'accès aux médicaments. Par exemple, les EPS peuvent se lier aux antimicrobiens cationiques tels que la chlorhexidine (CHX) et les peptides antimicrobiens empêchant la pénétration dans les couches plus profondes du biofilm, et réduisant ainsi l'efficacité de destruction (96,97).

La matrice permet aux cellules de s'organiser en écosystèmes multicellulaires cohésifs où des interactions coopératives et antagonistes se produisent dans un milieu chimique et physique hétérogène aidant à créer des niches localisées avec des potentiels pathogènes différents (95). Elle a un rôle d'échafaudage qui fournit stabilité structurale et protection au biofilm (98). Les principaux composants de la matrice sont les polysaccharides, l'ADN extracellulaire, ainsi que les protéines et les glycoprotéines de l'hôte (79,98). La matrice est entourée de canaux d'eau qui permettent aux nutriments et autres agents de passer, ressemblant à un système circulatoire primitif. Ces canaux créent un énorme labyrinthe composé principalement d'exopolysaccharides, dont le rôle est essentiel pour sauvegarder l'intégrité d'un biofilm en croissance constante (99).

- *La communication inter-espèces au sein du biofilm oral*

De nombreuses études ont montré l'existence d'un système de communication très élaboré au sein du biofilm oral composé de différentes modalités d'échange entre les micro-organismes telles que : le contact physique, la communication métabolique, la communication par petit signal, l'échange génétique. Cette communication inter-espèces joue un rôle fondamental dans la formation, la croissance et la maturation du biofilm (100). La communication par petit signal chimique ou autrement appelé le Quorum Sensing (QS) est un processus de synthèse et de réaction

aux molécules-signal sécrétées par les bactéries elles-mêmes (101). Le QS permet aux bactéries de détecter la concentration des autres bactéries présentes dans un microenvironnement limité et de répondre en activant certains gènes qui produisent ensuite par exemple des facteurs de virulence tels que les enzymes ou les toxines (98). Les bactéries ne sont pas des agents pathogènes pleinement armés jusqu'à ce qu'elles atteignent la concentration où le QS active la production des facteurs de virulence (102). Ces bactéries ne sont que des colonisateurs innocents jusqu'à ce que le QS soit activé (103). Le QS contrôle un large éventail de réponses, y compris l'adhésion bactérienne à la surface, la production de matrice extracellulaire et la compétence (104).

Structurellement, les molécules-signal du QS ont un faible poids moléculaire et appartiennent à un large éventail de classes chimiques, y compris les Acyl Homosérine Lactones (AHLs), les furanosyl borate diesters aussi nommées Autoinducteur-2 (AI-2), les acides gras insaturés de configuration cis (signaux de la famille « Diffusible Signal Factor ») et les peptides (102). Les auto-inducteurs peptidiques sont les plus répandus dans la cavité buccale. AI-2 est produit par plusieurs genres de bactéries orales Gram-positives et Gram-négatives et peut être un "langage universel" pour la communication inter-espèces et inter-règne dans les biofilms dentaires, et l'efficacité de la signalisation pourrait être renforcée par la co-adhésion (105). *Streptococcus gordonii* (*S. gordonii*) et *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) utilisent tous les deux AI-2 (106). Cette molécule-signal produite par *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) a eu un effet différentiel sur la formation de biofilm lorsqu'elle était cultivée avec deux espèces différentes de streptocoques oraux : la formation de biofilm a été améliorée lorsqu'elle était cultivée avec *S. gordonii* mais réduite dans une culture avec *Streptococcus oralis* (*S. oralis*) (107).

Ces stratégies de signalisation d'une cellule à l'autre pourraient permettre aux cellules de détecter et de s'adapter à divers stress environnementaux et, par conséquent, de réguler et de coordonner l'expression de gènes qui influencent la capacité des agents pathogènes à provoquer des maladies (105). Donc, la communication entre les espèces bactériennes au sein du biofilm oral améliore leurs chances de survie et joue ainsi un rôle majeur dans l'étiopathologie de la MP (100).

- *Transfert de gènes*

La proximité des cellules bactériennes au sein des biofilms offre des conditions idéales pour le transfert horizontal de gènes (HTG) (105). Le HTG permet aux bactéries buccales de récupérer des gènes à partir d'un immense métagénome et ainsi d'augmenter leur potentiel d'adaptation aux changements de l'environnement buccal (108). La conjugaison, la transduction et la transformation sont les trois principaux mécanismes du HTG. La conjugaison est le transfert direct de plasmides et de transposons conjugatifs entre les cellules vivantes d'un donneur et d'un receveur. La

transduction est le transfert d'ADN génomique de l'hôte par un bactériophage. La transformation est l'absorption d'ADN extracellulaire exogène souvent libéré des cellules bactériennes mortes dans l'environnement (108,109). L'ADN peut également être transféré *via* des vésicules membranaires dans des bactéries Gram-négatives (110). Il s'agit d'un autre processus impliqué dans le HTG qui mérite d'être mentionné ici car il pourrait être directement pertinent pour le mode de vie du biofilm (108). Le transfert horizontal de gènes est considéré comme le principal mécanisme d'acquisition des gènes de résistance aux antibiotiques, qui sont richement présents dans l'environnement oral (111). La quantité croissante de preuves concernant le HTG dans la cavité orale humaine montre que ce processus est important dans l'adaptabilité de la communauté orale (108).

- *Cycle de vie du biofilm oral*

Un cycle classique de vie d'un biofilm comprend trois phases, qui impliquent des facteurs moléculaires spécifiques : (i) l'attachement bactérien, (ii) la croissance et la maturation du biofilm et (iii) la dispersion ou le détachement du biofilm (Figure 13)(112,113).

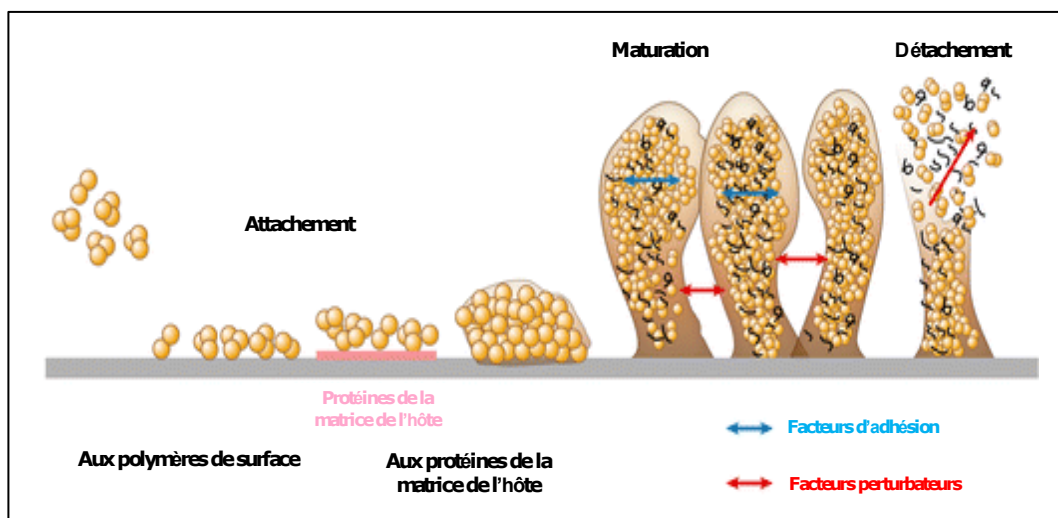


Figure 13. Différentes phases du développement d'un biofilm (114).

Les biofilms de surface de la cavité buccale sont constamment immergés dans la salive. La myriade de protéines et de glycoprotéines présentes dans la salive assure la lubrification pour la mastication et la sensation gustative, et soutient et antagonise la formation de biofilm (115). Un film salivaire et ses protéines constitutives recouvrent les dents et les muqueuses formant la pellicule acquise exogène (PAE)(116). Il s'agit d'un film protéique qui module l'adsorption précoce du microbiote oral (86). En passant de la couronne dentaire au sillon gingival, la composition du film salivaire change et la proportion de protéines sériques augmente en raison de la proximité avec

le liquide sulculaire gingival (GCF - Gingival Crevicular Fluid)(117). Les protéines salivaires (glycoprotéines) y compris les IgA sécrétoires (118), les mucines (119), l'agglutinine (120) et les protéines riches en proline (121) peuvent favoriser l'adhésion microbienne en facilitant ainsi l'initiation de la formation du biofilm (116). Les micro-organismes oraux qui ne peuvent pas adhérer à une surface sont transportés par le flux salivaire dans le tube digestif. Il n'est donc pas surprenant que toutes les bactéries buccales possèdent des mécanismes d'adhésion aux surfaces solides recouvertes de pellicules salivaires telles que les dents, aux surfaces desquamantes telles que le tissu épithélial ou aux bactéries déjà fixées à la surface (89). La salive et le régime alimentaire de l'hôte jouent un rôle clé dans la modulation de la structure du biofilm oral, l'organisation spatiale, les microenvironnements et le développement des communautés microbiennes (79). Des données principalement dérivées des études en laboratoire suggèrent que les micro-organismes pionniers qui sont les premiers colonisateurs adhèrent *via* des mécanismes adhésine-récepteur spécifiques aux molécules du film salivaire qui recouvre les surfaces buccales (122). *Actinomyces* spp., *Streptococcus* spp., *Haemophilus* spp., *Capnocytophaga* spp., *Veillonella* spp., et *Neisseria* spp., sont les genres pionniers les plus courants adhérant au film salivaire (104). Les deuxièmes colonisateurs ont une tendance naturelle à adhérer à d'autres microbes et ce processus appelé la co-adhésion, l'adhésion des cellules planctoniques à des organismes déjà attachés sur une surface, facilite la formation de biofilms multi espèces (89). Au stade de la maturation du biofilm, les récepteurs agissant comme sites de reconnaissance et de liaison pour les futurs colonisateurs secondaires, tels que *F. nucleatum*, *Treponema* spp., *Tannerella forsythensis* (*T. forsythensis*), *P. gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), sont exposés au niveau de la surface microbienne (123). Dans le cas spécifique de *F. nucleatum*, la bactérie est capable de survivre à des concentrations élevées d'oxygène, ce qui fait d'elle l'une des espèces bactériennes la plus importante en raison de son rôle de pont entre les organismes aérobies et anaérobies et de sa participation active à la formation du biofilm (104). Dans le cas particulier de *F. nucleatum*, il a été découvert que, s'il n'était pas présent dans la cavité buccale, plusieurs colonisateurs secondaires ne pourraient jamais faire partie du consortium de la plaque dentaire (89). Un biofilm mature remplace et synthétise continuellement les exopolysaccharides dans la matrice extracellulaire, ce qui contribue à sa stabilité. Cette matrice est une barrière physique qui permet la communication métabolique, empêche la dessiccation due à la rétention d'eau et de nutriments, et établit les gradients de pH et d'oxygène (92). À des stades ultérieurs, les biofilms matures peuvent libérer de petits agrégats ou même des cellules individuelles, grâce à un processus appelé dispersion, souvent par dégradation de la matrice, pour ensemencher des sites non colonisés et relancer le cycle de vie du biofilm (124). Plusieurs études ont fait valoir

que le processus de dispersion du biofilm est le point de départ des infections systémiques car il déclenche la libération de bactéries dans l'hôte (125,126).

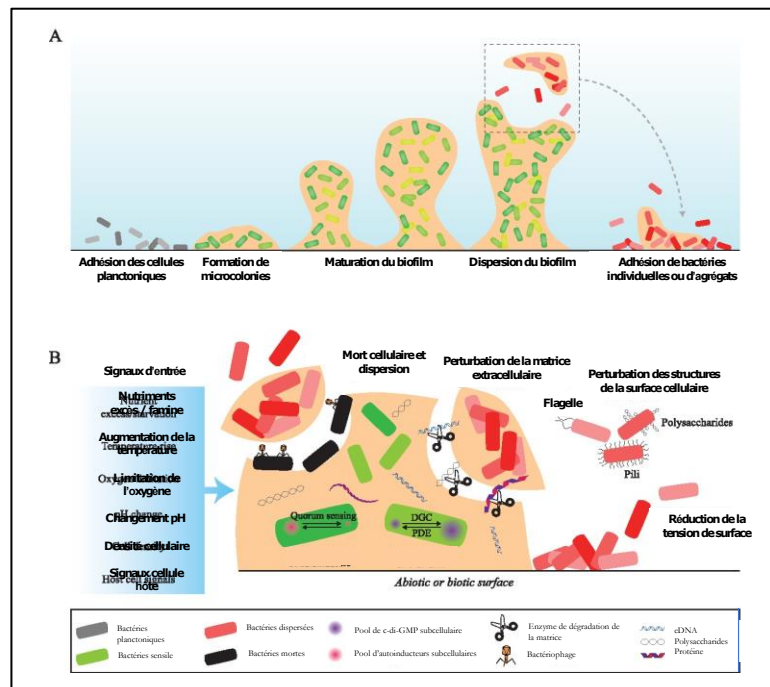


Figure 14. Cycle de vie des biofilms et principaux acteurs impliqués dans leur dispersion (124).

A. Le développement du biofilm implique l'adhésion des cellules à une surface, la formation de micro-colonies et la maturation du biofilm avec l'émergence de structures tridimensionnelles, à partir desquelles les bactéries peuvent se disperser et coloniser de nouveaux environnements. B. En réponse à des signaux d'entrée, les bactéries peuvent provoquer une dispersion et s'échapper du biofilm.

1.2.2 Microbiote interdentaire et santé parodontale

Très peu d'études se sont intéressées au microbiote de l'EI de sujet sain car la majorité s'intéressent au microbiote sous-gingival de sujets atteints de gingivite ou parodontite. Dans une étude de 2016, Carrouel *et al.* ont démontré que chaque EI d'un sujet sain (pas de signes cliniques de gingivite ni de parodontite) comptait environ 10^{10} bactéries (127). Parmi ces bactéries, les principaux agents pathogènes parodontaux ont été retrouvés. Ils appartenaient aux complexes de Socransky : (i) complexe bleu (*Actinomyces viscosus* (*A. viscosus*)), (ii) complexe violet (*Actinomyces odontolyticus* (*A. odontolyticus*), *Veillonella parvula* (*V. parvula*)), (iii) complexe vert (*A. actinomycetemcomitans*, *Campylobacter concisus* (*C. concisus*), *Capnocytophaga ochracea* (*C. ochracea*), *Capnocytophaga sputigena* (*C. sputigena*), *Eikenella corrodens* (*E. corrodens*)), (iv) complexe jaune (*Streptococcus mitis* (*S. mitis*) and *Streptococcus spp.*), (v) complexe orange (*Campylobacter gracilis* (*C. gracilis*), *Campylobacter rectus* (*C. rectus*), *F. nucleatum*, *Parvimonas micra* (*P. micra*), *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*) et *Prevotella nigrescens* (*P. nigrescens*)), et (vi) complexe rouge (*P. gingivalis*, *T. forsythia* et

Treponema denticola (*T. denticola*). Le complexe rouge qui regroupe les 3 principaux agents parodontopathogènes représentait environ 8% des 19 bactéries de Socransky analysées (127).

L'espèce la plus abondante était *F. nucleatum* qui appartient au complexe orange. Des études antérieures sur *F. nucleatum* ont démontré que c'était l'espèce la plus abondante dans le microbiote sous-gingival de sujets en bonne santé parodontale (128). Le rôle de *F. nucleatum* est actuellement encore controversé. D'une part, *F. nucleatum* est considéré comme un pathogène opportuniste qui appartient au complexe orange et qui favoriserait la formation de plaque dentaire en servant de bactérie de pontage entre les espèces de la cavité buccale colonisant précocement et tardivement (129). D'autre part, *F. nucleatum* est considéré comme une bactérie commensale ou bénéfique en raison de sa capacité à induire la production de peptides antimicrobiens dans les cellules épithéliales gingivales (130,131).

Les espèces les moins abondantes étaient *A. viscosus*, *P. gingivalis* et *A. actino*. Chez 19% de ces sujets en bonne santé, *P. gingivalis* a été détecté et représentait 0,02% du biofilm interdentaire. Il était en quantité infectieuse. *T. forsythensis* et *T. denticola* représentaient respectivement 0,02 et 0,04% du biofilm interdentaire et ont été détectés chez 93 et 49% des sujets en bonne santé, respectivement.

Ainsi, le biofilm interdentaire des sujets sains renferme des bactéries parodontopathogènes ce qui est signe de probabilité d'un risque de MP.

1.2.2.1 Étiologie microbienne de la maladie parodontale

La MP est une maladie multifactorielle dont l'un des facteurs principaux est la présence de bactéries parodontopathogènes. Trois hypothèses ont été proposées pour expliquer l'étiologie microbienne des maladies parodontales : non spécifique, spécifique et écologique (132).

- *L'hypothèse de plaque non spécifique*

Cette hypothèse a ses origines au XIX^{ème} siècle (4). Initialement, l'hypothèse expliquait que les infections dentaires étaient causées par la prolifération non spécifique de toutes les bactéries dans la plaque dentaire. L'hypothèse de plaque non spécifique a ensuite été étendue pour stipuler que la parodontite destructrice était le résultat de la colonisation sous-gingivale, favorisée par les changements écologiques associés à l'accumulation de plaque. Ces changements augmentent le nombre de micro-organismes et modifient leurs proportions, mais aucune espèce bactérienne spécifique n'est plus importante qu'une autre dans sa capacité à provoquer une MP (133). Ainsi, cette hypothèse s'est concentrée sur la masse de plaque, c'est-à-dire la quantité et non sur des

espèces particulières qui peuvent jouer un rôle majeur dans l'étiopathogénie. Ainsi, comme toute la plaque aurait le potentiel de provoquer la MP, il serait nécessaire d'éliminer mécaniquement de manière non spécifique la plus grande quantité possible de la plaque dentaire, par exemple par le brossage dentaire ou le nettoyage interdentaire, afin de prévenir les MP (134).

- *L'hypothèse de plaque spécifique*

D'après cette hypothèse seules quelques espèces du microbiome oral sont impliquées dans le processus de la maladie. Ceci permet d'expliquer pourquoi de nombreux patients présentent des dépôts de plaque importants alors qu'une minorité souffre d'une grave parodontite destructrice.

Les résultats de Socransky *et al.* sont en faveur de cette hypothèse (99,135). Les auteurs ont regroupé les bactéries associées à la MP en complexes de couleurs (Figure 15). Les bactéries des complexes de Socransky bleu (*Actinomyces*), vert (*E. corrodens*, *Capnocytophaga gingivalis*, *C. sputigena*, *C. ochracea*, *Campylobacter concisus*, *A. actinomycetemcomitans* sérotype a), jaune (*S. mitis*, *S. oralis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus spp.*) et violet (*V. parvula*, *A. odontolyticus*) étaient compatibles avec un état de santé gingivale. La mise en place progressive des bactéries du complexe orange (*P. intermedia* F. *nucleatum*, *C. gracilis*, *C. rectus*...) et du complexe rouge (*P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*) était liée à l'apparition de la MP (423).

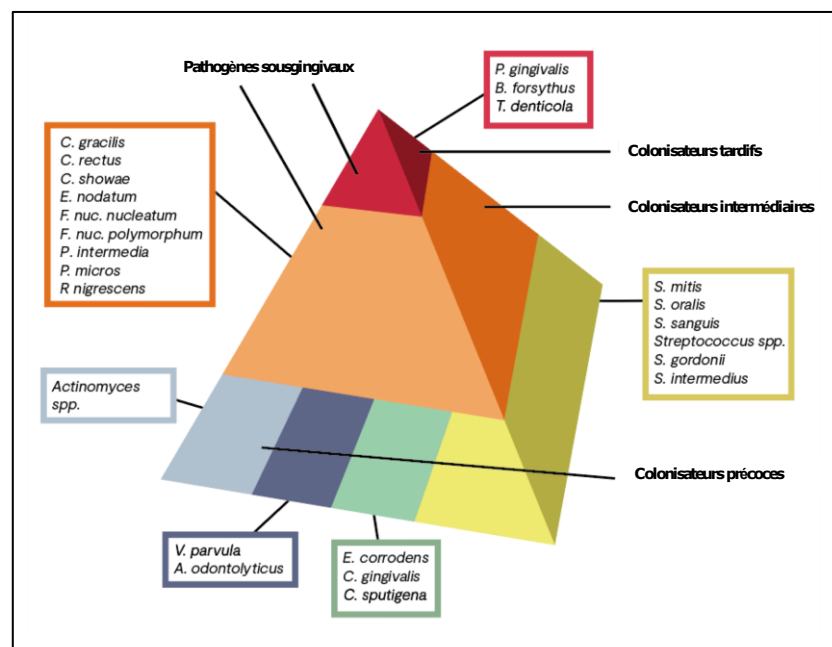


Figure 15. Microbiote sous-gingival associé à l'apparition de la maladie parodontale. Les bactéries de la base de la pyramide sont compatibles avec la santé parodontale alors que plus on va vers le sommet de la pyramide, plus les bactéries sont associées avec la maladie parodontale.

Selon cette hypothèse, il faut donc cibler les pathogènes bactériens responsables de la MP, et donc utiliser uniquement des procédures qui conduisent à l'élimination de ces espèces et non pas de toutes les autres espèces bactériennes. Le traitement avec des antibiotiques spécifiques pourrait permettre de guérir ou de prévenir la MP (134).

Si l'on suppose que les agents pathogènes sont anaérobies stricts, il peut être inutile d'éliminer tous les dépôts de plaque et suffisant d'éliminer les agents pathogènes ou de favoriser le développement d'une nouvelle communauté où les anaérobies sont incapables de survivre. Ceci peut être réalisé en perturbant simplement le biofilm et pourrait expliquer le succès obtenu par le débridement de la surface radriculaire. Les patients à risque peuvent être identifiés par la présence de l'agent pathogène spécifique dans la cavité buccale. Cela pourrait conduire à des traitements ciblés sur des bactéries spécifiques, utilisant une chimiothérapie antibiotique une fois que les sensibilités aux antibiotiques sont connues, ou à de nouvelles mesures thérapeutiques, y compris des vaccinations, ou à l'utilisation de peptides pour empêcher l'adhésion bactérienne et la colonisation qui s'ensuit.

- *L'hypothèse de plaque écologique*

Cette hypothèse reprend les concepts clés des hypothèses antérieures (136). La MP est le résultat d'un déséquilibre de la microflore totale due au stress écologique (présence de nutriments et de cofacteurs essentiels, pH et potentiel redox), entraînant un enrichissement de certains « pathogènes oraux » ou micro-organismes liés à la maladie (136).

Il existe une relation dynamique entre l'environnement de l'hôte et le microbiote sous-gingival résidant. Une augmentation des quantités du biofilm autour de la gencive marginale entraîne une réponse inflammatoire de l'hôte qui, à son tour, modifie les conditions environnementales locales. Ces changements sélectionneront une communauté microbienne plus protéolytique qui continuera de stimuler la réponse inflammatoire, fournissant des pressions de sélection supplémentaires pour un consortium microbien protéolytique et anaérobie mieux adapté au nouvel environnement. Les facteurs de risque de l'hôte (tabagisme, défauts des défenses de l'hôte, etc.) peuvent augmenter le risque que des changements écologiques délétères se produisent dans le microbiote (137). Donc, ce sont les perturbations écologiques des communautés bactériennes sous-gingivales qui causent la MP (Figure 16)(78).

L'hypothèse de la plaque écologique a été affinée par la proposition selon laquelle certains pathogènes microbiens de faible abondance peuvent provoquer des maladies inflammatoires en interférant avec le système immunitaire de l'hôte et en remodelant le microbiote, conduisant à la gingivite et à la parodontite (138).

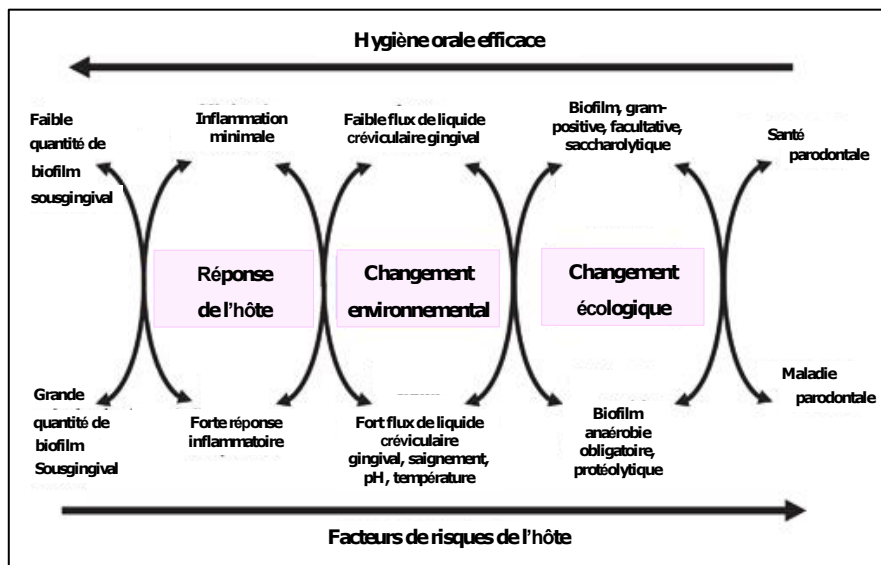


Figure 16. Hypothèse de plaque écologique en relation avec la maladie parodontale (137).

1.2.2.2 Dysbiose du microbiote à l'origine de la maladie parodontale

L'équilibre complexe entre les espèces résidentes dans la cavité buccale est responsable du maintien d'un état sain (en symbiose) ou d'un état associé à la maladie (en dysbiose). Un microbiome dysbiotique est un microbiome dans lequel la diversité et les proportions relatives des espèces ou des taxons au sein du microbiote sont perturbées (139). Le système immunitaire de l'hôte et la flore commensale résidente peuvent s'influencer mutuellement pour maintenir l'homéostasie. Une dysbiose dans le microbiote entraînera inévitablement une dysrégulation de la réponse immunitaire locale à ce site (140). Une communauté microbienne dysbiotique subvertit la réponse de l'hôte de sorte que la plupart des dommages tissulaires sont dus à un niveau d'inflammation inapproprié et incontrôlé (66,138).

Il existe une relation étroite entre la dysbiose, qui est un déséquilibre du microbiote, et la maladie. Ce manque d'équilibre du microbiote dépend largement des interactions coopératives et compétitives entre les microbes buccaux lors de la formation de la communauté de biofilm pathogène sur les sites gingivaux (141). Plusieurs processus sous-tendent la transition d'une communauté microbienne vers un état de dysbiose (90).

Le système immunitaire de l'hôte et la flore commensale résidente peuvent s'influencer mutuellement pour maintenir l'homéostasie. Une dysbiose dans le microbiote entraînera inévitablement une dysrégulation de la réponse immunitaire locale à ce site (140).

Durant des décennies, la parodontite a été considérée comme une maladie causée par des bactéries ou des groupes de bactéries spécifiques (132). De nombreuses études ont démontré que les communautés microbiennes associées à la parodontite diffèrent de celles de la santé. Une triade de bactéries anaérobies orales forme le complexe rouge qui comprend *P. gingivalis*, *T. denticola* et *T. forsythia*. Ces bactéries ont traditionnellement été considérées comme des agents responsables de la parodontite, en raison de leurs propriétés de virulence et de leur forte association avec les sites malades (99). Au cours des mêmes décennies, des preuves considérables ont été présentées, indiquant qu'il est plus probable que la réponse de l'hôte à ces bactéries conduise aux changements tissulaires observés dans la gingivite et la parodontite. Ainsi, il semble que ce soient les réponses inflammatoires et immunitaires de l'hôte, et non des bactéries spécifiques ou leurs facteurs de virulence « putatifs », qui déterminent si la parodontite se développe et progresse (132).

Les avancées récentes dans les technologies de séquençage de l'ADN et de bio-informatique ont permis une résolution deux fois plus élevée de la composition de la communauté bactérienne (142) et permettent aux chercheurs de profiler les communautés microbiennes associées à la maladie et de quantifier les activités métaboliques microbiennes et les réponses transcriptionnelles de l'hôte. Une étude moléculaire récente réalisée par pyroséquençage de l'ARNr 16S gène amplicons fournit un panorama plus large du microbiome sous-gingival confirmant l'association de *P. gingivalis*, *T. denticola* et *T. forsythia* avec la parodontite, et révélant de nouvelles espèces, parmi elles *Filifactor alocis*, fortement associé à la maladie (142).

Compte tenu des arguments cités ci-dessus nous parlons aujourd'hui de dysbiose orale plutôt que de pathogènes parodontaux spécifiques. La MP est associée à la dysbiose (141,143). Elle semble résulter d'une réaction inflammatoire inappropriée au microbiote normal, exacerbée par la présence de certaines espèces bactériennes associées à la maladie (76). Certains agents pathogènes opportunistes qui vivent comme des commensaux chez des hôtes sains mais qui peuvent provoquer des maladies chez des hôtes sensibles (par exemple, des individus immunodéficients) sont appelés « pathobionts ». La prolifération de ces agents pathogènes est souvent déclenchée par une immunodéficiences, une infection par un agent pathogène et un traitement avec des antibiotiques et des médicaments nuisibles à l'hôte (Figure 17)(144).

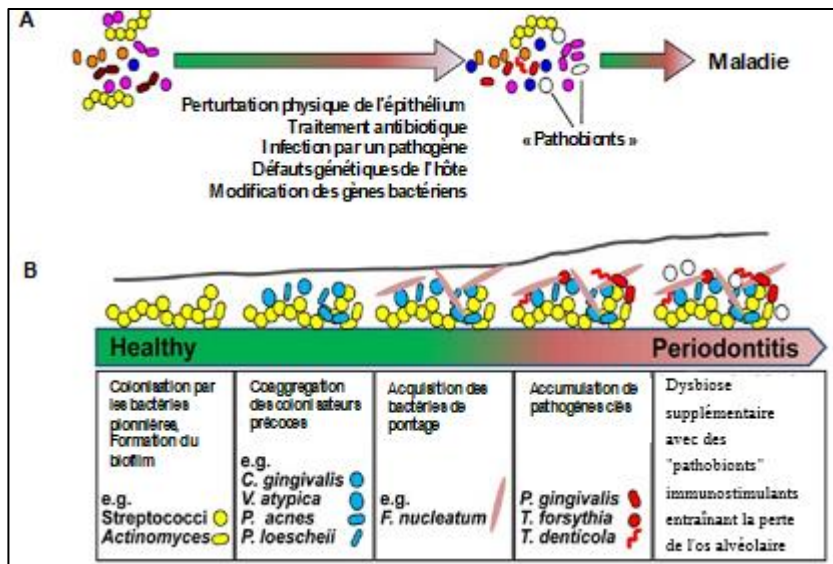


Figure 17. De la santé à la maladie parodontale (141).

A. Rôle des pathobionts et de la dysbiose dans la parodontite. B. Dysbiose pendant le développement de la parodontite.

Une étude menée par Abusleme *et al.* démontre également que dans le cas de parodontite l'évidence clinique d'une inflammation accrue n'est pas associée à un microbiome distinct, mais correspond plutôt à une biomasse communautaire plus élevée (72). Une charge microbienne plus élevée peut représenter un plus grand défi pour l'hôte, qui réagit par une inflammation accrue qui, à son tour entraîne une augmentation de la biomasse *via* une offre plus importante des nutriments dérivés de l'hôte (72).

P. gingivalis, la bactérie la plus étudiée dans les modèles de parodontite, est une bactérie Gram-négative impliquée dans la dysbiose orale. Cette bactérie même en petite quantité peut élever la virulence de toute la communauté polymicrobienne. Ces faibles niveaux de colonisation par *P. gingivalis* sont suffisants pour déréguler les voies immunitaires innées, faciliter une augmentation de la biomasse communautaire globale et déclencher la destruction parodontale (145). Les micro-organismes associés à la parodontite contribuent plus efficacement à une augmentation globale de la biomasse communautaire en existant en faible abondance, comme la capacité croissante de la communauté peut être le résultat d'un équilibre écologique délicat entre interactions mutualistes et antagonistes parmi ses membres (72).

P. gingivalis induit la dysbiose en altérant les défenses innées de l'hôte tout en favorisant les réponses inflammatoires dans les cellules phagocytaires (146).

1.2.3 Réaction immunitaire et inflammatoire de l'hôte

Bien qu'il ait été proposé que l'inflammation gingivale soit un facteur critique de progression vers des formes plus destructrices de MP (147), toutes les formes d'inflammation ne semblent pas être délétères. L'inflammation parodontale aiguë est importante pour la protection ou la guérison des tissus. Même en considérant les formes chroniques d'inflammation gingivale, toutes les inflammations gingivales ne progressent pas vers la parodontite (148). Il existe paradoxalement une forme de parodontite qui se développe indépendamment des signes cliniques d'inflammation (149). De plus, la capacité d'un clinicien à utiliser le statut inflammatoire d'un individu pour prédire la perte future d'attachement autour des dents est faible (150). Par conséquent, la seule présence d'une inflammation ne signifie pas nécessairement une maladie mais plutôt une adaptation physiologique des tissus sains aux agressions biologiques régulées par le génome. Certes, les mécanismes inflammatoires chroniques résultant de la relation entre l'environnement (par exemple, régime alimentaire, stress, bactéries) et la génétique (par exemple, les mécanismes spécifiques pour restaurer l'homéostasie, l'expression des gènes dans les tissus, la réponse inflammatoire) créent une dynamique complexe qui n'inclut pas ni n'exclue l'inflammation comme arbitre de la santé ou de la maladie (151).

Le maintien de la santé parodontale implique une réponse immunitaire complexe au biofilm dentaire. Puisque la surveillance par le système immunitaire protège un individu en reconnaissant et en répondant aux antigènes, lorsque le système immunitaire est débordé, les symptômes cliniques de la maladie deviennent évidents. La santé parodontale et inversement la sensibilité d'une personne aux maladies parodontales résultent d'une réponse inflammatoire ainsi que de l'activation de différentes voies immunitaires qui impliquent la régulation de l'immunité innée et acquise (6). Par conséquent, la réactivité du système immunitaire en combinaison avec la quantité et le type de divers antigènes peut affecter la santé du parodonte. Les personnes dont la réponse immunitaire est défectueuse (par exemple, la parodontite agressive localisée, etc.) ainsi que celles dont la réponse immunitaire est hyperréactive peuvent voir leur santé parodontale affectée (152).

Lorsque les bactéries s'accumulent dans l'espace sulculaire, la réponse immunitaire de l'hôte va se mettre en place en deux temps (Figure 18)(153). Il y a tout d'abord déclenchement d'une réponse immunitaire innée. Les bactéries *via* leurs motifs de surface ou leurs produits de sécrétion sont reconnues par les récepteurs « Toll-like » de la surface des cellules immunitaires (154). Cette reconnaissance va déclencher une cascade de réactions intracellulaires conduisant à la production de cytokines et de chimiokines par les cellules immunitaires qui vont permettre le recrutement de nouvelles cellules immunitaires (153). Ainsi, lorsque la chimiokine CXCL-8 est synthétisée, des polynucléaires neutrophiles vont être attirés et synthétiser à leur tour différentes interleukines telles

que l'interleukine-1 (IL-1), l'interleukine-6 (IL-6), et le facteur de nécrose tumorale (TNF) α ainsi que des métalloprotéases matricielles telles que MMP-2, MMP-8, MMP-9 qui ont un rôle crucial dans les mécanismes de destruction tissulaire. De plus, ces polynucléaires neutrophiles peuvent sécréter la protéine RANK-L (ligand du récepteur activateur du facteur nucléaire kappa-B), qui intervient dans l'activation et la différenciation des ostéoclastes, et donc dans la résorption de l'os alvéolaire. De plus les fibroblastes suite à la reconnaissance des peptides bactériens vont synthétiser plusieurs protéines telles que TNF- α , IL-6, CXCL-8, RANK-L, MIP-1 α (protéine inflammatoire des macrophages), MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9... En parallèle, les monocytes vont permettre l'activation de ces cellules en ostéoclastes.

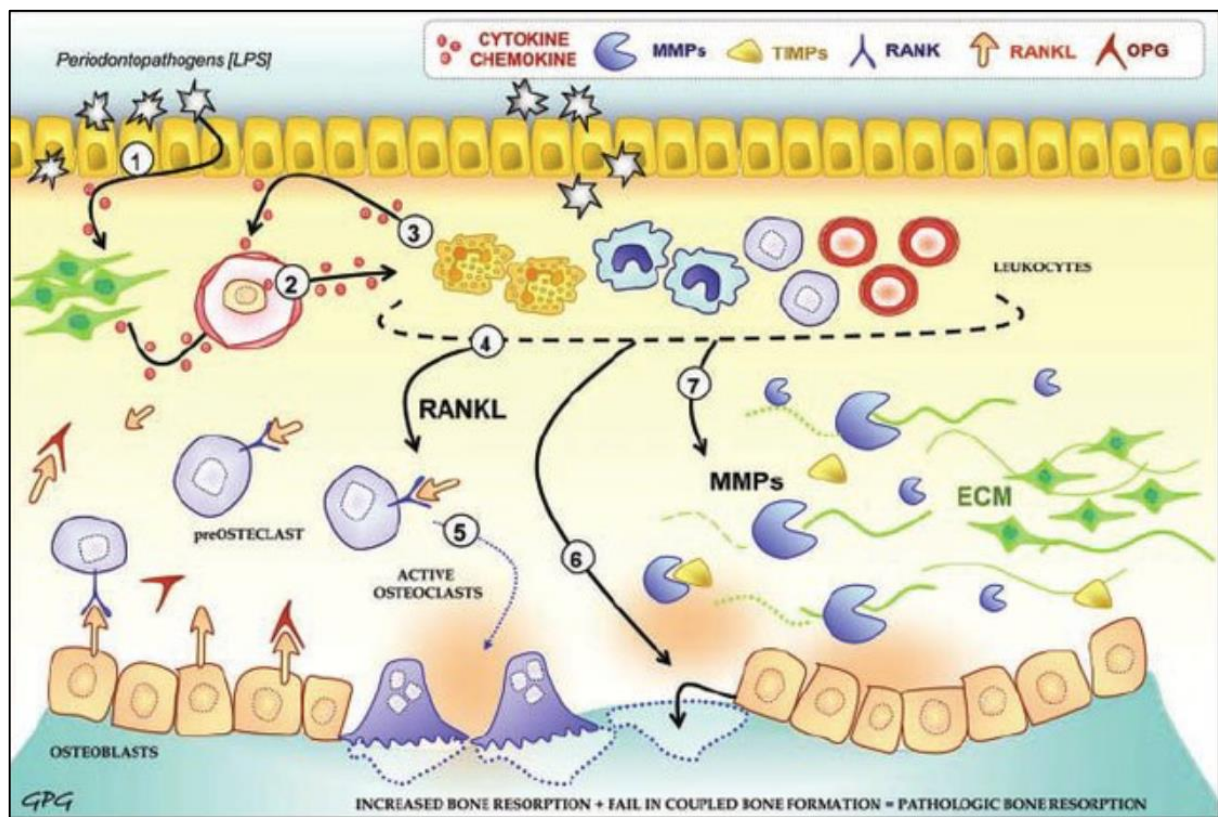


Figure 18. Voies cellulaires et moléculaires reliant la réponse immunitaire inflammatoire de l'hôte à la progression de la maladie parodontale (155).

La réponse immunitaire adaptative va alors se mettre en place. Les cellules dendritiques en plus de la synthèse de cytokines vont phagocyter les peptides bactériens et les présenter aux lymphocytes B et T qui vont alors s'activer et se différencier. Les lymphocytes B vont produire des anticorps dirigés spécifiquement contre les antigènes bactériens, formant ainsi des complexes immuns qui seront détruits par les cellules phagocytaires. Les lymphocytes T activés vont, soit produire un certain nombre de cytokines pro-inflammatoires qui vont exacerber les mécanismes de destruction tissulaire (lymphocytes T-CD4), soit se fixer à une cellule infectée en reconnaissant

un motif antigénique par son récepteur, et libérer alors des enzymes lysosomales qui vont éliminer la cellule infectée. De plus, les lymphocytes B vont synthétiser du RANK-L qui active les ostéoclastes. Les lymphocytes T synthétisent du RANK-L, de l'IL-17 et du TNF- α . En l'absence de maladie, RANK-L est inhibé par l'ostéoprotégérine produite par les ostéoblastes mais lorsque le processus de MP est enclenché, les fibroblastes parodontaux synthétisent moins d'ostéoprotégérine et donc RANK-L va se fixer à ses récepteurs présents à la surface des pré-ostéoclastes et permettre leur activation en ostéoclastes qui vont alors provoquer la résorption osseuse. En parallèle, le TNF- α inhibe la différenciation ostéoblastique et active la différenciation ostéoclastique ce qui contribue à la résorption osseuse. Cette protéine va aussi contribuer à la dégradation du ligament parodontal en produisant des MMP. La protéine IL-17 favorise la synthèse de RANK-L, et donc la résorption osseuse, mais elle va aussi contribuer au recrutement et à l'activation des cellules immunitaires et provoquer la synthèse de cytokines inflammatoires qui sont responsables des destructions tissulaires (153).

1.2.4 Maladie parodontale

1.2.4.1 *Généralités*

Les MP sont des maladies inflammatoires des tissus de soutien de la dent qui regroupent le tissu gingival, l'os alvéolaire dans laquelle la dent est ancrée, le ciment qui recouvre la racine, le ligament alvéolo-dentaire qui fait le lien entre ciment et os-alvéolaire (Figure 19). L'état pathologique inflammatoire du parodonte provient d'une dysbiose et d'une rupture de l'équilibre au sein de la plaque dentaire organisée en biofilms bactériens.

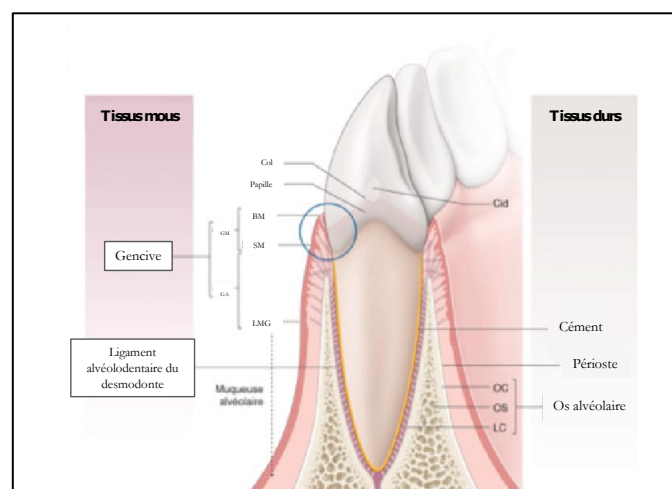


Figure 19. Description des éléments constitutifs du parodonte (156).

BM : bord marginal, CA : ciment acellulaire, CC : ciment cellulaire, Cid : contact interdentaire, GA : gencive attachée, GM : gencive marginale, LC : lame cribreuse, LMG : ligne de jonction muco-gingivale, OC : os cortical, OS : os spongieux, SM : sillon marginal.

Sous le terme actuel de MP sont regroupées les maladies gingivales, la parodontite, les maladies parodontales nécrotiques, les parodontites comme expressions cliniques d'autres maladies, et les maladies entraînant les destructions des tissus parodontaux en l'absence de parodontite (Figure 20)(157).

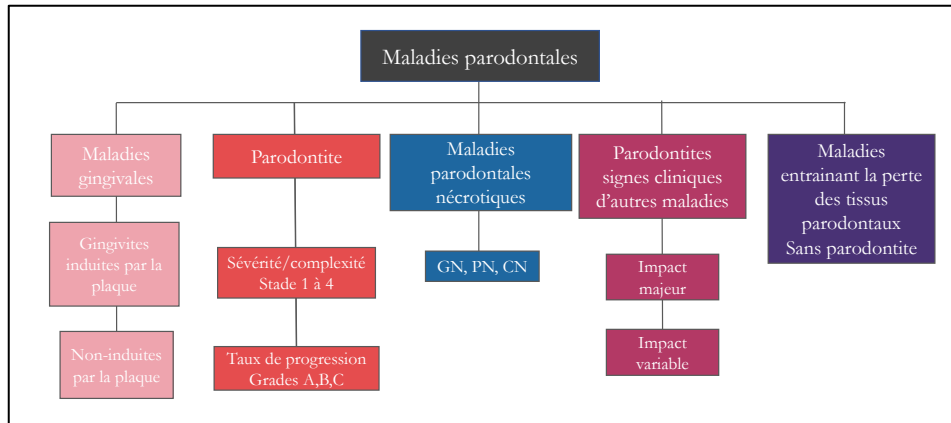


Figure 20. Classification des maladies parodontales (157).

GN : gingivite nécrotique, PN : parodontite nécrotique, SN : stomatite nécrotique.

Une gencive cliniquement saine est généralement associée à un infiltrat inflammatoire et une réponse de l'hôte compatible avec l'homéostasie (158). La gingivite est une conséquence presque inévitable d'une accumulation prolongée de biofilms sur les surfaces dentaires, elle disparaît après l'élimination de la plaque dentaire. C'est un état immuno-inflammatoire contrôlé qui ne compromet pas de façon permanente l'intégrité des tissus parodontaux qui soutiennent les dents. Cliniquement elle se caractérise par une inflammation légère et réversible de la gencive, souvent accompagnée de saignement lors du brossage dentaire (90).

La transition de l'état de parodonte sain vers une gingivite est réversible si l'inflammation gingivale est traitée. En revanche, l'évolution non traitée d'une gingivite peut conduire à la parodontite qui atteint les tissus parodontaux plus profond et un patient atteint de parodontite y reste susceptible toute sa vie malgré le traitement de la MP (158).

La définition la plus récente de la parodontite indique qu'il s'agit d'une maladie inflammatoire chronique et multifactorielle associée à une dysbiose du biofilm bactérien et conduisant à une destruction progressive de l'appareil d'attachement (159). Sans traitement, elle conduit à la résorption de la crête osseuse alvéolaire et à la perte de la dent (160). La parodontite met en jeu des interactions complexes entre le microbiote sous-gingival, des réponses immunitaires et inflammatoires de l'hôte, et des facteurs de modification de l'environnement (161) La

parodontite est la sixième maladie la plus répandue dans le monde, affectant plus de 700 millions d'adultes (162).

Étant donné que l'établissement d'une parodontite dépend de la réponse immunitaire de l'hôte, tous les cas de gingivite n'évoluent pas systématiquement en parodontite (Figure 21)(132). Il est maintenant reconnu que les interactions complexes entre les médiateurs de la réponse immunitaire et le biofilm régulent la progression de la maladie, du stade de la gingivite vers celui de la parodontite (138).

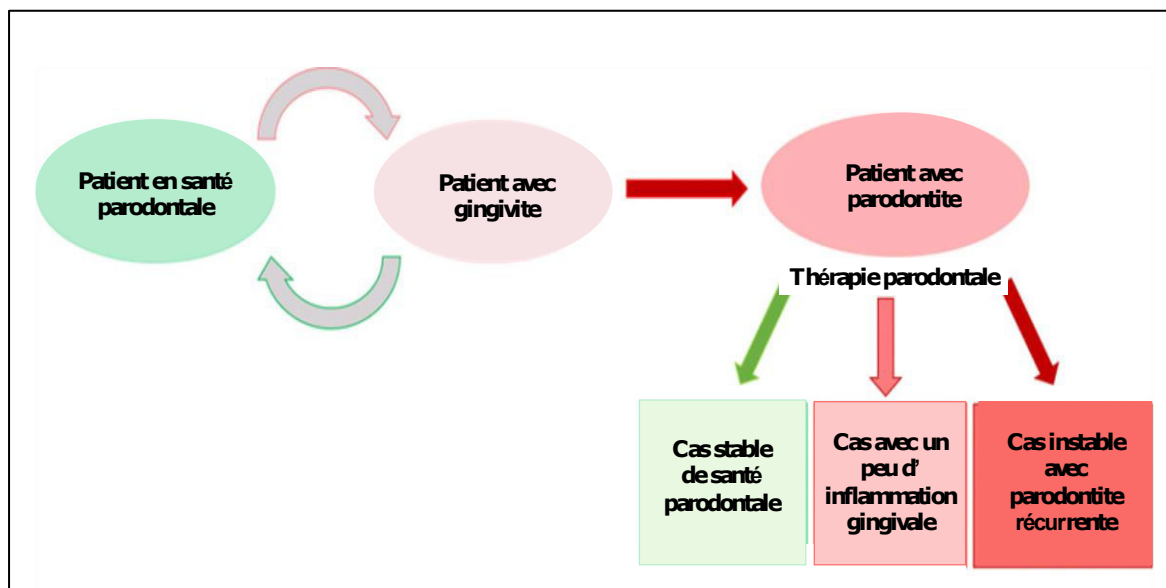


Figure 21. Transition de la santé parodontale vers la gingivite et son évolution en parodontite (158).

1.2.4.2 Signes cliniques de la maladie parodontale

Dans un contexte parodontal sain, l'attache épithéliale est la zone où les cellules épithéliales de la gencive s'insèrent sur la surface dentaire au niveau de la zone de JEC. L'attache épithéliale est détruite en présence de pathologie inflammatoire active et migre en direction apicale en rompant toute attache entre la racine dentaire et la muqueuse épithéliale. Cet espace nouvellement créé est appelé « poche parodontale », sa profondeur est mesurée cliniquement à l'aide d'une sonde parodontale à bout mousse et graduée en millimètres (Figure 22 Figure 23)(163).

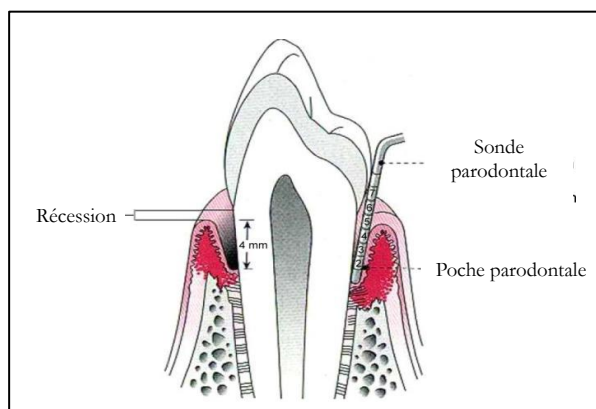


Figure 22. Profondeur de la poche parodontale au sondage (distance en millimètres de la gencive marginale à la base de la poche). Perte d'attache clinique (distance en millimètres de la jonction cément-émail à la base de la poche). Récession gingivale = 1 mm ; profondeur de la poche parodontale = 4 mm ; perte d'attache clinique = 5 mm (163).

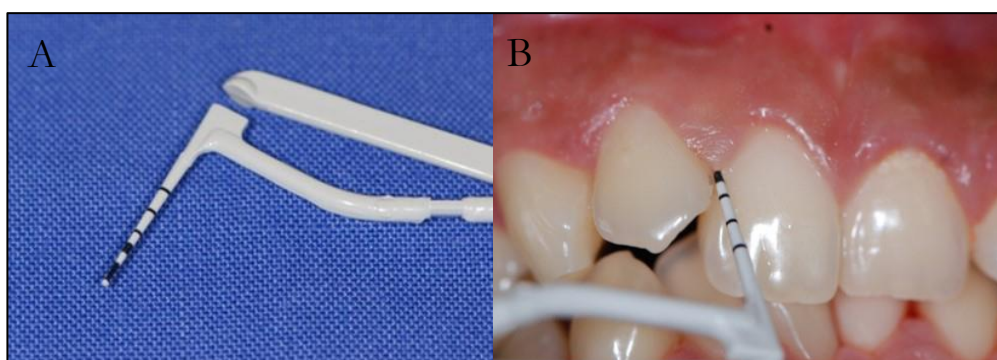


Figure 23. Exemple de sonde parodontale graduée (ici, sonde à pression constante) (A) et son utilisation en clinique (B). Le sondage révèle une profondeur de poche de 3 millimètres.

La deuxième mesure clinique qui complète la précédente lors de l'examen clinique est celle de la distance entre le fond de la poche parodontale et la JEC, c'est la « perte d'attache clinique » qui est l'addition entre profondeur de poche et récession gingivale éventuelle (Figure 24) (163). Profondeur de poche et perte d'attache sont deux mesures importantes dans l'établissement du diagnostic de la MP.

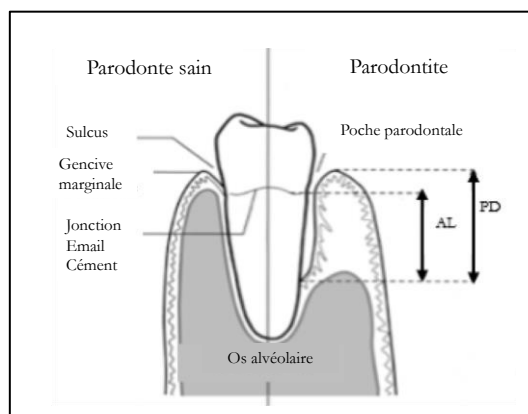


Figure 24. Diagramme comparant les tissus parodontaux sains à ceux atteints de maladie parodontale (164).

La perte d'attache clinique (AL) est la distance de la jonction émail-cément jusqu'à la base du sillon, mesurée en millimètres à l'aide d'une sonde parodontale. Cette distance a été calculée en soustrayant de la profondeur de la poche (PD) la distance de la gencive marginale à la jonction émail-cément

En effet, les signes cliniques d'une parodontite établis par Tonetti *et al.* (2018) sont (i) une perte d'attache clinique supérieure ou égale à 2-3 mm sur 2 dents adjacentes ou plus, (ii) une perte d'attache vestibulaire ou linguale/palatine supérieure ou égale à 3 mm avec profondeur au sondage de poche parodontale supérieure à 3 mm sur 2 dents adjacentes ou plus (159).

S'ajoutent aux mesures précédentes d'autres signes cliniques du type saignement au sondage parodontal, nombre de dents absentes et perte osseuse radiographique (165).

Le terme de « santé clinique idéale » a été défini pendant le consensus de 2018 et représente une entité rare se caractérisant par : aucune perte d'attache, aucun saignement au sondage parodontal, aucun sondage sulculaire supérieur à 3 mm, aucune présence de rougeur, gonflement/œdème clinique ou pus (166). Le saignement gingival lors du brossage ou lors des repas est un symptôme de maladies parodontales. Cependant l'absence de saignement lors du brossage des dents ou lors des repas ne présage pas de l'absence de MP. De récentes études, prouvent que l'adulte sain, qui ne présente pas de signes cliniques de gingivite, possède une flore bactérienne parodontopathogène (167). L'inflammation locale résultant de l'accumulation du biofilm provoque une augmentation du flux du fluide sulculaire gingival riche en nutriments et potentiellement un saignement, ce qui limite la quantité d'oxygène du site et favorise la croissance des pathogènes anaérobies (78).

L'ensemble des signes cliniques et radiographiques listés lors de l'examen sont ensuite à rapprocher de la classification actuelle des MPs établie pour un abord global cohérent en matière de diagnostic et de prise en charge des pathologies, donc d'amélioration des résultats thérapeutiques pour les patients (158).

1.2.4.3 Classification de la maladie parodontale et diagnostic

Les MPs sont reconnues et traitées depuis au moins 5000 ans. Pendant cette période, les cliniciens ont tenté de classer ces maladies en développant des systèmes de classification dans le but d'identifier plus facilement et rapidement les maladies en relation avec leur étiologie, leur pathogenèse et de les rapprocher d'un traitement. Les systèmes de classification communs permettent donc aux cliniciens de cibler au mieux les thérapeutiques parodontales en facilitant également une communication efficace entre professionnels de la santé par l'utilisation d'un langage commun (168).

La classification actuelle des conditions saines et pathologiques en parodontologie et en implantologie a été publiée en juin 2018 (169) et adoptée après la réunion mondiale de 2017 à Chicago réunissant la Fédération Européenne (EFP) et Américaine (AAP) de Parodontologie. Cette classification définit des conditions saines et pathologiques et ceci, sous la forme de quatre grandes catégories : (i) le parodonte sain et les maladies gingivales, (ii) les parodontites, (iii) les autres atteintes parodontales, (iv) les conditions péri-implantaires saines et pathologiques.

Les parodontites (2^e catégorie) sont des affections avec perte des tissus parodontaux de support, du fait de l'inflammation. Sur ce thème, la classification cible le diagnostic sur le patient et ses particularités. Elle met en lumière un point spécifique par rapport à l'ancienne classification de 1999 (141) : les appellations parodontites chroniques et parodontites agressives sont supprimées et remplacées par la catégorie plus générale des parodontites, avec un complément important précisant le stade et le grade de la parodontite.

Le stade dépend de la sévérité de la maladie et de la complexité du traitement. Le grade informe sur les aspects biologiques, la progression passée et future, le pronostic de la thérapeutique et le risque que la maladie influe sur la santé générale. Il sera associé ou non avec des facteurs de risque que sont le tabac et le diabète (157). Il permet de hiérarchiser le risque de progression de la maladie.

Concernant les 4 stades (Tableau 1), le stade 1 correspond aux parodontites débutantes, le stade 2 correspond aux parodontites modérées, le stade 3 correspond aux parodontites sévères avec le risque de perdre d'autres dents et le stade 4 correspond aux parodontites sévères avec risque de perdre toutes les dents.

Concernant les 3 grades (Tableau 2), le grade A correspond aux parodontites à progression lente, le grade B correspond aux parodontites à progression modérée, le grade C correspond aux parodontites à progression rapide. Le tabac et le diabète sont des facteurs de risque à prendre en compte à ce stade.

En incluant les antécédents de parodontites, le taux de progression de la MP et les complexités de gestion de la maladie, la classification actuelle est un outil diagnostique précis ciblé sur la thérapeutique spécifique de chaque patient atteint de pathologie parodontale.

Stades de parodontite		Stade I	Stade II	Stade III	Stade IV
Sévérité	Perte d'attache clinique du site le plus atteint	1 à 2 mm	3 à 4 mm	≥ 5 mm	≥ 5 mm
	Perte osseuse radiographique	Tiers coronaire (< 15 %)	Tiers coronaire (15 à 33 %)	S'étendant du tiers ou de la moitié de la racine à plus	S'étendant du tiers ou de la moitié de la racine à plus
	Perte dentaire	Pas de perte dentaire due à la parodontite		Perte dentaire due à la parodontite ≤ 4 dents	Perte dentaire due à la parodontite ≥ 5 dents
Complexité	Locale	Profondeur de sondage maximum ≤ 4 mm Perte osseuse surtout horizontale	Profondeur de sondage maximum ≤ 5 mm Perte osseuse surtout horizontale	En plus du stade II : - profondeur de sondage ≥ 6 mm - perte osseuse verticale ≥ 3 mm - atteinte de furcation de classe II et III - défaut de crête modéré	En plus du stade III, besoin de réhabilitation complexe dû à : - une dysfonction masticatoire - un trauma occlusal secondaire (mobilité dentaire degré ≥ 2) - un défaut de crête sévère - une égression, migration - moins de 20 dents restantes (10 paires opposées)
Étendue et distribution	À ajouter au stade comme description	Pour chaque stade, on ajoute : localisée (< 30 % de dents atteintes), généralisée ou touchant molaires/incisives			

Tableau 1. Classification des parodontites en fonction des stades définis par la sévérité (selon le niveau de perte d'attache, la perte osseuse radiographique, la perte dentaire) la complexité, l'étendue et la distribution (170).

Grade de la parodontite			Grade A Progression lente	Grade B Progression modérée	Grade C Progression rapide
Premier critère	Évidence directe de progression	Données longitudinales (perte osseuse radiographique ou perte d'attache clinique)	Évidence d'absence de perte sur 5 ans	< 2 mm sur 5 ans	≥ 2 mm sur 5 ans
	Évidence indirecte de progression	% perte osseuse/âge	< 0,25	0,25 à 1,0	> 1
		Phénotype du cas	Épais dépôts de biofilm avec faible niveau de destruction	Destruction en rapport avec dépôts de biofilm	La destruction n'est pas en relation avec les dépôts de biofilm : le schéma clinique suggère des périodes de progression rapide et/ou de maladie à début précoce (modèle incisive/molaire, absence de réponse à la thérapeutique de contrôle bactérien standard)
Facteurs modifiant le grade	Facteurs de risque	Tabac	Non-fumeur	Fumeur < 10 cigarettes par jour	Fumeur ≥ 10 cigarettes par jour
		Diabète	Glycémie normale Pas de diagnostic de diabète	Diabète HbA1c < 7,0 %	Diabète HbA1c ≥ 7,0 %

Tableau 2. Classification des parodontites selon les grades en fonction des caractéristiques biologiques incluant l'évidence ou le risque d'une progression rapide, d'une réponse anticipée au traitement et des effets sur la santé générale (170).

Le diagnostic de la parodontite sera effectué en rapprochant les résultats de l'examen clinique et radiographique à la classification et notamment aux Tableau 1 et Tableau 2 pour cibler le stade (sévérité et complexité de la maladie) et le grade. A défaut de délivrer un plan de traitement, la classification permet un diagnostic précis de la parodontite en rapprochant chaque stade d'un degré de prise en charge (159) :

- Parodontite stade 1 : ce sont les premiers millimètres de perte d'attache, le contrôle de plaque personnel sera complété d'un contrôle professionnel et d'adjuvants chimiques pour favoriser une prise en charge optimale du contrôle de plaque,
- Parodontite stade 2 : les thérapeutiques non chirurgicales sont préconisées,
- Parodontite stade 3 : les thérapeutiques chirurgicales sont recommandées du fait de la présence de poches parodontales profondes, de défauts osseux verticaux et d'atteintes de furcation,
- Parodontite stade 4 : une prise en charge multidisciplinaire est préconisée car l'examen révèle des lésions parodontales importantes au tiers apical de la dent et plus de 5 dents absentes pour cause parodontale.

1.2.4.4 Facteurs de risque de la maladie parodontale

Plusieurs facteurs de risque ont été établis, dont certains sont modifiables (171). Le contrôle ou la réduction des facteurs de risque parodontaux qui incluent des composants locaux et systémiques comme le tabagisme, le contrôle du diabète et la gravité de la destruction parodontale, influence en grande partie le traitement de la MP (172). Ainsi, l'identification de ces déterminants du risque est importante pour l'ensemble du plan de traitement de la maladie. Le clinicien peut s'appuyer par la prise en compte du Periodontal Risk Assessment (PRA) ou évaluation du risque parodontal, fondé sur l'analyse de six paramètres (173) : (i) pourcentage de saignement au sondage, (ii) prévalence de poches parodontales résiduelles, (iii) nombre de dents absentes, (iv) perte du support parodontal par rapport à l'âge, (v) présence de pathologie systémique et susceptibilité génétique, (vi) présence de facteurs environnementaux tels que le tabac.

La Figure 25 résume ce PRA : pour un patient à risque parodontal faible, les indices relevés lors de l'examen clinique et reportés sur le schéma se situent à proximité de l'hexagone vert. Globalement, il est admis qu'un patient est à risque modéré lorsque, au pire, deux indices se situent entre l'hexagone vert et rouge, tandis qu'un patient à risque élevé verra au moins deux de ses indices localisés au-delà de l'hexagone rouge.

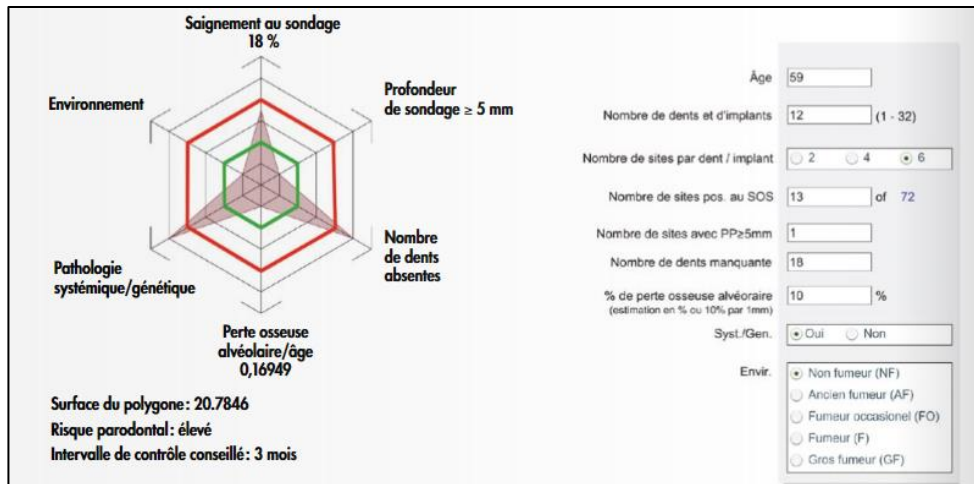


Figure 25. Periodontal Risk Assessment (173).

Le risque parodontal est évalué en fonction de la position des paramètres cliniques décrits en fonction des deux hexagones vert (risque modéré) et rouge (risque important). L'exemple montre un risque élevé d'où une maintenance tous les 3 mois.

Selon l'académie américaine de parodontologie, il conviendra donc de prévenir et d'effectuer un suivi parodontal régulier des patients, non seulement pour limiter les risques de récives et de progression de la MP traitée, mais aussi pour réduire l'incidence de la perte des organes dentaires (174). Une prise en charge sur mesure pour chaque patient corrobore les données de la classification actuelle des maladies parodontales (169).

1.3 De la maladie parodontale à la maladie systémique

De nombreuses études ont mis en évidence une relation bidirectionnelle entre la MP et les maladies systémiques. Autrement dit la MP peut impacter la santé systémique et certaines maladies systémiques prédisposent une personne à développer une MP (175). Ainsi, les parodontites seraient corrélées aux maladies cardiovasculaires, aux cancers, au diabète, aux maladies pulmonaires, aux risques d'accouchements prématurés, à la polyarthrite rhumatoïde, aux pathologies digestives, au lupus érythémateux, à la maladie d'Alzheimer... (176–190).

En fait, les bactéries pathogènes orales, leurs produits bactériens ou les molécules de l'inflammation produites en réponse à la présence de ces bactéries diffuseraient dans l'organisme et représenteraient un facteur de risque pour plusieurs pathologies systémiques (191,192). Plusieurs études ont mis en évidence des bactéries orales au niveau de divers organes impliqués dans des pathologies systémiques chez des patients souffrant de maladies orales (192). Les bactéries orales se dissémineraient par voie sanguine, voie digestive et voie respiratoire (Figure 26).

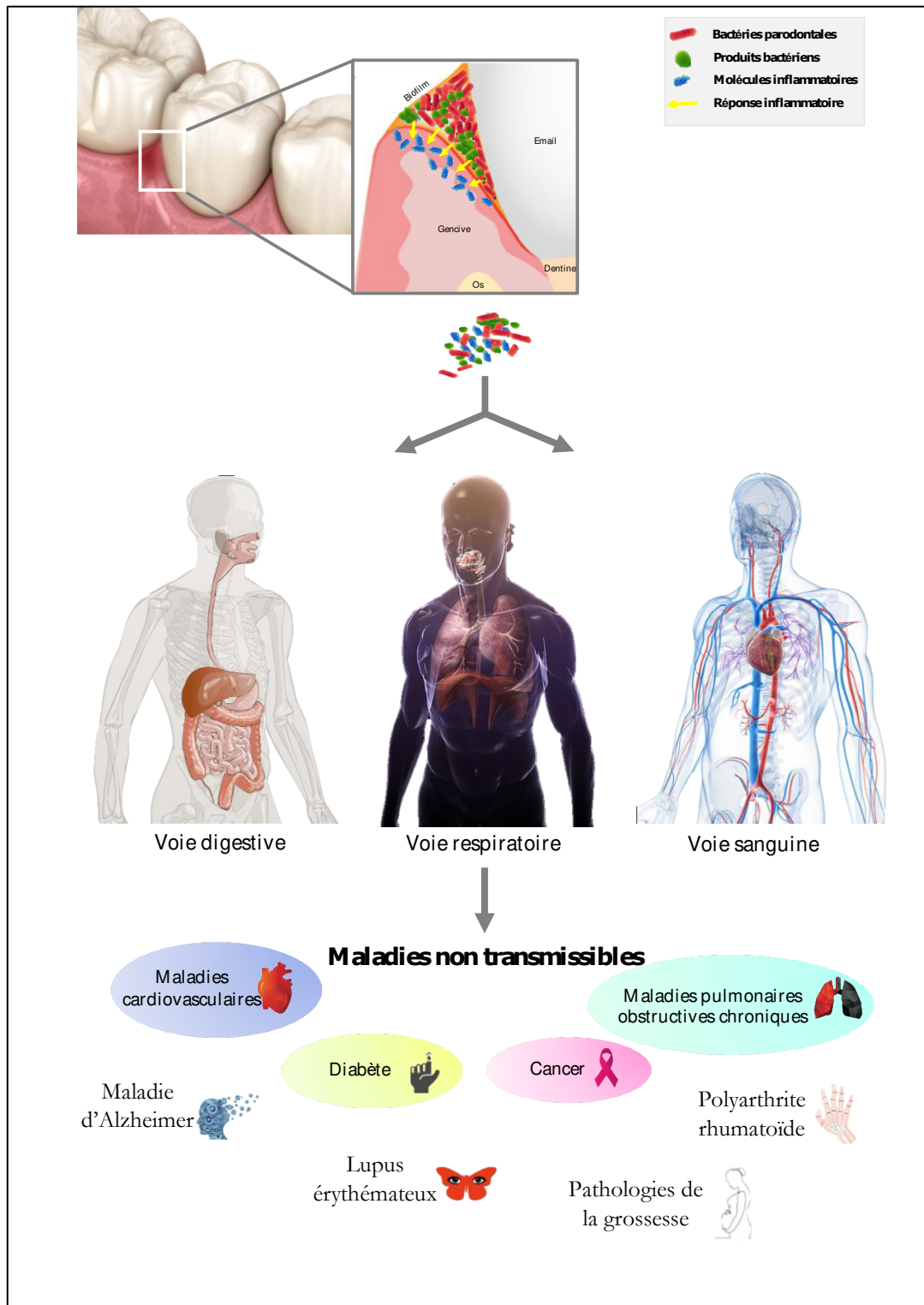


Figure 26. Diffusion des bactéries orales, des produits bactériens et des molécules de l'inflammation dans l'organisme et maladies associées (176).

1.3.1 Diffusion des bactéries orales dans l'organisme

1.3.1.1 *Diffusion par voie sanguine*

Trois mécanismes peuvent expliquer que des maladies orales puissent être responsables de pathologies systémiques (193). Tout d'abord, par suite d'une bactériémie transitoire, des bactéries orales peuvent diffuser par voie sanguine. Ensuite, des toxines de bactéries orales peuvent circuler. Et enfin, les bactéries orales peuvent provoquer une réaction inflammatoire qui va induire une inflammation métastatique (193).

Au niveau de la cavité buccale, la pénétration bactérienne dans les tissus sous-jacents et le système sanguin n'est possible que si un des systèmes de protection est défaillant. Cette défaillance peut avoir lieu au niveau (i) de la protection physique qui est assurée par l'épithélium buccal qui contient des peptides antimicrobiens, (ii) de la protection électrique qui est due à la différence entre la cellule hôte et la couche bactérienne, (iii) de la protection immunologique qui est formée par les cellules productrices d'anticorps, (iv) de la protection phagocytaire qui est obtenue grâce au système réticulo-endothélial (193). En cas de bonne hygiène orale, seules quelques bactéries peuvent pénétrer le système sanguin alors qu'en l'absence d'hygiène, le nombre de bactéries colonisant les surfaces dentaires est multiplié par 2 à 80 fois ce qui augmente le risque de bactériémie (194). Les interventions dentaires invasives augmentent le risque de bactériémie. Ce risque dépend de la nature de l'intervention. Ainsi, suite à une extraction dentaire, 100% des patients présentent une bactériémie, alors que suite à un traitement endodontique, 20% des patients présentent une bactériémie (195). Des bactériémies peuvent aussi être provoquées par des actes de la vie courante tels que l'hygiène orale quotidienne et en particulier le brossage des dents qui augmente les bactériémies de 15 à 97% (195). Dans la majorité des cas, ces micro-organismes, qui sont principalement des bactéries anaérobies, vont être éliminés par le système réticulo-endothélial en quelques minutes et ne provoquer aucun autre symptôme clinique à l'exception d'une éventuelle légère augmentation de la température corporelle (193). Toutefois, dans certains cas, les micro-organismes disséminés vont s'installer dans un site où les conditions sont favorables à leur croissance (193).

Ensuite, certaines bactéries vont produire ou libérer des toxines (exotoxines, endotoxines, protéines bactériennes...) qui vont disséminer dans la circulation sanguine et exercer leur action toxique à distance induisant diverses pathologies (193,196).

Enfin, les bactéries orales peuvent exercer leur action en induisant une inflammation locale qui va entraîner la production de molécules de l'inflammation qui vont diffuser dans l'organisme *via* la circulation sanguine et pouvoir provoquer des réactions inflammatoires aiguës et chroniques à distance. Les bactéries peuvent aussi pénétrer dans le sang, réagir avec des anticorps spécifiques en circulation et former des complexes macromoléculaires qui peuvent donner lieu à diverses réactions inflammatoires aiguës et chroniques sur les sites de dépôt (193).

1.3.1.2 Diffusion par voie digestive

Les bactéries orales, les produits bactériens et les molécules inflammatoires vont aussi pouvoir diffuser par voie digestive mais seuls ceux capables de résister à l'acidité de l'estomac pourront survivre et se multiplier dans le tractus gastro-intestinal (178,197). Cette migration des bactéries orales explique les 45% de similitude observés entre le microbiote oral et le microbiote du gros intestin chez des sujets atteints de MP (75). Cependant, le mécanisme d'invasion précis doit être déterminé (180).

Le lien entre la colonisation de l'intestin par des bactéries, l'inflammation intestinale et certaines pathologies reste encore à établir (198). Cependant, du Teil Espina *et al.* ont montré que les bactéries orales peuvent coloniser les intestins et y persister, entraînant une activation du système immunitaire et une inflammation chronique (183). En effet, les bactéries orales peuvent envahir directement le tractus intestinal par l'œsophage, provoquer une dysbiose intestinale et affecter le système digestif conduisant à une maladie systémique (199–201). Ainsi plusieurs études ont démontré que le passage de *P. gingivalis* dans l'intestin par voie digestive était impliqué dans de nombreuses maladies, telles que le cancer du côlon, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et le diabète. Cette bactérie induit une dysbiose en altérant les défenses innées de l'hôte et en favorisant les réponses inflammatoires dans les cellules phagocytaires (146,202,203).

1.3.1.3 Diffusion par voie respiratoire

Plusieurs mécanismes de dissémination des bactéries orales responsables de pathologies respiratoires *via* la voie respiratoire ont été décrites :

- Des bactéries orales (*P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*...) peuvent être aspirées dans les poumons et ainsi provoquer une infection (204),

- Des enzymes salivaires associées à la MP peuvent modifier les surfaces des muqueuses et favoriser l'adhésion et la colonisation par des agents pathogènes respiratoires, qui sont ensuite aspirés dans les poumons (204,205),
- Des enzymes salivaires associées à la MP détruisent les pellicules salivaires et empêchent ainsi l'élimination des bactéries pathogènes de la surface des muqueuses (178,204),
- Des cytokines originaires des tissus parodontaux peuvent modifier l'épithélium respiratoire et favoriser l'infection par des agents pathogènes respiratoires (204,206).

1.3.2 Principales maladies systémiques en lien avec les pathologies orales

La dysbiose du microbiote oral observée lors de maladies parodontales est corrélée à l'apparition de maladies cardiovasculaires, de bronchopneumopathies chroniques obstructives (BPCO), de polyarthrite rhumatoïde, de diabète, de cancers, de complications de la grossesse, de la maladie d'Alzheimer... (186,207–213). Adolf *et al.* (2017) ont démontré que le risque de mortalité, toutes causes confondues, augmente avec la présence de plaque dentaire et d'inflammation gingivale (214).

1.3.2.1 *Maladie cardiovasculaire*

Bien que diverses études épidémiologiques aient suggéré la possibilité d'une association entre la parodontite et les maladies cardiovasculaires, l'incidence de l'infection orale sur les maladies cardiovasculaires n'est toujours pas claire.

Une méta-analyse combinant 5 études de cohorte (86 092 patients) a montré que les personnes atteintes de parodontite présentaient un risque de développer une coronaropathie plus de 1,14 fois supérieure à celui des témoins, indépendamment des facteurs de confusion (215). Les études cas-témoins (1423 patients) ont montré un risque encore plus grand de développer une maladie coronarienne (2,22 fois) (215). Ainsi, la prévalence et l'incidence des maladies cardiovasculaires sont significativement augmentées chez les patients atteints de parodontite. De plus, une association entre l'édentement et les anticorps sériques contre *P. gingivalis* et *A. actinomycetemcomitans* a été observée dans une étude portant sur 1163 hommes atteints de coronaropathie (216). De plus, des ADN d'agents pathogènes parodontaux, tels que *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* et *T. forsythia*, ont été trouvés dans des plaques d'athérosclérose

humaine, ce qui suggère que ces agents pathogènes oraux pourraient migrer de la cavité buccale vers des sites distants du patient (215,216).

Plus récemment, des études sur un modèle animal d'athérosclérose utilisant des souris hyperlipidémiques infectées par *P. gingivalis* et *T. denticola* ont montré que l'infection par cette bactérie était associée à une perte d'os alvéolaire et à une athérosclérose aortique (217,218). Après infection orale, *P. gingivalis* et *T. denticola* ont induit une réponse immunitaire systémique et un ADN génomique bactérien a été trouvé dans l'épithélium oral, l'aorte ainsi que dans les organes systémiques (217,218). De plus, *P. gingivalis* échappe à la détection immunitaire innée *via* le récepteur de type Toll (TLR) 4, facilitant ainsi l'inflammation chronique dans le système vasculaire (219). Il a également été démontré que *P. gingivalis* peut induire une agrégation de plaquettes dans des échantillons humains et pourrait ainsi être responsable de la formation de thrombus *in vivo* (220). Par contre, d'autres agents pathogènes oraux tels que *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *C. rectus*, *F. nucleatum*, *P. intermedia* et *T. denticola* n'ont pas réussi à agréger les plaquettes lors du test d'activité d'agrégation (221), suggérant que seul *P. gingivalis* exprime des facteurs de virulence pouvant induire l'agrégation plaquettaire.

En résumé, plusieurs agents pathogènes oraux sont associés à un risque plus élevé de maladie cardiovasculaire chez l'homme, et des études chez la souris confirment la possibilité qu'une infection par les agents pathogènes oraux puisse entraîner la maladie.

1.3.2.2 Infection des voies respiratoires et pneumonie

La pneumonie est une cause importante de morbidité et de mortalité chez les patients de tous âges, en particulier chez les patients âgés et immunodéprimés. Les infections pulmonaires peuvent être causées par des bactéries, des champignons, des virus et des parasites. Les micro-organismes peuvent infecter les voies respiratoires inférieures par inhalation d'aérosols infectieux, propagation de l'infection à partir de sites contigus et propagation à partir de sites extrapulmonaires. La cavité buccale, en particulier la salive et la plaque dentaire chez les patients ayant une MP, semble être une source logique d'accumulation et de propagation d'agents pathogènes dans les voies respiratoires inférieures. Plusieurs pathogènes oraux ont déjà été impliqués dans des infections pulmonaires, notamment *A. actinomycetemcomitans*, *Actinomyces israelii*, *Capnocytophaga spp*, *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*), *E. corrodens*, *F. nucleatum*, *Fusobacterium necrophorum* (*F. necrophorum*), *P. gingivalis*, *P. intermedia* et *Streptococcus constatus* (220–222).

Les agents pathogènes respiratoires isolés de la plaque dentaire et du liquide de lavage bronchoalvéolaire de patients dans une même unité de soins intensifs se sont avérés génétiquement

identiques, ce qui renforce l'idée que la plaque dentaire pourrait servir de réservoir important d'agents pathogènes respiratoires (223). En fait, les personnes atteintes de MP ont trois fois plus de risques de développer une pneumonie nosocomiale que les patients sans MP (224). Dans un modèle d'infection intra-trachéal chez la souris, *P. gingivalis* était responsable de réponses inflammatoires persistantes dans les poumons impliquant le recrutement de cellules et la production de cytokines pro-inflammatoires (222). De plus, une étude portant sur 40 sujets soumis à une intubation trachéale a montré que de grandes quantités d'*A. Actinomycetemcomitans*, de *P. gingivalis* et de *T. forsythia* étaient retrouvées chez des patients dentés ou non, suggérant que l'environnement oral, même sans dents, offrait des conditions favorables à l'accumulation de bactéries pathogènes (225).

Les agents pathogènes oraux communs, *F. nucleatum* et *F. necrophorum*, ont provoqué une affection distincte commençant par une pharyngite et conduisant à une infection des voies respiratoires appelée Syndrome de Lemierre (221,222). Une étude transversale portant sur des étudiants présentant un mal de gorge aigu a révélé la présence de *F. necrophorum* chez 20,5% des sujets (226). Ces études suggèrent que *F. necrophorum* est un agent pathogène potentiel des poumons et devrait être pris en compte lors de la recherche de complications des voies respiratoires.

De plus, *C. pneumoniae* est un agent pathogène respiratoire bien étudié qui a été associé à l'asthme, à la bronchite et à la maladie pulmonaire obstructive chronique (227). Ce pathogène a également été trouvé dans la cavité buccale (226,227) et pourrait probablement migrer de la cavité buccale vers les voies respiratoires inférieures, d'où il pourrait disséminer de manière systémique vers d'autres sites tels que la rate, le cœur et l'aorte *via* des monocytes *via* la circulation sanguine, comme suggéré dans un modèle de souris (228). *C. pneumoniae* a été associée à un risque accru de développement d'athérosclérose (229), ce qui pourrait fournir un autre mécanisme par lequel les agents pathogènes de la cavité buccale contribuent à l'athérosclérose.

Ainsi, ces études démontrent que des cavités buccales dysbiotiques peuvent prédisposer aux infections respiratoires et suggèrent que des agents pathogènes oraux ou non oraux présents dans la cavité buccale pourraient contribuer aux maladies respiratoires.

1.3.2.3 Le diabète

Le diabète sucré est un trouble métabolique chronique caractérisé par une hyperglycémie due à un défaut de production d'insuline par les cellules β pancréatiques (diabète de type 1), à une diminution de la sensibilité à l'insuline (diabète de type 2) ou à une combinaison des deux pouvant affecter les adultes, les adolescents et les enfants (186). Il est à noter que le diabète sucré et la MP

présentent une association « à double sens » dans laquelle l'un affecte l'autre (230). Une infection chronique au cours d'une MP peut entraîner une réponse inflammatoire exacerbée et dérégulée, ce qui peut impliquer un contrôle métabolique médiocre de la glycémie et une augmentation des besoins en insuline (231). En fait, les personnes présentant une infection bactérienne et virale aiguë ont présenté une résistance à l'insuline grave et durable (232). Ceci a été confirmé par une étude portant sur 124 hommes d'âge moyen, qui a montré que la présence des entérovirus et de *C. pneumoniae* était fortement associée à la résistance à l'insuline, probablement en raison de l'inflammation chronique de bas grade résultant de ces infections (233). En ce qui concerne l'infection à *P. gingivalis*, une diminution de la fonction vasculaire gingivale et une résistance accrue à l'insuline ont été observées dans un modèle de diabète chez le rat (234). De plus, les résultats d'une méta-analyse suggèrent que le traitement parodontal entraîne une amélioration du contrôle glycémique chez les patients diabétiques de type 2 pendant au moins 3 mois (235). En général, même si les mécanismes sous-jacents à cette association ne sont pas encore bien compris, la parodontite semble augmenter le risque de diabète dû à une infection et / ou à une réponse inflammatoire (236,237).

À l'inverse, le diabète peut également entraîner différentes complications, telles qu'une mauvaise cicatrisation des plaies, une rétinopathie, une néphropathie, une neuropathie et une parodontite (185,236). En fait, le risque de parodontite est trois fois plus élevé chez les diabétiques que chez les non-diabétiques (238). Dans une autre étude, une parodontite a été retrouvée chez 58% des patients diabétiques de type 1 et chez 15% des témoins non diabétiques (185). Lors de l'examen de l'état parodontal chez les enfants et les adolescents atteints de diabète de type 1, une prévalence de 21% de gingivite et de 6% de parodontite a été détectée ; de plus, les patients ayant vécu plus de cinq ans avec le diabète sucré de type 1 ont montré davantage de sites affectés sur les paramètres de la MP (239).

Ainsi, une association bidirectionnelle entre diabète sucré et MP a été démontrée, dans laquelle le diabète augmente le risque de parodontite et inversement, l'inflammation affecte négativement le contrôle glycémique. En outre, le traitement parodontal améliore les symptômes du diabète, confirmant ainsi leur association et l'importance de la santé bucco-dentaire pour l'organisme en général.

1.3.2.4 *Cancer oral et colorectal*

Une méta-analyse portant sur 3183 sujets a montré que les patients atteints de parodontite avaient une susceptibilité accrue au cancer de la bouche (181). Des études plus récentes ont mis en

évidence une corrélation positive entre la MP et les cancers du pancréas, de la tête, du cou et du poumon (182). Une étude réalisée à Taïwan, a montré que les patients souffrant de parodontite présentaient un risque plus élevé de développer un cancer que ceux atteints de gingivite (240).

De plus, l'agent pathogène parodontal *P. gingivalis* a été retrouvé à des niveaux significativement élevés chez les patients atteints de carcinome épidermoïde oral (OSCC) (241) et de carcinome épidermoïde de l'œsophage (ESCC) (242). Le rôle potentiel des agents pathogènes parodontaux dans l'induction du cancer de la bouche a été confirmé dans un modèle animal (243). L'étude a montré que les agents pathogènes parodontaux *P. gingivalis* et *F. nucleatum* stimulent la tumorigenèse *via* une interaction directe avec les cellules épithéliales orales, et que l'effet est médié par le système immunitaire inné de l'hôte (243). Dans le cas de l'OSCC, il a été démontré que *P. gingivalis*, mais pas *F. nucleatum*, favorise l'invasion et la métastase des cellules malpighiennes orales (241). Une autre étude a montré qu'une exposition prolongée et répétitive à *P. gingivalis* augmentait l'agressivité des cellules cancéreuses de la bouche (244). Par conséquent, il a été démontré que les agents pathogènes oraux, en particulier *P. gingivalis* et *F. nucleatum*, étaient en corrélation positive avec le développement du cancer de la bouche, ce qui suggère qu'ils pourraient être des biomarqueurs des stades précoces de la maladie, voire même des cibles de prévention.

Le cancer colorectal (CRC) est la quatrième cause de mortalité par cancer dans le monde et a été associé à une quantité élevée de *F. nucleatum* et de *Clostridium difficile* dans le microbiote intestinal de patients atteints d'un CRC (245). Une signature polymicrobienne de bactéries anaérobies à Gram négatif était associée à un CRC dans 130 tissus analysés (246). Des agents pathogènes oraux anaérobies à Gram négatif tels que *Fusobacterium*, *Leptotrichia* et *Campylobacter* ont été identifiés chez des individus atteints de tumeurs (247). On pense que *F. nucleatum* pourrait migrer par voie orale vers le tractus intestinal humain et le coloniser, provoquant ainsi des infections inflammatoires délétères (245,248). De plus, *F. nucleatum* a été retrouvé en plus grand nombre dans les adénomes humains du côlon par rapport aux tissus environnants et dans les échantillons de selles de patients atteints de CRC, par rapport aux sujets sans CRC (249). De plus, dans un modèle murin de tumorigenèse intestinale, *F. nucleatum* augmentait la multiplicité tumorale et recrutait sélectivement des cellules myéloïdes infiltrant la tumeur, ce qui pouvait favoriser la progression tumorale (249). Une autre étude mécanistique a montré que les niveaux de *F. nucleatum* augmentaient progressivement au cours de la séquence d'adénome-carcinome colorectal dans des échantillons fécaux et muqueux humains (250). La capacité de *F. nucleatum* à modifier la composition du microbiote ainsi que sa capacité à assurer la médiation de la sécrétion de cytokines et à activer les voies liées à la tumorigenèse a été démontrée dans des modèles murins de CRC (250). En résumé, ces données indiquent que *F. nucleatum* favorise un microenvironnement pro-

inflammatoire pouvant contribuer à la progression de la néoplasie dans les carcinomes à adénome colorectal.

1.3.2.5 *L'arthrite rhumatoïde*

L'arthrite rhumatoïde (AR) se caractérise par une inflammation synoviale persistante et par des dommages associés au cartilage articulaire et à l'os sous-jacent.

Une association bidirectionnelle a été mise en évidence entre l'AR et la MP. Plusieurs études ont mis en évidence que les patients atteints de parodontite ont un risque d'environ 2 fois plus grand d'être atteints d'AR (251). Et réciproquement, les patients atteints d'AR ont un risque plus grand (1,8 à 3,6 fois) d'avoir une parodontite avec des poches parodontales profondes et des dents manquantes (252,253).

Ces deux pathologies ont en commun une réponse inflammatoire excessive qui va être favorable pour éliminer les agents pathogènes mais qui va aussi favoriser la destruction tissulaire. La parodontite provoque une inflammation qui domine le processus pathologique, et a des conséquences multiples du fait d'une bactériémie et une réponse immuno-inflammatoire des tissus parodontaux face à l'agression bactérienne. Cette agression est due à la présence de complexes bactériens au sein des tissus et un rôle particulier est donné aux bactéries faisant partie du complexe rouge, en particulier *P. gingivalis*. En effet, *P. gingivalis* est la seule bactérie qui possède une enzyme peptidyl-arginine désiminase qui permet la citrullination des peptides bactériens et de l'hôte (254). Ces protéines sont phagocytées par les cellules présentatrices d'antigènes et présentées aux lymphocytes pour activer la réponse immunitaire. Ce qui résulte en une forte production d'anticorps anti-CCP (anti-peptides cycliques citrullinés). Certaines protéines bactériennes et humaines, telles que l'énolase, présentent de fortes homologues entre les espèces. Ainsi, les anticorps ciblant l'énolase citrullinée bactérienne pourraient également reconnaître l'énolase citrullinée humaine : il s'agit d'une réaction croisée. Les complexes humains pourraient diffuser dans la circulation sanguine, arriver jusqu'aux articulations et favoriser l'activation locale des ostéoclastes et l'inflammation. Lors de l'inflammation articulaire, des neutrophiles, cellules riches en peptidyl-arginine désiminases, sont attirés au sein de la membrane synoviale et augmenteraient le taux de citrullination au niveau articulaire (255,256).

1.3.2.6 *La maladie d'Alzheimer*

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative progressive caractérisée par une déficience progressive et irréversible de la mémoire, de la pensée, du langage et des capacités

d'apprentissage, qui aboutit finalement à la mort (257). Le déclin cognitif a été associé à la formation de plaques β -amyloïdes synaptotoxiques et de protéines Tau hyperphosphorylées dans les régions du cerveau associées à des fonctions cognitives avancées (258,259). Comme indiqué pour le diabète sucré, la maladie d'Alzheimer et la parodontite présentent également une relation bidirectionnelle qui sera discutée dans cette section.

Une récente étude a montré que la prévalence de mauvais paramètres de santé bucco-dentaire dont une parodontite généralisée chronique était plus élevée chez les personnes atteintes de lésions cérébrales (259). Le cerveau, dont on pense que les réponses immunitaires sont nulles ou diminuées en raison de son statut de « privilège immunologique », peut subir différents processus inflammatoires qui contribuent au développement de la maladie d'Alzheimer, tels que l'activation du complément, l'expression de cytokines et de chimiokines (188). En fait, l'inflammation est considérée comme le lien entre la parodontite et la maladie d'Alzheimer. La présence de cellules gliales activées produisant des taux significatifs de cytokines inflammatoires est une caractéristique de la maladie d'Alzheimer (188). Outre les dommages directs causés par les plaques β -amyloïdes et les agrégats de Tau, la réponse immunitaire innée tente de purger ces agrégats du cerveau mais aggrave au contraire la neurodégénérescence (258,259). Ainsi, une augmentation des cytokines pro-inflammatoires est détectée chez les patients âgés atteints de maladie d'Alzheimer et de parodontite (189). Des études utilisant différents médicaments anti-inflammatoires et cytokines renforcent l'hypothèse selon laquelle l'inflammation est l'un des principaux moteurs de la neurodégénérescence dans la maladie d'Alzheimer, suggérant que les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) pourraient être efficaces pour ralentir l'apparition de la maladie d'Alzheimer (260). En outre, les cytokines antagonistes du récepteur de l'IL-1 et immunosuppressives peuvent protéger le cerveau contre d'autres lésions et réduire le taux de progression de la maladie d'Alzheimer (261).

L'hôte synthétise des cytokines pro-inflammatoires en réponse à une infection bactérienne orale, ce qui suggère que la MP pourrait contribuer à l'inflammation du cerveau qui caractérise la maladie d'Alzheimer (262). Fait intéressant, les lipopolysaccharides (LPS) d'agents pathogènes parodontaux tels que *P. gingivalis* et *T. denticola* ont été isolés de cerveaux humains atteints de la maladie d'Alzheimer à court terme, ce qui suggère que les facteurs de virulence de ces agents pourraient jouer un rôle dans le développement de l'inflammation cérébrale et de la maladie d'Alzheimer (263). En outre, des bactéries telles que *T. denticola* (264) et *C. pneumoniae* (264,265) [188, 189], ont été détectées dans le cerveau post-mortem de la maladie d'Alzheimer, suggérant qu'en plus des médiateurs inflammatoires, certains agents pathogènes parodontaux pourraient envahir le cerveau en traversant la barrière hémato-encéphalique. Cela a été confirmé par des études

sur des animaux, qui ont montré la présence de *P. gingivalis* dans le cerveau de souris (267). De plus, des taux plus élevés d'anticorps dirigés contre *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* (262), *F. nucleatum* et *P. intermedia* (268) ont été observés par rapport aux témoins sains. Bien que ces agents pathogènes parodontaux semblent être associés aux symptômes de la maladie d'Alzheimer, d'autres études longitudinales seront nécessaires pour établir un lien direct entre les agents pathogènes parodontaux (et leurs anticorps) et la neurodégénérescence dans la maladie d'Alzheimer.

Par conséquent, une mauvaise hygiène orale contribue à la parodontite chronique et peut indirectement augmenter le risque de maladie d'Alzheimer. Inversement, les patients atteints de la maladie d'Alzheimer présentent des difficultés pour maintenir une bonne hygiène orale ou même consulter un dentiste pour des soins professionnels, ce qui augmente le risque de MP. Ainsi, il est envisageable que le maintien d'une bonne santé bucco-dentaire puisse devenir une mesure préventive contre la maladie d'Alzheimer.

1.3.2.7 *L'issue défavorable de la grossesse*

Les infections orales maternelles sont associées à des issues défavorables de la grossesse, notamment le travail prématuré, la rupture prématurée des membranes, la pré-éclampsie, la fausse couche, un retard de croissance intra-utérin, un faible poids à la naissance, un mort-né à la naissance et un sepsis néonatal (269). En raison de changements hormonaux chez les femmes enceintes, elles sont plus sensibles à la gingivite et à la parodontite que les femmes non enceintes. En effet, environ 40% des femmes enceintes présentent des signes cliniques de MP (270).

Deux mécanismes différents ont été proposés pour expliquer la relation entre la santé bucco-dentaire et les conséquences défavorables de la grossesse. La première propose que les agents pathogènes oraux eux-mêmes puissent migrer d'une cavité buccale pathogène et traverser le placenta, atteignant ainsi le liquide intra-amniotique et la circulation fœtale (271). La seconde émet l'hypothèse que la dissémination systémique d'endotoxines ou de médiateurs inflammatoires dérivés d'une MP pourrait affecter le développement du fœtus ou conduire à un avortement spontané (272).

Les agents pathogènes bactériens, les antigènes, les endotoxines et les cytokines pro-inflammatoires produits au cours d'une MP peuvent traverser la barrière placentaire, entraînant des perturbations dans l'unité mère-fœtus qui pourraient contribuer à une issue défavorable de la grossesse (273). *F. nucleatum* est l'agent pathogène oral le plus répandu dans de nombreux tissus du placenta et du fœtus (274). Un rapport de cas de mortinatalité à terme a suggéré que *F. nucleatum* pourrait migrer de la bouche de la mère à l'utérus lorsque sa réponse immunitaire serait affaiblie au

cours d'une infection respiratoire (275). En accord avec son fort pouvoir invasif, *F. nucleatum* a été isolé à plusieurs reprises à partir de liquide amniotique et de sang du cordon dans les cas d'accouchement prématuré et de sepsie néonatale (270,271). De plus, *F. nucleatum* est souvent détecté avec d'autres sous-espèces orales dans des infections intra-utérines, qui sont probablement de même origine infectieuse, impliquant une co-translocation de la cavité buccale (271). D'autres agents pathogènes oraux, tels que *P. gingivalis* (et ses endotoxines), ont également été découverts dans le placenta de patients ayant accouché avant terme (272,273). Des études sur des modèles animaux démontrent la capacité de *P. gingivalis* à avoir un impact négatif sur la grossesse : le LPS de *P. gingivalis* induit une restriction de croissance et une résorption induites par le placenta et le fœtus chez le rat (276), et des anticorps produits contre *P. gingivalis* ont entraîné une perte du fœtus lorsqu'ils ont été administrés passivement à des souris (277).

L'interface mère-fœtus représente un site immunologiquement unique qui doit promouvoir la tolérance immunitaire au fœtus tout en maintenant une défense robuste de l'hôte contre les infections possibles. Même si le rôle des récepteurs immunitaires innés pendant la grossesse est mal établi, il était connu que le placenta exprimait les TLRs pendant la grossesse normale (278). Il a été démontré que les MPs ou la présence d'agents pathogènes parodontaux tels que *F. nucleatum* et *P. gingivalis* augmentent l'expression des TLRs (278,279), ce qui suggère une réponse immunitaire innée accrue (275,280,281).

Bien que d'autres études soient nécessaires pour établir de manière concluante qu'il existe une relation de cause à effet entre la MP et les issues défavorables de la grossesse, les résultats suggèrent que des mesures préventives contre la MP chez les femmes enceintes sont justifiées.

1.3.2.8 *Le lupus érythémateux*

Le lupus érythémateux est une maladie auto-immune qui débute par des manifestations cutanées (282). Le lupus érythémateux affecte le système hématologique avec une diminution des niveaux de globules blancs, plaquettes et globules rouges. Dans les formes les plus sévères, le rein et le système nerveux central sont touchés. Le lupus peut également toucher d'autres organes tels que les muscles (myosite), les poumons (pneumonie) et le cœur (myocardite) (283).

Le lupus se caractérise par une hypergammaglobulinémie polyclonale souvent retrouvée au diagnostic, ainsi que la présence d'autoanticorps dirigés contre des antigènes d'origine nucléaire (284).

Plusieurs études récentes ont constaté une prévalence élevée de parodontite d'environ 70%, chez les patients atteints de lupus érythémateux (285,286).

Selon une étude de 2014, le traitement de la MP semblerait avoir un effet bénéfique dans le contrôle de l'activité de la maladie chez des patients prenant un traitement immunosuppresseur (287).

La plupart des espèces bactériennes retrouvées avec des proportions élevées chez les patients atteints de lupus érythémateux étaient des espèces anaérobies tandis que chez les sujets en bonne santé, des espèces principalement aérobies étaient retrouvées (288). Chez les patients atteints de lupus, un réseau de corrélations plus large que chez les sujets sains a été observé. Des corrélations positives ont été trouvées parmi les agents pathogènes parodontaux (*T. denticola*, *P. gingivalis*, *Fretibacterium fastidiosum* et *T. forsythia*). Chez les patients atteints de parodontites, il y avait une augmentation significative des cytokines inflammatoires IL-6, IL-17 et IL-33 dans la salive des patients atteints de lupus érythémateux par rapport aux patients non atteints (288). L'aggravation de la MP était corrélée à une augmentation de l'inflammation systémique chez les sujets atteints de lupus érythémateux (282).

Les différents résultats suggèrent une relation bidirectionnelle entre la MP et le lupus érythémateux. Une inflammation systémique renforcée par le lupus provoquerait une dysbiose du microbiote et donc une progression vers une parodontite. La parodontite pourrait alors affecter la réponse immunitaire systémique, en entraînant une activité accrue du lupus (289).

2 Prophylaxie individuelle appliquée à l'espace interdentaire

Les pathologies orales telles que les caries, la gingivite et la parodontite ont comme principal facteur étiologique l'accumulation de plaque dentaire (290). Cette plaque dentaire, ce biofilm composé principalement de communautés bactériennes réside à la fois sur les tissus durs et les tissus mous de la cavité buccale et n'est pas facilement ou suffisamment retiré des surfaces par un processus de nettoyage physiologique (langue ou salive). Une hygiène orale efficace est un facteur crucial dans le maintien d'une bonne santé bucco-dentaire qui joue un rôle important dans la santé générale et par conséquent dans la qualité de vie liée à la santé (11). Il existe deux stratégies principales pour contrôler ou désorganiser la structure du biofilm. La première consiste à éliminer les microcolonies microbiennes enfermées dans la matrice en utilisant des forces de cisaillement qui s'opposent aux forces d'adhésion, ce qui consiste à éliminer mécaniquement le biofilm de la surface. La seconde utilise des produits chimiques pour détruire les bactéries (291).

2.1 Action mécanique

La santé gingivale passe par un bon contrôle de la plaque dentaire qui doit être régulier afin de prévenir l'apparition de maladie gingivale due à une colonisation sous-gingivale (292,293). À l'inverse, en l'absence d'un contrôle mécanique correct de la plaque après un détartrage et surfaçage radiculaire, une recolonisation sous-gingivale est observée en seulement 4 à 8 semaines (293,294). Plusieurs études ont montré que le brossage dentaire était la technique la plus commune pour assurer le contrôle de la plaque dentaire. Cependant, il apparaît que l'utilisation d'une brosse à dent seule ne suffit pas pour une hygiène bucco-dentaire correcte car des zones telles que les espaces interdentaires ne sont pas accessibles (293,295). En effet, le brossage dentaire permet seulement d'éliminer entre 42 et 60% de la plaque dentaire totale (296,297) et n'a aucune action sur le biofilm interproximal (293).

Le biofilm interdentaire ne doit pas être négligé. En effet, il a été montré qu'un EI renferme 10^{10} bactéries dont des bactéries parodontopathogènes et cariogènes (127,298). D'où l'importance de sa désorganisation comme un facteur très important dans le maintien de la santé gingivale, la prévention de la MP et la réduction des lésions carieuses (299). Les sites interdentaires des prémolaires et des molaires sont les espaces de rétention majeurs du biofilm dentaire connus comme lieu d'initiation des MPs et des caries interdentaires (300). Afin de prévenir leur développement, il est donc nécessaire de maintenir un microbiote interdentaire symbiotique, notamment par une action mécanique.

2.1.1 Fil dentaire

Bien que l'utilisation du fil dentaire apparaisse comme la méthode la plus recommandée pour l'hygiène interdentaire (l'American Dental Association a démontré que son utilisation permettait de réduire la plaque interdentaire de 80% (301)), seuls 10% à 30% des adultes l'utilisent quotidiennement (302). Cette faible observance pourrait s'expliquer par le fait que les sujets considèrent la technique comme difficile à maîtriser correctement (303–305). De plus, Kotsakis *et al.* (2018) ont remarqué qu'une utilisation non maîtrisée du fil interdentaire ne réduisait pas significativement l'inflammation gingivale (306).

En ce qui concerne l'efficacité de l'utilisation de fil interdentaire en complément du brossage, une étude Cochrane (2011) n'a démontré que des preuves faibles et très peu fiables sur la réduction de la plaque dentaire bien qu'une réduction significative de l'inflammation gingivale soit observée (307). Dans une étude récente, Ng *et al.* (2019) ont conclu grâce à une analyse de la littérature que l'utilisation du fil en complément du brossage était potentiellement inefficace (308). Ainsi, cette

absence de preuve quant à l'action du fil dentaire s'expliquerait par les difficultés techniques ou le manque d'observance des patients (309).

Le fil dentaire ne semble pas présenter de risques majeurs pour la santé bien qu'il puisse être responsable de traumatismes au niveau des tissus mous en cas de mauvaise utilisation (310). Malgré l'absence de preuve de son action au niveau de la plaque dentaire, la revue systématique de Hujoel *et al.* a permis de mettre en évidence l'importance de la maîtrise de la technique d'utilisation du fil interdentaire (311). Son utilisation professionnelle (par le praticien) permettrait de réduire le risque de carie interproximale alors que cet effet bénéfique serait inexistant lorsque le fil dentaire serait utilisé par le patient (311). Afin de pallier les difficultés techniques, des porte-fils ont été mis au point. Des études ont démontré qu'ils avaient une efficacité similaire par rapport au fil dentaire utilisé classiquement, sur la réduction de la plaque interdentaire et la gingivite (312,313). De plus, les porte-fils dentaire seraient beaucoup plus efficaces pour fidéliser les patients à l'usage du fil dentaire à long terme que son utilisation manuelle classique (314).

Dans une étude récente, Azcarate-Velázquez *et al.* (2017) ont comparé l'utilisation du fil dentaire en boucle avec l'utilisation de fil dentaire classique chez 40 sujets (315). Chaque sujet était son propre contrôle. Pendant les 45 premiers jours, chacun des sujets a utilisé le fil dentaire classique puis pendant les 45 jours suivants le fil dentaire en boucle. Ils ont conclu que l'utilisation du fil dentaire en boucle permettait d'éliminer davantage la plaque dentaire et de mieux contrôler la gingivite. Bien que la plupart des indicateurs cliniques et les interleukines 6 et 8 ne présentaient pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes, une amélioration significative de l'indice de plaque avec le fil dentaire en boucle a été identifiée (315).

2.1.2 Pics interdentaires en bois

Les bâtonnets en bois tendre ont pour objectif d'éliminer mécaniquement la plaque interdentaire par friction contre les surfaces dentaires proximales (316). Ils ont une section triangulaire en forme de coin adapté à l'anatomie interdentaire. Une fois inséré, la base du triangle doit reposer sur le côté gingival, tandis que la pointe doit se positionner occlusalement ou incisivement (317,318). Les bâtonnets en bois de forme triangulaire avec une faible dureté de surface et des valeurs de résistance élevées se sont avérés plus adaptés au nettoyage interdentaire que les cure-dents arrondis (319) et ne permettent qu'un contact ponctuel avec la surface de la dent. Ils sont donc principalement utilisés pour éliminer les débris alimentaires en rétention après mastication (303) bien qu'ils démontrent une efficacité similaire aux bâtonnets de bois sur l'élimination de la plaque supragingivale (320). En complément, des études *in vitro* antérieures ont

révéla que les bâtonnets de bois de forme triangulaire qui sont insérés dans l'EI permettaient d'éliminer 2 à 3 mm de plaque sous-gingivale (308). Par ailleurs, ils diminueraient le risque de caries récurrentes par l'hygiène des marges sous-gingivales des restaurations (317,319).

Dans une revue systématique de la littérature incluant sept études, Hoenderdos *et al.* ont conclu qu'une diminution du saignement gingival était observée avec l'utilisation des bâtonnets de bois par rapport au brossage des dents seul, mais qu'aucun effet supplémentaire n'était observé sur la réduction de la plaque proximale (317). Parmi les quatre études qui comparaient l'efficacité des bâtonnets de bois par rapport au fil dentaire, trois études n'ont démontré aucune différence significative dans la réduction de la plaque alors qu'une étude concluait à une efficacité supérieure du fil dentaire (317). Les bâtonnets de bois ont une action ciblée préférentiellement sur la plaque sous-gingivale, expliquant l'amélioration des paramètres d'inflammation gingivale tout en n'affectant quasiment pas l'indice de plaque (317). En effet, Finkelstein *et al.* ont observé qu'en désorganisant la plaque interdentaire, les aides au nettoyage interdentaire pouvaient entraîner une réduction significative de l'inflammation gingivale, bien qu'ayant des effets minimes sur l'accumulation visible de plaque à la surface des dents (321). À l'inverse du fil dentaire qui peut s'insérer dans tous les espaces interdentaires, les bâtonnets de bois semblent plus adaptés aux espaces interdentaires ouverts des zones plutôt antérieures en raison de leur angle spécifique d'entrée dans l'embrasure (322). Les avantages des bâtonnets en bois incluent la facilité d'utilisation et la commodité. Ils peuvent être plus acceptables pour les patients plus âgés, en particulier pour ceux qui utilisent déjà régulièrement des cure-dents pour éliminer les débris alimentaires après mastication (308).

2.1.3 Jets dentaires

Le jet dentaire également appelé hydropulseur, a été introduit pour la première fois dans les années 1960 par un ingénieur hydraulique et un chirurgien-dentiste aux États-Unis (323). Le jet dentaire serait conçu pour éliminer mécaniquement la plaque dentaire et des agents antimicrobiens peuvent être additionnés à l'eau. Le mode d'action mécanique des jets dentaires repose sur une combinaison de pulsation et de pression avec des phases de compression et de décompression du tissu gingival, ce qui éliminerait la plaque supragingivale en éliminant les bactéries sous-gingivales et autres débris (324). Lors de l'utilisation, deux zones d'activité hydrocinétique sont créées : une zone d'impact où la solution entre en contact avec la marge gingivale et une zone de rinçage où l'irrigant atteint la voie sous-gingivale (323).

Les premières études ont montré l'efficacité de l'irrigateur oral sur les paramètres cliniques tels que l'indice de plaque, les saignements et la MP (325–328). Dans une étude plus récente, Khatri *et al.* (2017) ont obtenu des résultats discordants quant à l'indice de plaque. En effet, ils ont mis en évidence que l'utilisation de jet dentaire permettait de réduire faiblement l'indice de plaque dentaire alors qu'une amélioration de l'indice gingival et du saignement gingival était observée (329). Ces résultats sont conformes aux résultats de Hugoson (330) et Emslie (331) qui ont suggéré que le jet dentaire ne suffisait pas à un contrôle de plaque satisfaisant. Les jets dentaires seraient donc plus efficaces pour déloger les débris alimentaires que pour éliminer la plaque dentaire. De plus, une étude de Sanders *et al.*, a conclu que l'irrigation par jet pulsé supragingival a des effets limités sur la composition de la plaque sous-gingivale (332).

Dans leur étude Khatri *et al.* (2017) ont démontré que l'ajout de CHX dans l'eau du jet dentaire n'avait pas d'effet potentialisateur sur la réduction de l'indice de plaque ni sur l'indice gingival après 14 et 28 jours d'utilisation (329). À l'inverse, Chaves *et al.* (333) et Flemmig *et al.* (334) ont rapporté que l'irrigation à l'eau avait moins d'effet que l'irrigation à la CHX.

Dans une étude réalisée sur 4 semaines, Rosema *et al.* ont comparé l'utilisation de jet dentaire ou de fil dentaire en plus du brossage biquotidien et ont conclu que le jet dentaire était plus efficace sur la réduction du saignement gingival (335).

Une revue Cochrane de 2019 menée par Worthington *et al.* a conclu que le brossage des dents et le jet dentaire permettaient de réduire la gingivite à court terme, mais qu'aucune preuve ne permettait de conclure quant à leur efficacité à moyen terme (336). Cette conclusion est en accord avec celle de la revue de Gallie qui indique que les jets dentaires n'ont pas prouvé de réels bénéfices en complément du brossage à un mois (337).

2.1.4 Brossettes interdentaires

D'après Waerhaug, les BIDs sont efficaces pour éliminer la plaque jusqu'à 2 à 2,5 mm sous la marge gingivale (338). Elles se composent d'une tige centrale en fil métallique dans laquelle s'insèrent des filaments de nylon doux torsadés. En 2015, la fédération européenne de parodontologie a indiqué que le nettoyage avec des BIDs était la méthode la plus efficace pour l'élimination de la plaque interproximale comparativement au fil dentaire et aux bâtonnets de bois (339). Deux revues systématiques ont conclu que l'utilisation des BIDs en complément du brossage entraînait une amélioration significative des paramètres cliniques tels que l'indice de plaque, l'indice de saignement et la profondeur de sondage, par rapport au brossage seul (11,340). Comparativement aux autres techniques d'hygiène interdentaire, les BIDs seraient la méthode la

plus efficace (309), ce qui s'expliquerait par une plus grande efficacité d'élimination de la plaque dentaire, une meilleure acceptation des patients et une facilité d'utilisation (308,339,341,342).

De nombreux diamètres de BIDs existent mais le choix doit se faire en fonction du diamètre de l'EI. La BID doit être introduite et se déplacer dans l'EI sans traumatiser les tissus mous ni abraser les tissus durs. Une BID de trop grand diamètre ou une mauvaise technique d'utilisation peut léser les tissus mous ou à terme user les tissus durs avec apparition possible d'une hypersensibilité (343). Il est donc indispensable de choisir une BID ayant un diamètre adapté à l'EI. Classiquement prescrites pour les grands EIs c'est-à-dire chez les sujets atteints de MP, les BIDs sont maintenant recommandées et adaptées à tous les sujets (11), seul certains cas ne permettent pas le passage d'une BID, comme des chevauchements importants ou la présence d'un diastème large (344).

Afin de déterminer avec précision le diamètre de la BID à utiliser, une sonde colorimétrique doit être utilisée. En 2015, Bourgeois *et al.* ont montré que l'utilisation d'une sonde colorimétrique calibrée permettait de déterminer le diamètre de la BID adapté à l'EI de manière plus efficace qu'en l'absence de sonde (345). Cette sonde colorimétrique calibrée qui comporte 5 couleurs différentes correspondant aux différents diamètres des BIDs, est basée sur le modèle de sonde à indice parodontale communautaire de l'OMS (Community Periodontal Index of Treatment Needs CPITN)(Figure 27A)(346,347). Après introduction de l'embout de la sonde à la base du site interdentaire avec une pression d'environ 50 N/cm² (force de 0,20 g)(345,348), la couleur visible qui émerge du côté vestibulaire lorsque la sonde calibrée bloque dans l'espace correspond au diamètre de la BID adapté à l'EI. A chaque couleur correspond un diamètre de BID. Ainsi l'utilisation d'une sonde colorimétrique permet de choisir une BID strictement calibrée au diamètre de l'EI mesuré. L'introduction de cette BID dans l'EI va permettre de désorganiser le biofilm sans traumatisme gingival, lors d'un seul aller-retour. Les études montrent que ceci est possible chez les adultes et plus particulièrement, chez de jeunes adultes parodontalement sains dans la quasi-totalité des sites interdentaires (Figure 27)(345,348).

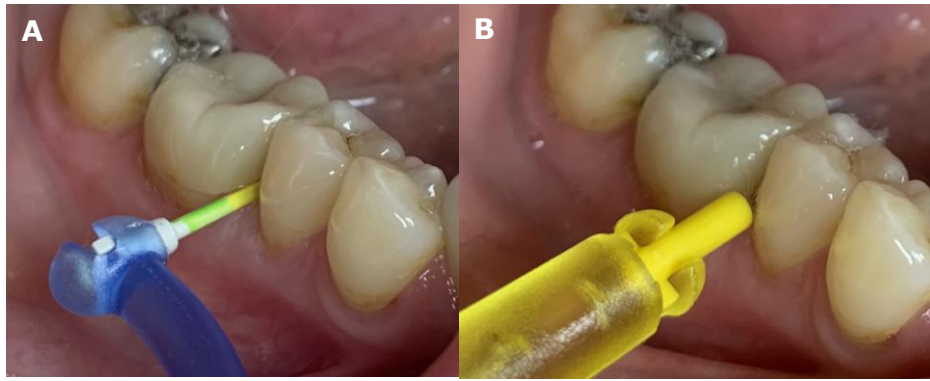


Figure 27. Vues cliniques intra-orales chez une patiente de 50 ans au niveau de l'arcade mandibulaire postérieure.
 A. Passage de la sonde colorimétrique dans l'espace interdentaire. B. Passage de la brosse interdentaire calibrée et adaptée à l'espace interdentaire.

En effet, Carrouel *et al.* (2016) ont démontré que chez des jeunes adultes sains âgés de 18 à 25 ans, les BIDs pouvaient être utilisées et qu'elles pénétraient dans 94% des sites interdentaires (348). Les 6% des sites restants correspondaient soit à des diastèmes soit à un manque d'espace (Figure 28)(348).

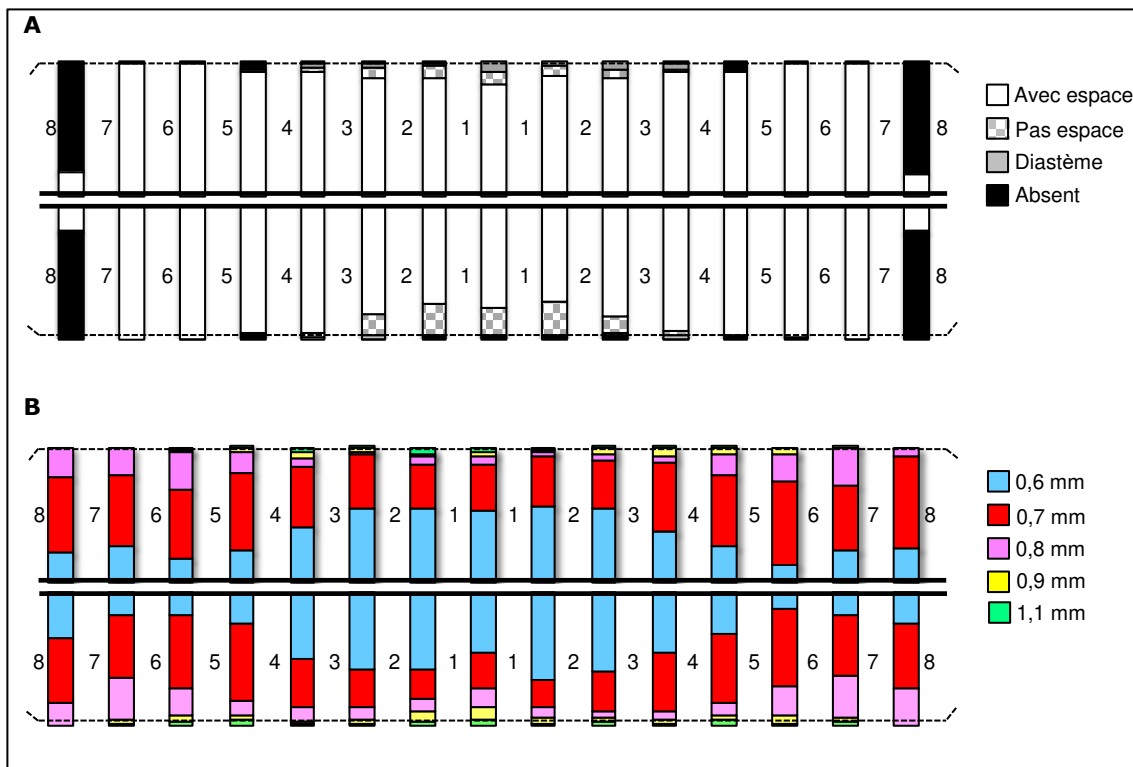


Figure 28. Distribution des sites interproximaux chez 99 adultes (348).
 A. Répartition des sites interdentaires (99x30 = 2970 sites) selon le type de dent. B. Répartition des différents diamètres interdentaires des 2408 sites accessibles aux brochettes interdentaires.

Imai *et al.* ont montré que l'utilisation de BIDs de diamètre calibré dans des embrasures de classe I, c'est-à-dire des embrasures où les papilles interdentaires remplissent les EI entre les dents adjacentes, permettait de réduire le nombre de sites interdentaires présentant des saignements de manière significative comparativement à l'utilisation de fil dentaire (341). D'autres auteurs ont aussi souligné l'importance d'utiliser des BIDs de diamètre calibré à l'EI (297).

L'absence de différence statistique entre les divers produits de nettoyage interdentaire dans certaines études pourrait s'expliquer par le fait que de nombreuses études utilisant des BIDs ne discutent pas de la taille des BIDs utilisées (341).

Afin de choisir une BID, il est important de prendre en compte sa géométrie. Les BIDs inclinées avec un long manche ont été mise au point pour les espaces interdentaires des dents postérieures. Dans une étude de 2014, Jordan *et al.* ont montré que les BIDs droites éliminaient de manière statistiquement significative davantage de plaque dentaire que les BIDs inclinées, même pour les dents postérieures (349). Chongcharoen *et al.* ont démontré quant à eux, l'importance de la forme de la tête de la BID. Ils ont montré que les têtes de BIDs coniques retiraient beaucoup plus de biofilm que les BIDs droites, ce qui correspondaient à des indices de plaque dentaire inférieurs (350). Une forme triangulaire ou conique de BIDs permettrait une meilleure adaptation à l'EI (340).

Le matériau de la BID est également à prendre en considération. Le toron, fil métallique au centre des BIDs peut être source d'irritation lorsqu'il entre en contact par frottement (342). Les BIDs en caoutchouc qui ont été développées récemment pourraient apparaître comme une alternative efficace aux BIDs classiques, avec une meilleure acceptation de la part des sujets (351–353).

L'utilisation des BIDs sur des sites sains sans perte d'attache pourrait susciter des inquiétudes en termes de traumatisme tissulaire (339). Cependant, les études existantes n'ont trouvé aucun dommage gingival associé (319,349) ni dommage aux tissus durs après l'utilisation de BIDs (354). Aucune perte d'attache n'a été mesurée pour les patients utilisant des BIDs depuis plus de dix ans (338) et techniquement, il est à noter que la papille interdentaire est pressée vers le bas tout en réalisant son action de nettoyage sous-gingivale (355). Cela peut aider à redessiner les tissus interdentaires (308).

De nombreuses études ont comparé l'utilisation des BIDs par rapport au fil dentaire en utilisant divers paramètres cliniques (indice de plaque, indice de saignement, profondeur de poche...). Chez les sujets en bonne santé parodontale, l'utilisation de BIDs ou de pics interdentaires

en caoutchouc a entraîné une diminution de l'indice de plaque interdentaire par rapport au brossage seul (356). Les BIDs sont également plus efficaces pour réduire les saignements interproximaux chez les patients en bonne santé parodontale avec des embrasures réduites (341). Noorlin *et al.* (2007) ont montré que, pour une population de patients atteints de parodontite chronique légère à modérée, l'utilisation des BIDs a permis de réduire les saignements au sondage et la profondeur de poche au sondage alors que l'utilisation du fil dentaire n'a pas eu d'effet bien que les résultats concernant l'élimination de la plaque supragingivale ou sous-gingivale ne différaient pas statistiquement entre les BIDs et le fil dentaire (357). Dans une autre étude, incluant 26 patients non traités atteints de parodontite modérée à sévère et réalisée pendant 6 semaines, Christou *et al.* ont comparé l'utilisation des BIDs et de fil dentaire et n'ont trouvé aucune différence entre le fil dentaire et les BIDs pour les indices de saignement, toutefois l'usage des BIDs était associé à une élimination plus efficace de la plaque et à une réduction plus importante de la profondeur des poches parodontales (342). Ces résultats concordent avec une autre étude menée auprès d'une population de patients atteints de parodontite chronique non traitée. Les modifications de la plaque, du niveau des papilles et des profondeurs de sondage se sont révélées significativement plus importantes chez les sujets utilisant des BIDs que chez les sujets employant du fil dentaire (355). Deux études ont également montré la supériorité des BIDs sur le fil dentaire en complément du brossage pour éliminer la plaque proximale chez les patients bénéficiant d'un suivi et d'une maintenance parodontale (356,358).

Ainsi, les preuves existantes montrent que, quel que soit l'état parodontal du patient, l'efficacité des BIDs semble être supérieure à celle du fil dentaire, que les études soient basées sur l'indice gingival, l'indice de plaque, la réduction des saignements, la réduction de la profondeur des poches au sondage ou sur une combinaison entre plusieurs paramètres. L'utilisation de BIDs pour l'élimination de la plaque proximale semble être particulièrement indiquée chez les patients parodontaux ou les patients en cours de maintenance (342,355,356,358). Dans une revue Cochrane de 2019, Worthington *et al.* ont obtenus les mêmes conclusions (336). La supériorité des BIDs pourrait être due au fait que les poils d'une BID sont capables de mieux remplir les embrasures, les irrégularités des surfaces radiculaires et les zones sous-gingivales papillaires que le fil dentaire (308).

Bien que l'action mécanique de désorganisation du biofilm *via* l'utilisation quotidienne de brosse à dents et de BIDs apparaisse comme la technique la plus efficace au maintien ou au rétablissement d'une bonne santé parodontale (13), elle est insuffisante et doit être complétée par une action chimique.

2.2 Action chimique

L'action chimique *via* l'utilisation de dentifrices et de bains de bouches va également contribuer à la lutte contre la mise en place d'un microbiote oral pathogène, contre le développement de plaque dentaire et par conséquent contre l'apparition de la MP (14).

Bien qu'une récente revue systématique ait conclu que le dentifrice n'apporte pas d'effet supplémentaire à l'élimination mécanique de la plaque dentaire (359), d'autres études comme celle de Serrano *et al.* (2015) démontrent que l'utilisation d'un agent chimique anti-plaque dentaire dans la gestion de la gingivite est importante pour améliorer la santé bucco-dentaire en termes d'inflammation gingivale, de saignement au sondage et d'indices de plaque (360). Cette différence de résultats peut s'expliquer par le fait que, malgré un brossage biquotidien, les individus présentent toujours de grandes quantités de plaque dentaire car leur brossage des dents n'est pas réalisé de manière très efficace (361). Ainsi, les adjuvants chimiques au brossage des dents pourraient être bénéfiques (362).

Les produits d'hygiène orale sont classés en deux catégories. La première correspond à des produits cosmétiques. Ils n'ont pas à faire leurs preuves avant leur mise sur le marché car ils ont pour seule obligation de garantir leur innocuité en répondant à une conformité de leurs composants vis à vis d'une liste d'ingrédients interdits et autorisés. La deuxième catégorie correspond aux médicaments qui doivent donc avoir obtenu une autorisation de mise sur le marché pour être commercialisés c'est-à-dire qu'ils ont dû prouver leur efficacité (363).

Dans le cadre de la prévention ou du traitement de la MP, les composants contenus dans les dentifrices et dans les bains de bouche peuvent exercer une action antimicrobienne et/anti-inflammatoire. Ces composants, substances connues pour être présentes dans des produits d'hygiène orale et pour aider à lutter contre la MP vont être développées de manière non exhaustive dans la partie qui suit.

2.2.1 Chlorhexidine

Dans les produits de soins bucco-dentaires, l'un des agents antimicrobiens les plus courants est la chlorhexidine (CHX) (364). Elle est notamment retrouvée dans de nombreux dentifrices, bains de bouche (365–367). La CHX est un antiseptique cationique qui présente un large spectre d'activité antibactérienne (368). En raison de ses effets bactériostatiques et bactéricides, elle a été couramment utilisée pour cibler les bactéries orales en thérapie parodontale (369–371). De plus, la CHX a également un effet inhibiteur contre certaines métalloprotéases (MMP), qui sont impliquées dans l'inflammation et la destruction des tissus (372).

Les produits de soins bucco-dentaires contenant de la CHX ont montré leur efficacité dans la réduction de la formation de plaque et également dans la réduction de la gingivite (365,373,374). Dans une revue systématique, Supranoto *et al.* (2015) ont évalué les preuves scientifiques de l'efficacité de deux formulations (dentifrice et bain de bouche) contenant de la CHX sur la plaque dentaire, les saignements, l'inflammation gingivale et les scores de décoloration des dents (375). Cinq essais contrôlés randomisés ont été inclus. Pour trois de ces études, la réduction de la plaque dentaire était supérieure avec les bains de bouche par rapport aux dentifrices (utilisés sans brossage associé). Pour l'indice gingival et pour les saignements, aucune différence statistiquement significative n'a été mise en évidence entre les deux formulations. Une décoloration des dents significativement plus importante a été associée à l'utilisation de bain de bouche à la CHX (375).

Dans une étude récente (2018), Magaz *et al.*, ont étudié l'effet de l'utilisation de dentifrice ou de bain de bouche contenant de la CHX, du dexpanthénol, de l'allantoïne et d'un excipient bioadhésif (CDAB) (Bexident® Gums Coadjuvant Treatment) chez des sujets souffrant de MP (367). Au bout de 21 jours, une amélioration significative des symptômes a été rapporté ainsi que la résolution de la gingivite sans décoloration dentaire associée (367).

Récemment, une nouvelle approche, appelée nano-encapsulation, a émergé. Elle fournit des composés biologiquement puissants plus efficaces sur des cibles spécifiques (376). Les médicaments nano-encapsulés peuvent augmenter l'efficacité biologique globale grâce à une pénétration rapide et à la biodisponibilité tout en diminuant la cytotoxicité potentielle, la posologie du médicament et les coûts de production, par rapport aux témoins (377). Seneviratne *et al.* ont décrit une nouvelle synthèse de nanoparticules (NP) de silice mésoporeuse encapsulées avec du CHX pur (sans forme saline), à savoir des NPs de CHX (378). Ils ont enduit de la CHX sur des NPs de silice mésoporeuse avec des pores internes d'environ 2,5 nm. Les résultats obtenus ont démontré que ces NP de CHX avaient des effets antibactériens contre les bactéries planctoniques et les biofilms. Les NPs de CHX peuvent agir contre plusieurs agents pathogènes oraux tels que *A. actinomycetemcomitans*, *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), *F. nucleatum*, *S. mutans* et *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*) dans les modes planctoniques et dans les biofilms mono-espèces, respectivement. De plus, les NPs de CHX peuvent inhiber la croissance d'un biofilm oral multi-espèces composé de *S. sobrinus*, *P. gingivalis* et *F. nucleatum* (378).

Barbour *et al.* ont développé de nouvelles NPs anti-microbiennes basées sur un sel hexamétaphosphate de CHX (376). Ces NPs de CHX de taille comprise entre 20 et 160 nm ont une structure colloïdale et sont des NPs fortement chargés négativement (-50 mV). Elles sont actives contre le *SARM* et *Pseudomonas aeruginosa* que ces bactéries soient planctoniques ou organisées en biofilm. Les NPs d'acide poly-lactique-co-glycolique ont également été étudiées en

tant que nanoporteurs biodégradables de CHX avec libération progressive de CHX (379). Ces nouvelles NPs pourraient être ajoutées au dentifrice ou au bain de bouche (376).

2.2.2 Fluorures

Les fluorures sont généralement considérés comme l'ingrédient actif le plus important d'un dentifrice. Au fil des ans, diverses formulations de fluorure ont été utilisées, par exemple le fluorure de sodium (NaF), le monofluorophosphate de sodium (SMFP), le fluorure d'amine et le fluorure stanneux (SnF₂).

La grande majorité des études consacrées aux fluorure dans les dentifrices se sont intéressées à leur effet au niveau de la carie. Dans une revue Cochrane, Walsh *et al.* (2019) ont analysé 96 études randomisées publiées entre 1955 et 2014 qui ont étudié l'effet de dentifrice contenant différentes concentration de fluorure (1100 à 2400 ppm) sur la présence de caries après 36 mois d'utilisation des dentifrices (380). Les auteurs ont conclu qu'il y avait des avantages à utiliser un dentifrice au fluorure à certaines concentrations pour prévenir la carie dentaire comparativement au dentifrice sans fluorure. Plus la concentration de fluorure est élevée, plus la carie dentaire est évitée. Cependant, le choix d'un dentifrice contenant du fluorure pour les jeunes enfants doit être mis en balance avec le risque de fluorose.

Il existe quelques études qui se sont intéressées à l'impact de la présence de fluorure dans les dentifrices sur la MP. Ainsi, le fluorure d'étain a des effets antiplaques et antigingivites et il réduit la proportion de bactéries et de spirochètes dans les zones sous-gingivales, ce qui peut contribuer à promouvoir la santé gingivale (381,382). He *et al.* ont mené un essai randomisé en double aveugle pour étudier le rôle antimicrobien du dentifrice au fluorure stanneux dans la MP et ont constaté une réduction significative des saignements gingivaux sur une période de 2 mois (383).

Dans une revue systématique, Johannsen *et al.* (2019) ont inclus 21 articles et ont conclu qu'un dentifrice contenant du SnF₂ permettait de réduire significativement la plaque par rapport à d'autres dentifrices (384). Selon l'indice de plaque utilisé et la durée de l'étude, la réduction de la plaque dentaire variait de 1,6% à 25,8%. L'effet a été observé dans des études de 24 heures et de 6 mois, ce qui indique que l'utilisation à court et à long terme d'un dentifrice contenant du SnF₂ a un effet inhibiteur de la plaque. Ils ont aussi trouvé qu'un brossage avec du dentifrice contenant du SnF₂ avait des effets directs (action anti-inflammatoire) et indirects (amélioration de la gingivite due à la réduction de la plaque) sur le développement de la gingivite (385). Ainsi, les études à 6 mois montrent que le dentifrice contenant du SnF₂ réduit significativement l'inflammation gingivale par rapport aux dentifrices témoins positifs et négatifs (384). Les résultats de Johannsen *et al.* (2019)

sont identiques à ceux de Paraskevas *et al.*, qui ont rapporté dans une revue de la littérature que le dentifrice contenant du SnF₂ réduisait la plaque dentaire ainsi que la gingivite (386).

2.2.3 Triclosan

Le triclosan (Tcs) est utilisé dans de nombreux produits de soins bucco-dentaires car il présente des propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales (387). Un dentifrice formulé avec du Tcs/copolymère présente un système antimicrobien qui offre des fonctionnalités en plus du fluorure, complétant les actions mécaniques du brossage dentaire et réduisant les bactéries buccales dans des sites buccaux distincts (388). Une étude contrôlée, randomisée, en double aveugle menée par Sreenivasan *et al.* a permis de comparer l'utilisation de dentifrice contenant du Tcs /copolymère et l'utilisation de dentifrice contenant du fluor. Après 3 semaines d'utilisation, une réduction importante et significative de la quantité de bactéries a été observée chez les sujets utilisant du dentifrice contenant du Tcs/copolymère alors qu'aucun effet statistiquement significatif n'a été observé chez les sujets utilisant du dentifrice au fluorure. De plus, lors des examens cliniques, les sujets qui ont utilisés du dentifrice triclosan/copolymère présentaient des indices de plaque supragingivale et de gingivite, inférieurs lors des évaluations post-traitement comparés aux mêmes indices au début de l'étude (389). Les effets à long terme du Tcs sur la gingivite et la réduction de la plaque, par rapport à un dentifrice conventionnel contenant du fluorure, ont été confirmés par une revue systématique (390).

Il s'est révélé que le Tcs produit une résistance bactérienne *via* une modification du site cible ce qui diminue l'effet inhibiteur de ce produit chimique. Les bactéries présentes dans l'environnement peuvent également devenir résistantes au Tcs en fonction de la quantité et de la durée d'exposition (391,392).

Le Tcs est maintenant reconnu comme un agent cytotoxique. Il induit une multitude d'effets sur la fonction cellulaire et les interactions moléculaires (393). Plusieurs études ont démontré que le Tcs est un perturbateur endocrinien chez plusieurs espèces (394–396) y compris chez l'homme (397). D'autres études épidémiologiques humaines ont mis en corrélation le Tcs avec des défauts de reproduction et de développement (394,398). Une situation reste toujours controversée : les concentrations du triclosan absorbées dans le corps humain pourraient induire des effets indésirables remarqués dans les études de laboratoire. Weatherly et Gosse en 2017, en comparant les niveaux de Tcs absorbés dans la peau humaine aux concentrations de composés signalées comme produisant des effets indésirables, ont constaté que les niveaux d'antimicrobiens absorbés par la peau sont comparables à ceux nécessaires pour induire des effets observés dans des

études de laboratoire telles que la dysfonction mitochondriale. Il est également important de noter que le Tcs n'est pas métabolisé rapidement par voie cutanée et que la majorité reste comme le composé d'origine pendant au moins 24 heures (399).

Compte tenu de ses effets indésirables sur notre santé, en janvier 2016, l'Union Européenne a pris la décision d'interdire le Tcs de tous les produits biocides destinés à l'hygiène humaine (400). L'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA-Food and Drug Administration) a également interdit le Tcs. Les produits contenant du Tcs devraient maintenant faire l'objet d'un examen avant commercialisation (401).

2.2.4 Argent

L'intérêt de l'incorporation de NPs d'argent (Ag) dans les produits d'hygiène orale (dentifrice, brosses à dents et bains de bouche) réside dans le fait qu'elles présentent des propriétés antimicrobienne et antiinflammatoire (402). Ainsi, ces produits d'hygiène orale permettent de lutter contre les pathogènes cariogènes et parodontaux mais aussi contre la réaction inflammatoire induite par ces bactéries.

Tout d'abord, les NPs d'Ag sont efficaces contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, et même contre certaines souches résistantes aux antibiotiques, mais aussi contre les virus et les champignons (403–406). *In vitro*, les NPs d'Ag ont un effet antimicrobien contre les bactéries à Gram négatif telles que *Acinetobacter* (407), *Escherichia* (408), *Pseudomonas* (409) et *Salmonella* (410). Elles agissent également contre les bactéries à Gram positif telles que *Bacillus* (411), *Enterococcus* (412), *Listeria* (413), *Staphylococcus* (414) et *Streptococcus* (415). L'activité antibactérienne dépend de plusieurs facteurs tels que la taille, la forme et la concentration des NPs. Les petites NPs d'Ag sont plus toxiques que les grosses particules, et encore plus lorsqu'elles sont oxydées (416). Plus les NPs sont petites, plus leur rapport surface/volume est élevé, plus elles pénètrent facilement dans les surfaces biologiques (417–419). Elles vont ainsi interagir avec les membranes cellulaires et désorganiser la bicouche lipidique, provoquant l'augmentation de la perméabilité membranaire et la lyse bactérienne (420). Les NPs d'Ag de diamètre inférieur à 30 nm ont démontré une forte activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) et *Klebsiella pneumonia* (*K. pneumonia*), tandis que les NPs d'Ag avec des tailles allant de 5 à 20 nm ont une forte activité antimicrobienne contre *S. aureus* (421). En plus de la taille des NPs d'Ag, leur morphologie impacte aussi l'activité antimicrobienne. Les NPs ayant une morphologie colloïdale ont une activité antibactérienne plus élevée que les NPs à morphologie polygonale, en forme de disque ou prisme (422,423). La concentration de NPs d'Ag peut également avoir un impact sur l'activité antibactérienne (424). Les

NPs d'Ag inférieurs à 15 nm et à une concentration de 0,004% p/p ont montré une efficacité maximale pour prévenir la croissance de bactéries responsables des odeurs orales désagréables et des caries dentaires (411). Un effet antibactérien synergique contre *S. aureus* et *Escherichia coli* (*E. coli*) a été observé *in vitro* en combinant des NPs d'Ag avec des antibiotiques tels que l'amoxicilline, la pénicilline G, la clindamycine, l'érythromycine et la vancomycine (425). La conjugaison avec de la quinazolinone a démontré, *in vitro*, une activité antibactérienne plus élevée contre *E. coli*, *Streptococcus pyogenes*, *K. pneumoniae*, *Bacillus cereus* (*B. cereus*) et *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) par rapport à la quinazolinone seule (426).

Les NPs d'Ag présentent aussi, *in vitro*, une activité antivirale contre des virus (405) tels que le virus de l'immunodéficiência humaine 1 (427), le virus herpès simplex type 1 (428), le virus herpès simplex type 2 (428), le virus parainfluenza type 3 (428) ou le virus influenza A H1N1 (429). De la même manière que pour l'activité antibactérienne, la taille des NPs impacte sur l'activité antivirale. Elechiguerra *et al.* ont démontré que seules les NPs ayant une taille comprise entre 1 et 10 nm peuvent se fixer au virus de l'immunodéficiência humaine 1 *via* la glycoprotéine de surface gp20 et exercer une action antivirale (263). Gaikwad *et al.* ont obtenus des résultats similaires concernant l'action des NPs d'Ag sur les herpès simplex type 1 et 2 et sur le virus parainfluenza type 3 (428). En effet, *in vitro*, ils ont démontré que l'activité antivirale dépendait de la taille des NPs et que leur action se faisait en empêchant l'interaction virus-cellule (428). Mori *et al.* ont eux aussi obtenus des résultats similaires quant à l'effet de la taille des NPs d'Ag sur l'activité antivirale contre le virus parainfluenza type 3 mais ils ont en plus prouvés que l'action antivirale augmente lorsque la concentration en NPs d'Ag augmente (428).

De plus, les NPs d'Ag ont des propriétés anti-inflammatoires (430). Pour cela, les NPs d'Ag (i) diminuent les niveaux de facteur de croissance endothélial vasculaire; (ii) réduisent l'expression du facteur inductible par l'hypoxie 1α , qui agit sur la destruction bactérienne et régule l'expression des gènes pro-inflammatoires; (iii) préviennent l'hypersécrétion de mucines (glycoprotéines de mucus); et (iv) suppriment la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine-12 et le facteur de nécrose tumorale α , et provoquent également une diminution de l'expression du gène de la cyclooxygénase-2 à des concentrations plus élevées (430).

Ahmed *et al.* ont montré, *in vitro*, que du dentifrice contenant des NPs d'Ag avait une activité antimicrobienne contre *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) contrairement au dentifrice sans NPs d'Ag (431). Le dentifrice contenant des NPs d'Ag aurait une action préférentielle contre les bactéries Gram-négatives par rapport aux bactéries Gram-positives (432). La concentration minimale inhibitrice (CMI) affectant la croissance de *S. aureus*, une bactérie Gram positive, était de 0,004 g/mL alors que pour les bactéries à Gram négatif telles que *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa*, une CMI

de 0,15 g/mL a été observée et que pour *E. coli* ou *Proteus mirabilis* aucun effet bactéricide n'a été observé. Ce dentifrice a totalement inhibé la croissance d'*E. faecalis* et de *B. cereus* même lorsque le dentifrice contenait la plus faible concentration d'Ag NPs.

Les bains de bouche contenant des NPs d'Ag pourraient être une alternative intéressante aux bains de bouche contenant de la CHX qui sont classiquement utilisés pour le traitement de la gingivite induite par la plaque mais dont l'utilisation peut présenter divers effets secondaires à long terme (433,434). Charles *et al.* ont comparé, dans une étude clinique contrôlée de 6 mois, chez 108 sujets âgés de 20 à 57 ans, l'utilisation d'un bain de bouche contenant des NPs d'Ag, d'un bain de bouche contenant de la CHX et d'un placebo (434). Alors qu'une réduction significative de l'indice de plaque, de l'indice gingival et de l'indice de saignement papillaire entre les groupes utilisant un bain de bouche contenant des NPs d'Ag ou de la CHX et le groupe placebo était observée, aucune différence significative entre les bains de bouche contenant des NPs d'Ag ou de la CHX n'était observée (434). *In vitro*, une étude précédente avait montré que le bain de bouche contenant de la CHX était statistiquement plus efficace que le bain de bouche contenant des NPs d'Ag (435). Ces différences pourraient s'expliquer par les différences de composition des NPs d'Ag, une concentration différente de CHX (0,2%), ainsi que des différences de méthodologie (étude *in vivo* et *in vitro*). Une autre utilisation des bains de bouche contenant des NPs d'Ag est de lutter contre la colonisation par certaines bactéries résistantes aux médicaments et également par des champignons qui provoquent des infections chez les patients immunodéprimés comme la candidose buccale (stomatite associée à *Candida*) (436,437). L'efficacité antibactérienne *in vitro* d'un bain de bouche sans alcool contenant une faible concentration de NPs d'Ag colloïdal (50–0.024 µg/mL) a été démontrée par Abadi *et al.* (438). Les mesures de CMI variaient entre 0,78 et 3,12 µg/mL, alors que les mesures de bactéricide minimum ou concentration fongicide (CMB ou CMF) étaient comprises entre 1,56 et 12,5 µg/mL pour *S. aureus*, *S. mutans*, *P. aeruginosa*, *E. coli* et *C. albicans*. L'addition de 30 000 µg/mL d'éthanol au bain de bouche n'a pas affecté l'activité antibactérienne. Les auteurs ont conclu que le bain de bouche contenant des NPs d'Ag a des effets antimicrobiens élevés à de faibles concentrations et il peut ainsi représenter une bonne alternative à l'éthanol (30 000 µg/mL) qui est irritant, en particulier pour les muqueuses sensibles ou enflammées.

Les NPs d'Ag sont également utilisés dans les brins de brosses à dents afin de réduire le nombre de pathogènes parodontaux putatifs (439,440). Dans un essai contrôlé randomisé (ECR), Nascimento et ses collègues ont comparé l'utilisation des brosses à dents avec des brins enduits de CHX, des brins enduits d'Ag ou des brins conventionnels sur 30 jours (439). Les brins de la brosse à dents contenant des NPs d'Ag ont diminué le nombre de bactéries dans le biofilm supra et sous-gingival. Après 30 jours de brossage des dents, les brins enduits d'Ag et enduits de CHX ont pu

réduire ou maintenir la quantité de pathogènes parodontaux tels que *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *F. nucleatum* et *P. micra*. Le nombre total de bactéries dans le biofilm supragingival ou sous-gingival n'a pas été diminué par CHX. Cependant, dans le biofilm supragingival, CHX a réduit le nombre de bactéries pour la plupart des agents pathogènes testés (439).

Bien que les NPs d'Ag semblent très bénéfiques, il faut également tenir compte des effets indésirables. Gaillet et Rouanet ont indiqué que les NPs d'Ag dans les dentifrices et autres produits pourraient être responsables de l'inflammation du tractus gastro-intestinal (441). Les principaux effets toxiques observés ont été la perte de poids, la perturbation de la biochimie sanguine et le dysfonctionnement des enzymes hépatiques (441). Cependant, comme le dentifrice n'est pas indiqué pour un usage systémique mais pour un usage topique, il est peu probable que des effets indésirables soient observés en si petites quantités.

2.2.5 Or

L'or (Au) a démontré des propriétés antibactériennes et antiinflammatoires et permet donc de lutter contre la MP cependant, il reste peu utilisé dans les dentifrices et les bains de bouche. Plusieurs études ont mis en évidence que l'or avait une action contre les bactéries et les champignons (442–446). Cette activité antimicrobienne peut être augmentée en conjuguant l'or avec de la tétracycline (447) ou de l'ampicilline (448). L'or a aussi une action anti-inflammatoire car il permet de (i) réduire la production des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS); (ii) diminuer la production de cytokines induite par les lipopolysaccharides tels que l'IL-1 β , IL-17, le TNF- α ; et (iii) moduler des voies de la protéine kinase activée par un mitogène et de la phosphatidylinositol 3-kinase (449).

L'utilisation d'or en pathologie buccale reste rare (443), bien qu'il soit facilement préparé par la technique de coprécipitation et qu'il soit moins toxique que les nanomatériaux métalliques tels que l'argent (450). Ce matériau présente un effet similaire à celui observé avec des antibiotiques tels que la mupirocine (451,452). Dans une étude *in vitro*, Hernández-Sierra *et al.* ont utilisé des NPs d'Ag et d'Au de tailles moyennes de 25 nm, 80 nm et 125 nm et ont démontré qu'une concentration supérieure en NPs d'Au par rapport aux NPs d'Ag était nécessaire pour observer des effets bactériostatiques et bactéricides sur *S. mutans* (453). Une autre étude qui a comparé *in vitro* des dentifrices contenant des NPs d'Ag et des dentifrices contenant des NPs d'Au a permis d'obtenir des résultats concordants (432). L'action était supérieure contre les bactéries Gram-positives par rapport aux bactéries Gram-négatives. De plus, le dentifrice contenant des NPs d'Ag était plus

efficace contre les bactéries à Gram négatif et avait un effet antimicrobien plus large par rapport au dentifrice contenant des NPs d'Or. Cet effet antimicrobien plus faible des NPs d'Or par rapport aux NPs d'Ag pourrait expliquer la faible utilisation des NPs d'Or dans les produits de soins bucco-dentaires.

Récemment, des NPs d'Or ont été incorporés dans les brins de brosse à dents (443). Bien qu'aucune étude n'ait été publiée, il est envisageable que, l'utilisation de ces brosses à dent de par l'action mécanique mais aussi de par l'action antibactérienne liée à la présence des NPs d'Or permette de réduire la MP (454).

Un inconvénient réside dans le fait que selon la concentration utilisée, ces NPs d'Or puissent avoir un effet toxique (455). Ainsi, *in vitro*, les NPs d'Or pénètrent à l'intérieur des bactéries et entraînent la synthèse de ROS. Ce stress oxydatif induit une nouvelle cytotoxicité qui endommage l'ADN, provoque la mort cellulaire par apoptose et nécrose, et provoque l'arrêt du cycle cellulaire. Comme la production de ROS est connue comme un mécanisme commun d'effets cytotoxiques, les NPs d'Or peuvent donc induire des effets cytotoxiques (455). Cependant, récemment, Gunduz *et al.* ont étudié, *in vitro*, l'exposition des cellules endothéliales vasculaires à des NPs d'Or (456). Ils ont démontré qu'une fois le nombre maximal de NP intracellulaires atteint, il y avait une déplétion constante mais pas de mort cellulaire. Cette déplétion a réduit le stress du réticulum endoplasmique (456). Une étude réalisée *in vivo*, chez des rats Sprague-Dawley, a permis de montrer que lorsque les rats inhalaient des NPs d'Or pendant 6 h/jour, 5 jours/semaine pendant 90 jours alors des changements liés à la dose n'étaient observés que dans les poumons (457). Ainsi, les résultats divergent quant à un effet cytotoxique de l'Or.

2.2.6 Oxyde de zinc

Les NPs d'oxyde de zinc (ZnO) sont couramment utilisés comme agents antibactériens et agents anti-inflammatoires dans les produits de soins bucco-dentaires tels que les dentifrices et les bains de bouche (458). Les NPs d'oxyde de zinc (ZnO) ont une activité antibactérienne (459–461), antivirale (462) et antifongique (463). L'activité antimicrobienne des NPs de ZnO dépend des techniques de synthèse, des caractéristiques physico-chimiques, des outils d'évaluation et des techniques utilisées pour générer des structures tridimensionnelles (464,465). *In vitro*, le ZnO a des propriétés antibactériennes qui augmentent lorsque le ZnO est sous forme NPs en raison de l'augmentation du rapport surface-volume-volume (466,467). Des effets antibactériens sur les bactéries Gram-négatives et Gram-positives ont été démontrés *in vitro* (459–461). Les NPs de ZnO sont capables d'endommager les bactéries *E. coli* par internalisation cellulaire (468). Plus

récemment, il a été démontré que du ZnO encapsulé dans du polyéthylenglycol interagit fortement avec l'acide citrique et l'acide lactique, conduisant à un effet d'inhibition bactérienne contre *S. aureus*, *E. coli*, et *S. mutans* et *Lactobacillus* dans la plaque dentaire (459,469,470). Les effets antimicrobiens du ZnO sont similaires à ceux des NPs d'Ag car plus les NPs sont petits, plus la surface augmente. Par conséquent, l'effet antimicrobien devient plus fort en raison de sa capacité à réagir avec plus de molécules par unité de surface. Cependant, *in vitro*, par rapport aux NPs d'Ag (0,1 mg/mL), une concentration plus élevée de NPs de ZnO (taille 15–20 nm; surface 47 m²/g) est nécessaire pour observer l'inhibition de la croissance (0,5–2,5 mg/mL) et des effets destructeurs (> 2,5 mg/mL) contre plusieurs agents pathogènes (471). Les NPs de ZnO ont démontré, *in vitro*, une activité antibactérienne contre des bactéries connues pour être impliquées dans la gingivite et la parodontite telles que *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* et *F. nucleatum*, *Streptococcus sanguis* (472,473). L'incorporation de NPs de ZnO dans les dentifrices et les bains de bouche permet donc de lutter contre la gingivite de par l'action bactéricide (474,475). Cependant, Hernandez-Sierra *et al.* ont révélé que l'effet antimicrobien des NPs de ZnO contre *S. mutans* était inférieur à celui des NP d'Ag (453). *In vitro*, les bains de bouche contenant des sels de zinc (gluconate de zinc, chlorure de zinc) ou des NPs de ZnO présentent une activité antibactérienne élevée contre *S. mutans* (476,477). La combinaison de NPs d'Ag avec des NPs de ZnO a démontré un effet antibactérien synergique (478). Par conséquent, pour contrôler la formation de la plaque dentaire, de très faibles concentrations de NPs d'Ag/ZnO sont nécessaires (453). Les bains de bouche contenant une faible concentration de NPs de ZnO ont une activité antibactérienne élevée contre le streptocoque dans la bouche (479). Des résultats similaires ont été obtenus par Kachoei *et al.* (479). Ils ont prouvé, *in vitro*, qu'un bain de bouche contenant des NPs d'Ag/ZnO était un agent antimicrobien efficace. Comparés à ceux contenant des NPs de ZnO, de la CHX à 0,2% et du fluorure de sodium à 0,05%, les bains de bouche contenant des NPs d'Ag/ZnO ont démontré une activité antimicrobienne plus élevée contre *S. mutans*. Par conséquent, afin d'éviter l'accumulation de plaque, un bain de bouche contenant des NPs de ZnO pourrait remplacer la CHX 0,2% et le fluorure de sodium 0,05%. Cependant, la CHX 0,2% a montré une activité antimicrobienne plus élevée contre *S. mutans* par rapport à différentes concentrations de NPs de ZnO (479). Un problème associé à l'utilisation du bain de bouche contenant des NPs de ZnO est la décoloration de l'émail. Eslami *et al.* ont conclu que les dents extraites présentaient le changement de couleur le plus sévère lorsqu'elles étaient immergées avec des NPs de ZnO, qu'avec des NPs d'oxyde de cuivre (CuO), des NPs d'Ag, des NPs de dioxyde de titane (TiO₂) ou de la CHX (480).

Par ailleurs, les NPs de ZnO exercent une activité anti-inflammatoire en (i) bloquant la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β et l'IL-18, (ii) en inhibant le facteur

de nécrose kB et la caspase 1 dans les mastocytes activés et les macrophages, (iii) inhiber la prolifération des mastocytes en augmentant la p53 et en diminuant la production de lymphopoïétine stromale thymique liée à l'IL-13, une cytokine TH2, ainsi que l'IL-1 et le facteur de nécrose tumorale- α et (iv) la suppression de l'expression de la cyclooxygénase-2 induite par les lipopolysaccharides et de l'oxyde nitrique synthase inductible (430,481).

Les NPs de ZnO représentent un matériau biologiquement sûr qui ne présente pas de toxicité pour les cellules humaines (467). Comparés à leurs équivalents microns, les NPs de ZnO sont plus toxiques pour les bactéries (482).

2.2.7 Dioxyde de titane

Le TiO₂ est connu pour posséder cette activité antibactérienne et antivirucide (483–485). Les NPs de TiO₂ présentent un grand intérêt en raison de leur faible coût, de leur stabilité élevée, de leur activité photocatalytique élevée et de leur réutilisabilité (486–488). La bioactivité des NPs de TiO₂ est liée à la surface de contact et / ou au volume qui est augmenté en diminuant la taille des particules, en particulier dans ce cas l'épaisseur (<100 nm), qui autorise une interaction intensifiée avec les molécules et protéines des membranes cellulaires et un total moindre de substance (489–492). Par rapport aux NPs d'Ag et de Cu, peu d'études sur l'activité antibactérienne TiO₂ ont été menées.

L'activité antimicrobienne de TiO₂ est due à sa structure cristalline, sa forme et sa taille (493). Pour assurer la meilleure activité antimicrobienne, les NPs de TiO₂ doivent être sous forme d'anatase (espèce minérale formée de dioxyde de titane de formule TiO₂ avec des traces de fer, d'antimoine, de vanadium et de niobium) et subir une excitation par la lumière UV. La photocatalyse des NPs de TiO₂ provoque: (i) la peroxydation du composant phospholipide polyinsaturé de la membrane lipidique bactérienne; (ii) la perte d'activité respiratoire; et (iii) la mort cellulaire (494). Tsuang et al. ont démontré *in vitro* que la photocatalyse de TiO₂ permettait d'observer une activité microbienne contre les bactéries anaérobies strictes (*Bacteroides fragilis*), les bactéries anaérobies facultatifs (*E. coli*, *S. aureus*) et les bactéries aérobies obligatoires (*P. aeruginosa*) (495). En l'absence de lumière UV, les NPs de TiO₂ d'environ 18 nm et ayant une surface spécifique de 87 m²/g ont démontré une activité bactériostatique pour des concentrations allant de 1,0 à 2,5 mg/mL contre *E. coli* et *S. aureus* multi-résistants et une activité bactéricide pour une concentration supérieure à 2,5 mg/mL. Contre les agents pathogènes oraux tels que *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* et *F. nucleatum*, une activité bactériostatique est observée, *in vitro*, pour des concentrations allant de 0,25 à 2,5 mg/mL, et une activité bactéricide est démontrée pour une

concentration plus élevée de 2,5 mg/mL (472). La taille et la conformation des NPs de TiO₂ impactent sur l'activité antibactérienne. De Dicastillo *et al.* ont créé des NPs de TiO₂ sphériques, creuses et antimicrobiennes avec une coquille de 17 nm d'épaisseur (483). Ces NPs de TiO₂ creuses et calcinées présentaient une meilleure activité antimicrobienne que les NPs de TiO₂ du commerce, contre des bactéries multirésistantes comme *E. coli* et *S. aureus* (483). La combinaison de TiO₂ et d'Ag permet de supprimer la photocatalyse et d'obtenir des résultats en lumière visible (496,497). Les NPs d'Ag-TiO₂ peuvent agir contre *S. mutans* (496).

TiO₂ peut également avoir une action anti-inflammatoire en (i) réduisant le nombre de plaquettes; et (ii) augmentant les taux de thrombine – antithrombine (430).

De plus, TiO₂ est un blanchissant efficace utilisé comme pigment dans de nombreux produits médicaux et industriels. Il permet d'avoir une couleur très blanche dans la pâte de dentifrice.

Des études récentes indiquent que l'utilisation de NPs de TiO₂ peut avoir des effets toxiques (498–500). De plus, Geraets *et al.* ont démontré que chez le rat, lorsque l'exposition orale était répétée, les NPs de TiO₂ peuvent s'accumuler dans les tissus (501). Rompelberg *et al.*, en utilisant des méthodes analytiques, ont conclu que le dentifrice (chez les jeunes enfants uniquement) est le produit qui contribue le plus à l'apport de TiO₂, mais ils n'ont pas tiré de conclusion concernant le risque pour la santé générale (502). Dans une revue, Baranowska-Wójcik *et al.* ont expliqué que les NPs de TiO₂ à petites doses régulières peuvent agir sur la muqueuse intestinale, le cœur, le cerveau et d'autres organes internes, ce qui peut augmenter le risque de développer des maladies systémiques ou des tumeurs (503).

2.2.8 Oxyde de cuivre

Contrairement aux oxydes métalliques précédemment décrits, peu d'études existent concernant le cuivre ou l'oxyde de cuivre.

Les NPs de CuO ont démontré des activités antibactériennes (504) et antifongiques (505). Une relation inverse entre la taille des NPs de CuO et l'activité antibactérienne a été établie *in vitro* (504). La plus grande activité bactéricide a été obtenue pour des NPs de cuivre allant de 1 à 10 nm. En suspension, les NPs de CuO ont démontré leur capacité à lutter contre toute une gamme d'espèces bactériennes. Cependant, par rapport à l'argent, les NPs de CuO ont une activité bactéricide plus faible (506). Les NPs de Cu₂O et les NPs de CuO ont une activité antibactérienne similaire (507). Le CuO a démontré une activité antibactérienne différente contre plusieurs espèces à Gram négatif et à Gram positif telles que *P. aeruginosa*, *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM),

Staphylococcus epidermidis et *E. coli* (507). Amiri *et al.* ont démontré que les NPs de CuO avaient un effet antimicrobien élevé contre les agents bactériens de la carie dentaire examinés (*S. mutans*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei*), et un effet plus faible sur trois espèces de candida (*C. albicans*, *Candida krusei*, et *Candida glabrata*) (508).

2.2.9 Ferumoxytol

Les NPs de ferumoxytol peuvent perturber les biofilms oraux et éviter les lésions carieuses *via* une activité intrinsèque de type peroxydase. Les NPs de ferumoxytol pénètrent dans le biofilm, se lient aux bactéries et produisent des radicaux libres à partir de peroxyde d'hydrogène, provoquant la mort *in situ* des bactéries car la membrane cellulaire est perturbée et la matrice de la substance polymère extracellulaire est dégradée. Associé à de faibles concentrations de H₂O₂, le ferumoxytol inhibe l'accumulation de biofilm sur les dents naturelles et évite les dommages acides aux tissus minéralisés dans les modèles de biofilm *ex vivo* (509). *In vivo*, dans un modèle de rongeur atteint d'une maladie carieuse, un traitement oral topique comprenant du ferumoxytol et du H₂O₂ a freiné le développement des caries dentaires, évitant l'apparition de caries dentaires sévères. Un dentifrice et un bain de bouche contenant des NPs de ferumoxytol pourraient être un traitement topique efficace des maladies bucco-dentaires induites par le biofilm (509).

2.2.10 Scutellaria baicalensis

En médecine traditionnelle chinoise, *Scutellaria baicalensis* est généralement prescrit pour traiter les maladies infectieuses et inflammatoires (510). Il est utilisé pour gérer la MP (511). Son action anti-inflammatoire, antioxydante et immunomodulatrice est due à la présence de baicaline, un composé flavonoïde (512,513). *Scutellaria baicalensis* a été chargé dans des NPs magnétiques (415,514) et des NPs de chitosan (515). Ces études ont démontré que la charge de *Scutellaria baicalensis* sur les NPs augmentait le pourcentage d'administration de médicaments.

Leung *et al.* ont analysé l'activité antibactérienne du mélange de NPs de *Scutellaria baicalensis* et de NPs de CHX (ratio 9: 1 (w / w)) sur les bactéries planctoniques et les biofilms. Le mélange était efficace sur des biofilms mono-espèces d'*A. Actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *S. sobrinus* et *S. mutans* à 24 h. Il était également actif contre les biofilms composés de plusieurs espèces telles que *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum* et *S. mutans* à 24 h. L'auteur a clairement montré une action synergique antibactérienne des NPs mixtes sur les biofilms bactériens oraux habituels,

qui peut être initiée comme un nouveau facteur antimicrobien pour les soins bucco-dentaires cliniques (516).

2.2.11 Propolis

La propolis est un produit naturel qui a suscité un intérêt accru en raison de son activité antimicrobienne contre un grand nombre de micro-organismes pathogènes. La propolis (*Apis mellifera*) est un produit naturel dur, résineux et non toxique provenant de plantes ayant déjà été utilisé comme un complément alimentaire (517). Ce produit naturel présente un large éventail d'activités biologiques, notamment : antibactérien, antiviral, fongicide, anti-inflammatoire, antioxydant, hépatoprotecteur, piègeur des radicaux libres, immunomodulateur et activité antidiabétique (518,519). De plus, il améliore les paramètres microbiologiques et cliniques des tissus parodontaux (520,521).

Bien que la composition chimique de la propolis dépende de son origine (522), elle contient plus de 230 composants, essentiellement des substances bénéfiques, dont : des flavonoïdes, des acides cinnamiques et leurs esters, de l'acide caféique et l'ester phényléthylique de l'acide caféique qui agissent probablement sur la membrane microbienne ou la surface de la paroi cellulaire, causant des dommages structurels et fonctionnels (523,524). Les extraits éthanoliques de propolis ont montré un effet inhibiteur contre la croissance et l'adhérence de *S. mutans* (525) et un effet inhibiteur comparable au celui de la CHX pour *Lactobacilli*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *A. israelii*, et *C. albicans* (526). Les résultats d'une étude menée par Nakajima et al., portant sur l'impact de la propolis brésilienne sur les troubles du métabolisme du glucose et des lipides dans la parodontite expérimentale chez la souris, suggèrent que l'administration de propolis peut être efficace pour supprimer les changements métaboliques induits par les bactéries parodontopathogènes qui augmentent le risque de diverses maladies systémiques (527). Dans leur essai clinique randomisé, El-Sharkawy *et al.* ont comparé le détartrage et le surfaçage radiculaire avec un placebo ou le détartrage et le surfaçage radiculaire combiné à un schéma de 6 mois de 400 mg de propolis orale une fois par jour chez des patients atteints de diabète mellitus de type 2 et de parodontite chronique de longue date. Après le traitement, les paramètres parodontaux de la parodontite chronique ont été significativement améliorés dans les deux groupes. Le groupe propolis a montré une réduction de la profondeur de sondage parodontal et un gain de niveau d'attachement clinique significativement plus élevés que le groupe témoin après 3 et 6 mois (528). Dans une récente étude, Yoshimasu *et al.* ont étudié de manière approfondie les activités antibactériennes des extraits éthanoliques de propolis et des composés dérivés des extraits éthanoliques de propolis envers *P.*

gingivalis. Les tests réalisés ont montré que *P. gingivalis* a un niveau de sensibilité plus élevé que des micro-organismes commensaux oraux tels que les streptocoques. L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de propolis vis-à-vis *P. gingivalis* s'est maintenue même après un traitement thermique intensif, démontrant un haut niveau de stabilité thermique (529).

Une étude réalisée par Pereira *et al.* a montré des preuves de l'efficacité d'un bain de bouche sans alcool contenant 5% de propolis verte brésilienne dans le contrôle de la plaque dentaire et de la gingivite, suggérant que ce bain de bouche peut avoir un usage thérapeutique et préventif dans le contrôle des MP (17).

2.2.12 Robinia pseudoacacia L

Robinia pseudoacacia L. ou le Robinier faux-acacia ou Acacia appartient à la famille des *Fabaceae* (Fabacées). Il est communément connu comme black locust, le criquet noir, sur son territoire d'origine. Ce taxon, originaire d'Amérique du Nord, est largement distribué en Europe, en Turquie, en Chine, en Afrique du Sud, en Argentine, au Chili et dans les régions côtières australiennes (530). La composition chimique de *R. pseudoacacia* L. contient des flavonoïdes, y compris la robinine (kaempférol 3-O-robinoside-7-O-rhamnoside), l'acacétine-7-O-rutoside, l'apigénine, la diosmétine, la lutéoline, le secundiflorol, le mucronulatol, l'isomucronulatol et l'isovestitol, qui sont des molécules d'importance pharmaceutique (531).

L'étude menée par Patra *et al.* (2015) a permis de tester l'activité antibactérienne des extraits de la plante *Robinia pseudoacacia* sur deux bactéries pathogènes orales que sont *P. gingivalis* et *S. mutans*, et sur une bactérie témoin non pathogène (souche *E. coli* DH5 α). *E. coli* est une bactérie résidente des organismes à sang chaud et aucun effet antibactérien significatif n'a été observé pour cette bactérie (532). À l'inverse, l'extrait brut de cette plante était actif contre *P. gingivalis* et *S. mutans* mais aucun des composés identifiés n'avait à lui seul une activité antibactérienne contre ces deux bactéries. À l'inverse, Ferrazzano *et al.* (2013) n'ont pas mis en évidence d'activité antibactérienne contre les pathogènes oraux (533). Cependant, la présence de plusieurs composés bioactifs dans la plante de *R. pseudoacacia* a également été démontrée (534). Les résultats de l'étude réalisée par Patra *et al.* contribuent à la recherche de nouveaux médicaments antibactériens naturels et d'ingrédients actifs contre diverses maladies bucco-dentaires sans affecter la microflore normale de la cavité buccale (532).

2.2.13 Salvadora Persica

L'utilisation de la plante *Salvadora persica* (miswak) est associée à une diminution du nombre de bactéries orales et de l'indice de plaque (535). Historiquement, elle a été utilisée sous diverses formes, telles que des bâtonnets à mâcher, sous forme d'extrait et également en tant que dentifrice. *Salvadora persica* est toujours utilisée à l'échelle mondiale (536). Les bâtonnets à mâcher de *Salvadora persica* sont le premier outil de nettoyage des dents connu de l'histoire, et leur utilisation remonte à 3500 avant notre ère (537). Les bâtonnets de miswak, dérivés de l'espèce végétale *Salvadora persica* qui appartient à la famille des *Salvadoraceae*, sont utilisés par la majorité des personnes qui n'ont pas les moyens d'acheter de brosse à dents ni de dentifrice, principalement dans les zones rurales des pays en développement. Le sens conventionnel du mot miswak est « bâtonnet utilisé pour nettoyer les dents et les gencives » (538). Plusieurs études ont rapporté les effets antibactériens du miswak sous forme de bâtonnets à mâcher ou bien intégré dans du dentifrice, sur les bactéries cariogènes et les agents pathogènes parodontaux, ainsi que l'action inhibitrice sur la formation de la plaque dentaire (538–540). Un essai randomisé en double aveugle chez 72 sujets souffrant de gingivite modérée a montré qu'il y avait une réduction significative de l'indice de plaque, de l'indice gingival et de l'indice de saignement à la suite de l'utilisation d'une gomme à mâcher à l'extrait de *Salvadora persica* (541). Sofrata *et al.* ont suggéré que l'isothiocyanate de benzyle est le principal composant antibactérien des bâtonnets à mâcher de la racine de *Salvadora persica* avec une activité de destruction élevée contre les agents pathogènes parodontaux *A. actinomycetemcomitans* et *P. gingivalis* (542).

L'activité antioxydante de miswak se caractérise principalement par la présence de deux tocophérols dominants, γ -tocophérol et α -tocophérol, dans les graines de *Salvadora persica*. D'autres antioxydants sont aussi présents tels que le Δ^5 -avénastérol, le bêta-sitostérol, le campestérol et le stigmastérol (543). Cette capacité antioxydante a également été attribuée à la présence d'enzymes antioxydantes : de la peroxydase, de la catalase et de la polyphénol oxydase. De par les actions synergiques des composés antioxydants et des enzymes antioxydantes mais aussi de par l'action mécanique, le bâtonnet à mâcher de miswak est donc très intéressant pour le brossage des dents et l'hygiène buccale (544).

2.2.14 Extrait de feuille de papayer

Carica papaya (CP), communément appelé papayer, appartient à la famille des *Caricaceae* (Caricacées). Il s'agit d'une plante à fleurs, omniprésente dans les tropiques, avec un fruit comestible. Originaire du Mexique et d'Amérique du Sud, le papayer a prospéré après son introduction dans les pays d'Asie du Sud et du Sud-Est (545).

De nombreuses études ont découvert plusieurs activités des feuilles de *CP* liées à quelques métabolites identifiés tels que les acides aminés, les acides gras, les sucres et les acides organiques (546,547). Elles sont une source riche d' α -tocophérol, d'acide ascorbique, de flavonoïdes, de composés phénoliques, de glycosides cyanogènes et de glucosinolates (548). Une analyse des métabolites de l'extrait aqueux des feuilles de *CP* menée par Anjum *et al.* a montré un niveau élevé de flavonoïdes et de composés phénoliques (549). Les données ont montré que la teneur totale en flavonoïdes et la teneur en composés phénoliques étaient plus élevées par rapport à l'analyse précédente de Vuonga *et al.* (550). Les activités observées sont probablement liées aux terpènes, qui se sont révélés avoir une activité antibactérienne (551) et une activité antifongique (552). Une autre possibilité est la grande famille de composés phénoliques qui peuvent avoir une activité antioxydante (553–556), une activité antitumorale (554,557), une activité antivirale (553) ou une activité immunomodulatrice et antithrombocytopénique (549,558). L'activité anti-inflammatoire de *Carica papaya* décrite par Erlund *et al.* est liée à la quercétine, l'héspéritine et la naringénine présentes dans les feuilles de cette plante (559). De plus, une activité antimicrobienne a également été signalée, incluant trois espèces de *Candida* et des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (560,561). L'extrait de feuille de *CP* a récemment suscité un intérêt dans le traitement de la dengue, en particulier sur les réseaux sociaux, et a montré une prescription croissante hors AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) dans le traitement de la maladie (545). Or, les preuves cliniques actuelles sur les effets bénéfiques de l'extrait de feuille de *CP* dans le traitement de la dengue sont limitées et reposent sur quelques essais de qualité faible à modérée. Des améliorations du nombre de plaquettes et une réduction de la durée d'hospitalisation ont été démontrées. En revanche la présence de lacunes méthodologiques importantes dans de nombreuses études rend difficile la formulation de recommandations claires. L'utilisation systématique d'extrait de feuille de *CP* pour le traitement de la dengue ne peut pas être recommandée sur la base des données disponibles actuellement (545).

Comme nous venons de le décrire, l'action chimique et l'action mécanique vont permettre de lutter contre l'installation d'un microbiote orale dysbiotique et donc contre la MP. Comme le processus de la MP s'initie depuis l'EI et qu'un microbiote interdenteaire dysbiotique est observé chez le jeune adulte indemne de MP, nous avons donc ciblé notre recherche sur l'EI de jeunes adultes sains et nous avons étudié l'impact sur l'inflammation interdenteaire (i) de l'action chimique *via* l'utilisation d'un dentifrice/bain de bouche contenant de l'extrait de fleur de papayer et (ii) de l'action mécanique *via* l'utilisation de BIDs.

RESULTATS DES ETUDES CLINIQUES

1 Efficacité des brossettes interdentaires calibrées sur la réduction du saignement : Un essai contrôlé randomisé de 3 mois (ARTICLE 1)

L'article « Efficacy of interdental calibrated brushes on bleeding reduction in adults: a 3-month randomized controlled clinical trial » a été publié le 29 Septembre 2016 dans la revue *European Journal of Oral Sciences*.

L'objectif de cette étude randomisée en groupes parallèles en simple aveugle porte sur l'effet des BIDs dans la réduction des saignements interproximaux chez des adultes sans MP âgés de 18 à 25 ans.

Les 46 sujets inclus ont été randomisés en 2 groupes. Le premier groupe témoin se brossait les dents deux fois par jour de leur manière habituelle avec un dentifrice contenant du fluorure approuvé par l'Association Dentaire Américaine et une brosse à dents à brins souples, alors que le deuxième groupe test se brossait les dents deux fois par jour de leur manière habituelle, suivi d'un brossage interdENTAIRE une fois par jour, le soir, avec une BID calibrée à l'EI grâce à une sonde colorimétrique.

Lors de l'inclusion, aucune différence statistiquement significative entre les deux groupes concernant l'âge, le sexe, le risque de saignement au sondage parodontal et la consommation de tabac n'a été observée entre les deux groupes.

Afin d'examiner l'inflammation gingivale, le saignement interdENTAIRE a été évalué lors de l'inclusion (T0) puis à 1 semaine (T1), 1 mois (T2) et 3 mois (T3). Pour cela, une sonde colorimétrique calibrée a été utilisée dans tous les EIs pour déterminer la taille appropriée de la BID requise, ensuite la BID de la taille correspondante a été introduite (aller-retour) dans l'EI et la présence ou l'absence de saignement a été enregistrée 30 secondes après cette introduction (BOIB – Bleeding on Interdental Brushing).

À T0, le pourcentage de sites de saignement était de 34,8% dans le groupe témoin et de 35,9% dans le groupe test (P = 0,88). Durant la période T0 à T3, l'évolution du pourcentage de sites de saignement n'était pas significative dans le groupe témoin (34,8% à T0 et 37,6% à T3 ; P = 0,10). Dans le groupe test, la fréquence des sites de saignement est passée de 35,9% à T0 à 14,6% à T1, à 10,9% à T2 et à 10,4% à T3 (P = 0,008). La fraction préventive était de 46% à T1, 64% à T2 et 72% à T3. Une réduction plus importante des saignements a été observée dans les sites antérieurs par rapport aux sites postérieurs (80% contre 69%, respectivement).

Cette étude montre que l'utilisation quotidienne de BIDs calibrées réduit les saignements interdentaires chez les jeunes adultes. Ainsi, le nettoyage interdENTAIRE est un moyen efficace pour maintenir et / ou atteindre une santé bucco-dentaire optimale.

Efficacy of interdental calibrated brushes on bleeding reduction in adults: a 3-month randomized controlled clinical trial

Bourgeois D, Saliassi I, Llodra JC, Bravo M, Viennot S, Carrouel F. Efficacy of interdental calibrated brushes on bleeding reduction in adults: a 3-month randomized controlled clinical trial.

Eur J Oral Sci 2016; 00: 000–000. © 2016 Eur J Oral Sci

This study investigated the effect of interdental brushes on the reduction of interproximal bleeding in adults without periodontal disease. Forty-six adults were enrolled in a 3-month, observer-blinded, parallel-group randomized control trial. The test group used a standard manual toothbrush twice daily and an interdental brush daily. The control group used a standard manual toothbrush. At each visit, a calibrated colorimetric probe was used in all interdental spaces to determine the appropriate size of the interdental brush required, the brush of the corresponding size was introduced into the interproximal space, and the presence of bleeding was recorded. The outcome was the frequency of bleeding after application of the appropriate interdental brush. All participants were evaluated 1 wk, 1 month, and 3 months after the baseline visit. The overall preventive fraction with respect to bleeding frequency was 46% at 1 wk and 72% at 3 months. More bleeding reduction was observed in anterior sites than in posterior sites (80% vs. 69%, respectively). Participants with low baseline bleeding frequency presented with less bleeding (OR = 2.3). This study shows that daily use of calibrated interdental brushes reduces interdental bleeding. These findings may support interdental cleaning as an effective means to help individuals maintain and/or achieve optimal oral health.

**Denis Bourgeois^{1,*}, Ina Saliassi^{1,*},
Juan Carlos Llodra¹,
Manuel Bravo², Stéphane
Viennot^{1,*}, Florence Carrouel^{3,*}**

¹Laboratory 'Course, Health and Systemic', EA4129, University Lyon 1, Lyon, France; ²Department of Preventive and Community Health, Faculty of Dental Medicine, University of Granada, Granada, Spain; ³Institute of Functional Genomics of Lyon, UMR5242, ENS Lyon, University Lyon 1, Lyon, France

*These authors contributed equally to this work.

Denis Bourgeois, Laboratory 'Course, Health and Systemic', EA4129, University Lyon 1, 11 rue Paradin, 69372 F. Lyon, France

E-mail: denis.bourgeois@univ-lyon1.fr

Key words: gingival bleeding; interdental biofilm; interdental brushes; oral prophylaxis

Accepted for publication August 2016

Disruption of the oral biofilm in interproximal sites by mechanical methods remains one of the best options for preventing periodontal disease (1). Well-designed randomized control trials (RCTs) are required to provide evidence supporting the clinical practice of the new hypothesis that interdental cleaning should become an established part of daily oral hygiene for the reduction of interproximal plaque in all populations. Originally, dental professionals recommended that patients with large embrasure spaces between their teeth should use interdental brushes (IDBs) (2, 3), mainly to prevent periodontal destruction. However, with the availability of a greater range of IDBs calibrated in size and cross-sectional diameter, IDBs have become a potentially suitable alternative to dental floss for healthy patients who have interdental papillae that fill the interdental space (4, 5).

Oral hygiene instruction (OHI), which includes instruction in toothbrushing and interdental cleaning, is effective in disturbing oral biofilm and preventing periodontal diseases, such as gingivitis and periodontitis

(6). Studies have evaluated the effect of OHI on clinical and immunological parameters and on the microbiological profiles of periodontal maintenance participants, but no studies have evaluated its role in the management of gingivitis (7). It is unclear whether the daily use of IDBs is effective (3) because only low-quality evidence for IDB-related gingivitis reduction exists. The effectiveness of interdental/interspace brushes in addition to standard toothbrushes is not supported by clinical investigations. However, there are conflicting study results regarding the efficacy of IDBs in reducing the clinical parameters of gingival inflammation (8). There is also a lack of consensus regarding whether IDBs are only suitable for patients with moderate to severe attachment loss and open embrasures or are also a suitable aid for preventing gingivitis in healthy patients who have sufficient interdental space to accommodate them (9, 10).

The purpose of this study was to determine whether mechanical cleaning with IDBs, combined with the use of a manual toothbrush, is more effective than

mechanical cleaning with a manual toothbrush alone in reducing interproximal bleeding in the gums of adults with gingivitis.

The study hypothesis was that the IDB is an effective alternative for reducing bleeding in the gums of individuals with gingivitis, allowing them to maintain and/or achieve optimal oral health and encouraging daily home use of IDBs.

Material and methods

The guidelines of the CONSORT Statement were followed in this clinical trial (11). The protocol was declared of public interest by the National Ethics Committee and was approved by the National Commission of Informatics and Liberties, France. It was performed in accordance with the Code of Ethics established by the Declaration of Helsinki. The study was performed according to the guidelines of Good Clinical Practice. Before participation, all participants received full oral and written information on the study aims and signed a written consent form.

The workflow design, summarized in Fig. 1, was a 3-month, observer-blinded, single-centre, stratified, parallel-group, RCT with patients allocated (1:1) to the following two groups: test group (manual toothbrush and interdental calibrated brushes); and control group (manual toothbrush).

Forty-six Caucasian adults, diagnosed as periodontally healthy, were recruited between September 2014 and December 2014 from a pool of first-time volunteers who were referred to the Department of Public Health of the Faculty of Oral Medicine at the University of Lyon (UCBL), France. Participants were included if they: (i) were 18–25 yr of age; (ii) had at least 20 natural recordable teeth, including third molars; (iii) had no signs of clinical periodontitis; (iv) had no significant dental anomalies or prosthetic restorations or interproximal caries;

(v) reported brushing teeth at least twice per day; (vi) had no health condition that required antibiotic prophylaxis before interproximal probing; (vii) had IDB dexterity; and (viii) lacked experience with interdental cleaning and were willing to undergo four study visits.

Exclusion criteria comprised: (i) teeth missing as a result of periodontal disease; (ii) any other concomitant systemic disorder; (iii) diseases affecting the immune system; (iv) receiving medication, such as anti-platelet or anti-coagulant agents; (v) pregnancy or breastfeeding; (vi) professional prophylaxis within 4 wk before the baseline examination; (vii) history of periodontal disease or treatment; (viii) use of over-the-counter mouthwash; and/or (ix) undergoing a course of dental or orthodontic treatment. The use of antibiotics during the study period led to exclusion.

All participants met the criteria described by the American Academy of Periodontology (12), with some modifications (13). The healthy participants presented $\leq 10\%$ of sites with bleeding on probing (BOP) after 30 s and/or overt gingival redness, and had no pocket depth of >3 mm and no clinical attachment loss of >2 mm.

Procedure

Calculation of sample size (sites) was performed using Sample Power 2.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). In the absence of exact values provided by theory or experience in this specific area, the *t*-test for independent groups was used to detect a power of 80% and 5% alpha error for an estimated Cohen's *d* of 0.5 – a medium effect size according to Cohen's scale (14) – in bleeding after IDB use. We needed 128 a-priori sites (64 test and 64 control). After considering a design effect (owing to sites being clustered within participants) of 5.0 (estimated from 20 pilot participants from this study) in estimating the bleeding percentage, the sample size increased to 640 sites ($=128 \times 5$). Furthermore, after considering an estimated 70% of the sites available for analysis (i.e. 30% would be excluded owing to lack of space to introduce the IDB, the presence of diastema or the lack of teeth), the sample size increases to 914 sites ($=640/0.70$). Considering 30 sites per participant, this results in a minimum sample size of 31 participants (i.e. approximately 16 participants per group).

To achieve the same sample size in both groups and simultaneously satisfy the randomization procedure to achieve balanced groups with respect to the most relevant variables (sex and baseline bleeding), a stratified (two levels for sex and two levels for baseline bleeding) block randomization (computer-assisted) method was used. Baseline bleeding was defined as the percentage of bleeding sites, per participant, as follows: a high level of bleeding if the participant had $\geq 30\%$ bleeding sites; and a low level of bleeding if the participant had $<30\%$ bleeding sites. Each participant was identified using a code. An allocation schedule was generated by computer by an independent assistant not involved in the study.

At baseline, the prescreened participants referred to the clinic for baseline examinations (gingivitis, periodontal conditions, and bleeding) had refrained from oral hygiene for at least 8 h but no more than 18 h. A colorimetric probe (IAP Curaprox; Curaden, Kriens, Switzerland) was used to evaluate the diameter of the interproximal spaces, except those between the second and third molars (15), in order to determine the appropriate size of the IDB for each site. After the baseline oral examinations and

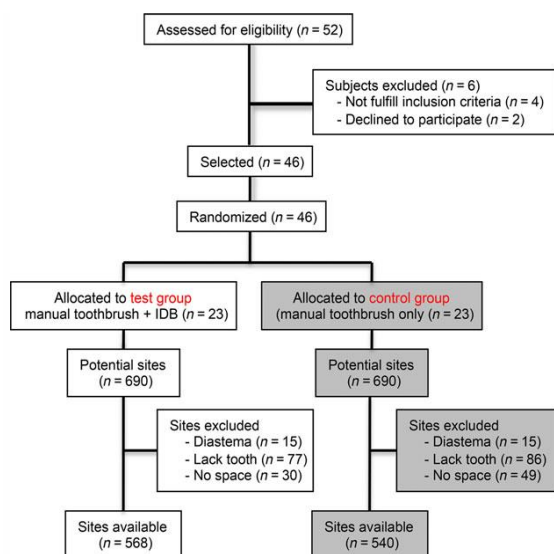


Fig. 1. Flow chart of the study design. IDB, interdental brush.

assessments of other inclusion/exclusion criteria, qualifying participants were randomly assigned to one of two groups. Participants randomized to the control group brushed twice daily in their usual manner with an American Dental Association (ADA)-approved fluoride toothpaste and a soft-bristle toothbrush. Participants randomized to the active treatment group brushed twice daily in their usual manner, followed by interdental brushing once daily in the evening with their IDB formulation determined during the baseline examination with the colorimetric probe.

Participants in the test group received a manual soft-bristle toothbrush, an ADA-approved fluoride-containing dentifrice, and a pack of IDBs of different sizes (Curaprox CPS; Curaden). The first use of the product was conducted under the supervision of study personnel, following instruction of IDB use by a qualified public health professor. The instruction comprised verbal instructions on interdental brushing supported by practical demonstration on a plastic model. No further oral-hygiene instructions were provided. All other brushings were unsupervised, and the participants were required to maintain a diary card. Participants were instructed to mark the box corresponding to the current date on the diary card every evening after performing their interdental brushing to ensure that brushing was performed every day. Participants in the control group received an ADA-approved fluoride-containing dentifrice and a soft-bristle toothbrush at their baseline visit. No other oral-hygiene procedures were permitted, including teeth cleaning and dental procedures. At baseline (T0), and at 1-wk (T1), 1-month (± 2 d) (T2), and 3-month (T3) visits, participants had brushed or used their IDBs at least 8 h previously but no more than 18 h previously. Two examiners collected the data at T0, T1, T2, and T3, and were blinded to the participant group allocation, which was assigned by an assistant not involved in the examination.

All participants were instructed in the modified Bass technique and were instructed to use a manual, compact-tuft, soft-bristle toothbrush, twice a day. Participants in the test group were instructed with the appropriate IDB sizes determined at baseline and to introduce the calibrated IDBs once per day using different sizes for different sites.

At each visit during the evaluation period, the colorimetric probe was used in all interdental spaces for all participants in both groups. The procedure consists of introducing the colorimetric probe into the vestibular interdental space, inserting it fully, and then noting the colour that appears in the interdental space on the vestibular side. This colour corresponds to the colour of the IDB that is most suitable for the space in question. The probing protocol was always the same, starting in the 16–17 interdental space and finishing in the 46–47 interdental space. Information concerning the IDB diameter for each interdental space was recorded in a chart, and a copy was given to the participant. After horizontal probing, the corresponding brush was introduced into the interproximal space, and the presence of bleeding was observed. The pressure applied by a horizontal brush in the interdental area should be firm and continuous until reaching maximum compression with minimal discomfort to the patient. A visual analogue scale (VAS) was used to estimate the correlation between the patient's discomfort perception and the interproximal pressure (0 = no pain, 10 = unbearable pain) (16). The pressure used to place the IDB was approximately 50–100 N cm⁻² (0.20–0.40 gram-force), and 80% of participants were assigned a VAS score of ≤ 1 .

The IDBs used are from the CPS range of Curaprox (Curaden) products. This pack comprises five cylindrical IDBs with the following characteristics: a colour code related to the size of the brush; an access diameter defined by the gauge of the Cural (Curaden) wire core used to stiffen the IDB; and an effective cleaning diameter defined by the length of the synthetic bristles covering the working part of the device.

Two experienced examiners with graduate training in periodontics were trained beforehand in the use of the IAP Curaprox colorimetric probe (Curaden) and had obtained a minimum kappa value of 0.82 compared with the gold standard examiner (excellent agreement according to the LANDIS & KOCH scale (17)). These examiners were trained in the use of the CPS Curaprox IDBs in a single cleaning movement, comprising three stages: (i) place an IDB at the point where the interdental gap begins, tilt the tip at an angle to the centreline of the teeth, and push it in gently at the correct angle as far as the centre of the teeth; (ii) without putting any more pressure on the brush, hold the handle at 90° to the teeth; and (iii) push the brush through with care and then pull it out. The VAS was used (16). Examiners were blinded to each other, and the two observations were collected at an interval of at least 15 min. The kappa statistic for the reproducibility of the pressure was 0.76 (95% CI: 0.14–1.38; $P = 0.02$).

Measures

The Bleeding on Interdental Brushing Index (BOIB) was recorded, as was the bleeding response to the horizontal pressure applied in the interdental area by a calibrated IDB (18). After 30 s, bleeding at each gingival unit was recorded according to the following scale: 0, absence of bleeding after 30 s; and 1, bleeding after 30 s (19).

Statistical analysis

SPSS Windows 20.0 (IBM, Chicago, IL, USA) was used for the descriptive statistics (mean values with SD and percentages) and for the analytical statistics (P -value calculation) in those analyses in which the patient was the unit of analysis. SUDAAN 7.5 (RTI International, Research Triangle Park, NC, USA) was used for the analytical statistics (P -value calculation) in those analyses in which the interproximal site was the unit of analysis to adjust for clustering (multiple sites within the patients). The output variable is the interproximal bleeding after IDB use at the interproximal site level. The statistical methods are indicated in the Table footnotes.

Results

All 46 randomized participants completed the study. The baseline characteristics of the intervention and control groups are presented in Table 1. The groups were broadly similar in terms of the principal variables at baseline, suggesting a high level of homogeneity between these two groups.

Table 2 shows the evolution of bleeding during the trial period. At T0, the percentage of bleeding sites was 34.8% in the control group and 35.9% in the test

group ($P = 0.88$). During T0–T3, the evolution of the percentage of bleeding sites was not significant in the control group (34.8% at T0 and 37.6% at T3;

$P = 0.10$). In the test group, the frequency of bleeding sites decreased from 35.9% at T0 to 14.6% at T1, to 10.9% at T2, and to 10.4% at T3 ($P = 0.008$). The preventive fraction (PF) was 46% at T1, 64% at T2, and 72% at T3.

Table 1

Baseline characteristics of trial participants according to study groups ($n = 46$)

Variable	Control ($n = 23$)	Test ($n = 23$)	P
Sex			
Male	16 (69.6)	14 (60.9)	0.757*
Female	7 (30.4)	9 (39.1)	
Age (yrs)	22.8 ± 3.8	22.0 ± 1.8	0.409†
Bleeding risk‡			
High	12 (52.2)	10 (43.5)	0.768*
Low	11 (47.8)	13 (56.5)	
Smoker			
Yes	8 (34.8)	4 (17.4)	0.314*
No	15 (65.2)	19 (82.6)	

Values are given as n (%) or mean ± SD.

*Chi-square, with Yates' correction.

†Student's t -test.

‡High if ≥30% bleeding sites, and low if <30% bleeding sites.

Analysis of the PF according to localization (anterior sites or posterior sites) showed better effectiveness results for anterior sites. The PF values in anterior sites were 80% and 69% in the posterior sites at 3 months.

Table 3 shows the results of multilevel logistic regression analysis of the associations between candidate predictor variables and the presence of bleeding in a site after 3 months of interdental brushing. The OR for the presence of bleeding in the control group was 4.3. The interdental brushing had poorer results in participants with high baseline bleeding than in participants with low baseline bleeding (OR = 2.3). The odds of bleeding were higher in posterior sites than in anterior sites (OR = 2.2). Finally, we found an inverse relationship between the diameter of the IDB and the presence of bleeding: a larger diameter was associated with a smaller amount of bleeding.

Table 2

Bleeding frequency, according to study time point, for sites (in anterior and posterior regions) in participants in test ($n = 23$) and control ($n = 23$) groups

Zone and study time point	Control		Test		Comparison (P)‡	% Difference§ (effectiveness) (95% CI)¶
	n (sites)*	% ± SE†	n (sites)	% ± SE		
Anterior						
T0 (Baseline)	170	28.2 ± 6.2	188	28.7 ± 6.4	0.956	
T1 (+1 wk from T0)	170	17.6 ± 6.1	188	10.6 ± 3.8	0.335	
T2 (+1 month from T0)	170	28.8 ± 6.4	188	8.0 ± 3.0	0.005	72 (48–96)
T3 (+3 months from T0)	170	29.4 ± 6.4	188	5.9 ± 2.9	0.001	80 (59–100)
Global P ‡		0.057		0.019		
Pairwise comparison**				T0 ≠ T1, T2, T3		
Posterior						
T0 (Baseline)	370	37.8 ± 4.9	380	39.5 ± 6.5	0.841	
T1 (+1 wk from T0)	370	31.1 ± 4.7	380	16.6 ± 4.2	0.026	47 (15–78)
T2 (+1 month from T0)	370	30.8 ± 4.8	380	12.4 ± 3.0	0.002	60 (37–83)
T3 (+3 months from T0)	370	41.4 ± 6.2	380	12.6 ± 5.3	0.001	69 (43–96)
Global P		0.227		0.007		
Pairwise comparison				T0 ≠ T1, T2, T3		
Anterior + Posterior						
T0 (Baseline)	540	34.8 ± 4.5	568	35.9 ± 6.2	0.886	
T1 (+1 wk from T0)	540	26.9 ± 4.1	568	14.6 ± 3.6	0.028	46 (15–76)
T2 (+1 month from T0)	540	30.2 ± 4.7	568	10.9 ± 2.5	<0.001	64 (44–84)
T3 (+3 months from T0)	540	37.6 ± 5.8	568	10.4 ± 4.2	<0.001	72 (49–96)
Global P		0.102		0.008		
Pairwise comparison				T0 ≠ T1, T2, T3		

*Effective sample size for each estimation. For example, the first number value ($n = 170$) is obtained from the following calculation: 23 control patients × 10 anterior sites/patient = 230 sites, minus sites with diastemas ($n = 12$), lack of tooth ($n = 7$) or with no space to introduce the interproximal brush along the follow-up ($n = 41$), gives effective sample = 170 sites (=230 minus 12 minus 7 minus 41).

†Standard errors (SEs) corrected for complex sampling (multiple sites within the mouth), using the DESCRIPT procedure in SUDAAN 7.0.

‡Values of P corrected for complex sampling (multiple sites within the mouth), using chi-square analysis (CROSSTAB procedure in SUDAAN 7.0).

§Per cent difference between control (C) and test (T) subjects = $\{[(\%C - \%T)/\%C] \times 100\}$.

¶95% CI = % ± 1.96 SE, where the standard error (SE) is calculated, after correction for multiple sites within the mouth (using the DESCRIPT procedure in SUDAAN 7.0), according to DUBEY *et al.* (14).

**When the global P -value is significant, paired comparisons were performed using chi-square analysis, corrected for complex sampling; the symbol '≠' indicates significantly ($P < 0.05$) different groups.

Table 3
Multivariate associations* between studied variables and bleeding at 3 months after interproximal brushing (n = 1,108[†] sites from 46 subjects)

Variable	n	OR (95% CI)	P
Participant-level variables			
Group			
Control (no interproximal brushing)	540	4.3 (1.6–12.1)	0.006
Test (interproximal brushing)	568	1	
Baseline bleeding risk			
High	526	2.3 (0.9–5.5)	0.065
Low	582	1	
Site-level variables			
Zone			
Posterior	750	2.2 (1.5–3.3)	<0.001
Anterior	358	1	
Interproximal brush at 3 months			
5 (1.1 mm)	112	0.0 (0.0–0.2)	0.005
4 (0.9 mm)	159	0.1 (0.0–0.5)	
3 (0.8 mm)	251	0.5 (0.3–1.1)	
2 (0.7 mm)	405	0.6 (0.3–1.0)	
1 (0.6 mm)	181	1	

*Backward stepwise based on statistical significance ($P > 0.15$ to exclude a variable). Initial variables included also age, sex, and smoking status. Values of P and 95% CI were calculated using LOGISTIC PROC in SUDAAN 7.0, to account for clustering (multiple sites within patients).

[†]These data refer to 46 patients \times 30 sites/patient = 1,380 sites; sites were excluded owing to presence of diasthema ($n = 21$), lack of tooth ($n = 163$), or lack of space to introduce the interproximal brush during the follow up ($n = 80$); thus, available sites for this table = 1,167.

Discussion

To the best of our knowledge, the present study is the first randomized clinical trial based on the CONSORT statement (11, 20) that describes the efficiency of interdental calibrated brushes on interproximal bleeding in healthy periodontal adults.

The first objective of our study was to examine whether CPS interdental calibrated brushes are effective in reducing the frequency of interproximal bleeding when used with regular toothbrushing. A potential limitation of this study was the absence of a group using dental floss or other IDBs. In the literature, the quality of the only published study comparing toothbrushing plus interdental brushing with toothbrushing alone is considered low (3). Only one study, which had a high risk of bias, has compared interdental brushing and toothbrushing with toothbrushing alone (21). There is no agreed-upon scientific method for choosing IDBs (5). The so-called reference technique is the empirical subjective method in everyday use. This technique consists of testing the various IDBs in order of increasing diameter. The use of colorimetric probes and interdental brushing in our study was more beneficial than interdental brushing alone and can be considered a new technique for increasing the concordance between the empirical choice of IDBs of different diameters and the gold standard (5).

This explanatory randomized control study provide information on whether the intervention is effective under optimal conditions, including strict eligibility criteria, compliant subjects, maximum monitoring of practitioner adherence to the study protocol, and formal follow-up visits (22). With respect to such criteria, volunteers of the Faculty of Oral Medicine University differ from many other groups in society in a number of ways, which has implications for the generalizability of the results (external validity). However, the quality of the results in an explanatory approach is not affected.

Regarding the sampling method, there are several important points to consider. First, the analysis is performed on all interdental sites using the SUDAAN program, which allows for adjustment of the P -values and standard errors from clustering (i.e. multiple sites within the mouth). Second, to achieve correct randomization in the two groups, balanced selection was used in terms of sex and baseline bleeding, as described in the Material and Methods. Therefore, the allocation has been made without any bias. Bleeding on IBD pressure was used as the dependent variable. According to LORENZ *et al.*, there is no doubt that indices containing a bleeding component can successfully be used in clinical trials (23). However, the reproducibility of the diagnosis of bleeding has been widely discussed in the literature (24). The force applied to the IDB, the angle of insertion, and the experience of the examiner are cited as factors of misdiagnosis. The bleeding index can also be influenced by the initial oral hygiene standard of the participants (25). Therefore, participants were stratified according to the baseline levels of bleeding to ensure equal distribution.

The internal validity of the study was guaranteed using a calibration process. The two examiners who participated in data collection were previously trained in a calibration workshop. The same examiners had participated in a previous study using a similar protocol. The blinding of the examiners was guaranteed throughout the study. None of the participants in either group dropped out of the study, which was certainly because of the specific characteristics of the sample.

An interesting issue is the association of bleeding with the need for periodontal care in the medium and long term. Gingivitis is a reversible condition associated with bacterial biofilms; it generally resolves clinically within approximately 1 wk after the reinstatement of oral-hygiene procedures (26). It could be easily argued that the natural occurrence of gingival inflammation describes a condition whose characteristics are normally distributed in the population (27). The reduction of gingivitis in the general population results in more than merely cosmetic improvement following the reduction of gingival bleeding. However, there is overwhelming evidence that gingivitis is linked to periodontitis, and the elimination of gingivitis will result in the reduction of attachment loss in the majority of the population (28).

Adherence to daily dental flossing is low among patients because it requires a certain degree of dexterity

and motivation (29); patients prefer IDBs because they are easier to use (4, 30). Furthermore, when compared with dental floss, IDBs are thought to be more effective for plaque removal because the bristles fill the embrasure and are able to clean the invaginated areas on the tooth and root surfaces (9). In addition, dental floss does not reach the anatomical concavities of the proximal surfaces of premolars and molars, which renders the flossing effort incomplete (31).

Our findings suggest a positive impact of the use of IDBs in reducing interproximal bleeding of periodontally healthy young participants. From week 1, the observed reduction was 47% compared with the control. At 3 months, bleeding was reduced by 71%. No undesired side effects from using IDBs were observed over the 3-month study period. These findings need to be confirmed over a longer time period and the intervention should be compared, in clinical trials, with other methods of interdental brushing, such as dental floss and dental sticks of different kinds.

The study findings offer evidence of the effectiveness of a programme for reducing bleeding through daily IDB use in young adults. The attendance rate for the intervention sessions was high because the participants were from the Faculty of Oral Medicine. While these results may support the feasibility of a population approach to promoting dental health through interdental brushing coaching programmes, it is still necessary to evaluate the effectiveness of the procedure in real-life conditions.

Conflict of interest – The authors declare that they have no conflicts of interest related to this study.

References

- CHANDKI R, BANTHIA P, BANTHIA R. Biofilms: a microbial home. *J Indian Soc Periodontol* 2011; **15**: 111–114.
- SLOT DE, DÖRFFER CE, VAN DER WEIJDEN GA. The efficacy of interdental brushes on plaque and parameters of periodontal inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg* 2008; **6**: 253–264.
- POKLEPOVIC T, WORTHINGTON HV, JOHNSON TM, SAMBUNGAK D, IMAI P, CLARKSON JE, TUGWELL P. Interdental brushing for the prevention and control of periodontal diseases and dental caries in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; **12**: CD009857.
- IMAI PH, HATZIMANOLAKIS PC. Encouraging client compliance for interdental care with the interdental brush: the client's perspective. *Can J Dent Hyg* 2010; **44**: 56–60.
- BOURGEAIS D, CARROUEL F, LLODRA JC, BRAVO M, VIENNOT S. A colorimetric interdental probe as a standard method to evaluate interdental efficiency of interdental brush. *Open Dent J* 2015; **9**: 431–437.
- CLAYDON NC. Current concepts in tooth brushing and interdental cleaning. *Periodontol 2000* 2008; **48**: 10–22.
- KNÖFLER GU, PURSCHWITZ RE, EICK S, PFISTER W, ROEDEL M, JENTSCH HF. Microbiologic findings 1 year after partial- and full-mouth scaling in the treatment of moderate chronic periodontitis. *Quintessence Int* 2012; **43**: e23–e31.
- NOORLIN I, WATTS TL. A comparison of the efficacy and ease of use of dental floss and interproximal brushes in a randomized split mouth trial incorporating an assessment of subgingival plaque. *Oral Health Prev Dent* 2007; **5**: 13–18.
- IMAI PH, HATZIMANOLAKIS PC. Interdental brush in type I embrasures: examiner blinded randomized clinical trial of bleeding and plaque efficacy. *Can J Dent Hyg* 2011; **45**: 13–20.
- BERCHIER CE, SLOT DE, HAPS S, VAN DER WEIJDEN GA. The efficacy of dental floss in addition to a toothbrush on plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg* 2008; **6**: 265–279.
- MOHER D, SCHULZ KF, ALTMAN DG. The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel group randomized trials. *BMC Med Res Methodol* 2001; **1**: 2.
- ARMITAGE GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999; **4**: 1–6.
- DA SILVA-BOGHOSSIAN CM, DO SOUTO RM, LUIZ RR, COLOMBO AP. Association of red complex, A. actinomycetemcomitans and non-oral bacteria with periodontal diseases. *Arch Oral Biol* 2011; **56**: 899–906.
- DUBEY SO, LEHNHOFF RW, RADIKE AW. A statistical confidence interval for true percent reduction in caries incidence studies. *J Dent Res* 1965; **44**: 921–923.
- PALMER RM, WILSON RF, HASAN AS, SCOTT DA. Mechanisms of action of environmental factors—tobacco smoking. *J Clin Periodontol* 2005; **32**(Suppl 6): 180–195.
- CHECCHI L, MONTEVECCHI M, MARUCCI G, CHECCHI V. A proposed new index for clinical evaluation of interproximal soft tissues: the interdental pressure index. *Int J Dent* 2014; **114**: 345075.
- LANDIS JR, KOCH GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; **33**: 159–174.
- CATON JG, POLSON AM. The interdental bleeding index: a simplified procedure for monitoring gingival health. *Compend Contin Educ Dent* 1985; **6**: 88–92.
- HOFER D, SAHRMANN P, ATTIN T, SCHMIDLIN PR. Comparison of marginal bleeding using a periodontal probe or an interdental brush as indicators of gingivitis. *Int J Dent Hyg* 2011; **9**: 211–215.
- GEMINIANI A, ERCOLI C, FENG C, CATON JG. Bibliometrics study on authorship trends in periodontal literature from 1995 to 2010. *J Periodontol* 2014; **85**: e136–e143.
- JARED H, ZHONG Y, ROWE M, EBISUTANI K, TANAKA T, TAKASE N. Clinical trial of a novel interdental brush cleaning system. *J Clin Dent* 2005; **16**: 47–52.
- CHAN AW, TETZLAFF JM, GOTZSCHE PC, ALTMAN DG, MANN H, BERLIN JA, DICKERSIN K, HRÓBJARTSSON A, SCHULZ KF, PARULEKAR WR, KRLEZA-JERIC K, LAUPACIS A, MOHER D. SPIRIT 2013 explanation and elaboration: guidance for protocols of clinical trials. *BMJ* 2013; **346**: e7586.
- LORENZ K, BRUHN G, NETUSCHIL L, HEUMANN C, HOFFMANN T. How to select study designs and parameters to investigate the effect of mouthrinses? Part I: rationale and background. *J Physiol Pharmacol* 2009; **60**(Suppl 8): 77–83.
- LEROY R, EATON K, SAVAGE A. Methodological issues in epidemiological studies of periodontitis—how can it be improved? *BMC Oral Health* 2010; **10**: 1–8.
- KOSSACK C, JOST-BRINKMANN PG. Plaque and gingivitis reduction in patients undergoing orthodontic treatment with fixed appliances—comparison of toothbrushes and interdental cleaning aids. A 6-month clinical single-blind trial. *J Orofac Orthop* 2005; **66**: 20–38.
- PIHLSTROM BL, MICHALOWICZ BS, JOHNSON NW. Periodontal diseases. *Lancet* 2005; **366**: 1809–1820.
- MARIOTTI A, HEFTI AF. Defining periodontal health. *BMC Oral Health* 2015; **15**(Suppl 1): S6.
- ROBINSON PJ. Gingivitis: a prelude to periodontitis? *J Clin Dent* 1995; **6**(Spec issue): 41–45.
- ASADOORIAN J, LOCKER D. The impact of quality assurance programming: a comparison of two Canadian dental hygienist programs. *J Dent Educ* 2006; **70**: 965–971.
- CHRISTOU V, TIMMERMAN MF, VAN DER VELDEN U, VAN DER WEIJDEN FA. Comparison of different approaches of interdental oral hygiene: interdental brushes versus dental floss. *J Periodontol* 1998; **69**: 759–764.
- JACKSON MA, KELLETT M, WORTHINGTON HV, CLEREHUGH V. Comparison of interdental cleaning methods: a randomized controlled trial. *J Periodontol* 2006; **77**: 1421–1429.

2 Effet d'un dentifrice/bain de bouche contenant de l'extrait de feuille de papayer sur le saignement gingival interdentaire : Un essai contrôlé randomisé (ARTICLE 2)

L'article « Effect of a Toothpaste/Mouthwash Containing *Carica papaya* Leaf Extract on Interdental Gingival Bleeding: A Randomized Controlled Trial » a été accepté le 23 Novembre 2018 dans la revue International Journal of Environmental Research and Public Health.

L'objectif de cette étude était de déterminer les effets anti-inflammatoires de l'extrait de feuille de *Carica papaya* (CPLE) sur le saignement interdentaire chez des sujets sains âgés de 18 à 26 ans.

Les 100 sujets inclus dans cette étude ont été randomisés en quatre groupes de 25 personnes chacun. Le premier groupe (G) a utilisé un dentifrice à base d'extrait de feuille de papayer, le deuxième (Z) a utilisé un dentifrice contenant un système de 3 enzymes (amyloglucosylase, glucose oxydase, lactoperoxydase), le troisième groupe (G+M) a utilisé un dentifrice et un bain de bouche à base d'extrait de feuille de papayer et le quatrième groupe (Z+L) a utilisé le dentifrice contenant le système tri-enzymatique et un bain de bouche aux huiles essentielles. Chaque sujet inclus devait se brosser les dents 2 fois par jour pendant 2 minutes (groupes 1 à 4) et faire un bain de bouche en complément (groupes 3 et 4 uniquement) et ce, pendant 4 semaines.

Lors de l'inclusion, aucune différence statistiquement significative en ce qui concerne leur âge (âge moyen de $23,2 \pm 3,0$ ans), leur sexe et leurs paramètres cliniques n'a été observée entre les groupes. Les quatre groupes présentaient une bonne hygiène orale avec des indices de plaques moyens de $0,82 \pm 0,19$ pour le groupe G, de $0,90 \pm 0,21$ pour le groupe Z, de $0,87 \pm 0,19$ pour le groupe G+M et de $0,76 \pm 0,30$ pour le groupe Z+L. Les valeurs moyennes de perte d'attache clinique (en mm) étaient de $1,45 \pm 0,20$, $1,37 \pm 0,24$, $1,60 \pm 0,32$ et $1,54 \pm 0,38$ ($p > 0,05$), respectivement pour les groupes G, Z, G+M, Z+L.

Afin d'évaluer l'inflammation gingivale interdentaire, le saignement interdentaire (BOIB - Bleeding On Interdental Brushing) a été évalué lors de l'inclusion (T0) puis à 1 semaine (T1), 2 semaines (T2), 3 semaines (T3) et 4 semaines (T4). Pour cela, une BID calibrée a été introduite dans l'EI puis retirée et la présence ou l'absence de saignement a été observée après 30 secondes. En parallèle, l'indice de plaque a aussi été évalué en utilisant une échelle standard appelée la modification Turesky du Quigley Hein. Sur les 2600 sites interdentaires *a priori* disponibles (100 sujets \times 26 sites interproximaux/sujets), 13 ont été exclus en raison du manque d'espace pour introduire une BID, 28 à cause de dents manquantes et 286 en raison d'un diastème, laissant un total de 2273 interdentaires sites disponibles à analyser.

Les analyses ont comparé le BOIB entre les groupes et ont ensuite été limitées aux participants avec $\geq 70\%$ et ensuite $\geq 80\%$ des sites de saignement à T0. Des comparaisons par paires entre les groupes ont été effectuées à T0 et T4, et une régression logistique a identifié des corrélats de saignement gingival (T4). Parmi 100 sujets (2273 sites interdentaires), le pourcentage médian de sites de saignement par participant à T0 était de 65%. Les sites de saignement ont considérablement diminué dans tous les groupes entre T0 et T4 (variations relatives de -54% à -75% , $p < 0,01$ pour tous). Les saignements gingivaux ne différaient pas significativement entre le groupe G et le groupe Z +/- L (de $p = 0,05$ à $p = 0,86$), quel que soit le niveau de risque de base. Parmi les utilisateurs de dentifrice G, moins de sites de saignement ont été observés lorsque le dentifrice et le bain de bouche étaient combinés par rapport aux sites de saignement chez ceux qui utilisaient uniquement le dentifrice (21% contre 32%, $p = 0,04$).

Nos résultats ont des implications cliniques. Le dentifrice et le bain de bouche contenant de l'extrait de feuille de papayer constituent une alternative efficace au dentifrice contenant le complexe tri-enzymatique avec ou sans bain de bouche aux huiles essentielles lorsqu'ils sont utilisés en complément des soins bucco-dentaires mécaniques. Les données suggèrent que le dentifrice contenant l'extrait de feuille de papayer a des avantages et une efficacité similaire à ceux du dentifrice contenant le complexe tri-enzymatique seul ou associé à un bain de bouche à base d'huiles essentielles concernant les saignements interdentaires. En outre, nos résultats indiquent que le bénéfice optimal du dentifrice contenant de l'extrait de feuille de papayer dans la réduction des saignements interdentaires se produit lorsqu'il est utilisé à la fois comme dentifrice et bain de bouche. Néanmoins, nos résultats nécessitent une confirmation dans une population moins sélectionnée ou chez des patients atteints de parodontite. Des recherches supplémentaires devraient être effectuées, en particulier sur les indications de l'utilisation à long terme et du maintien d'un microbiote oral sain.



Article

Effect of a Toothpaste/Mouthwash Containing *Carica papaya* Leaf Extract on Interdental Gingival Bleeding: A Randomized Controlled Trial

Ina Saliassi ¹, Juan Carlos Llodra ^{2,*}, Manuel Bravo ², Paul  Tramini ³, Claude Dussart ¹, Stéphane Viennot ¹ and Florence Carrouel ¹

¹ Laboratory “Systemic Health Care”, EA4129, University of Lyon, 69008 Lyon, France; inasaliassi@yahoo.com (I.S.); claude.dussart@univ-lyon1.fr (C.D.); stephane.viennot@univ-lyon1.fr (S.V.); florence.carrouel@univ-lyon1.fr (F.C.)

² Department of Preventive and Community Dentistry, Faculty of Odontology, University of Granada, 18010 Granada, Spain; mbravo@ugr.es

³ Department of Public Health, Faculty of Dental Medicine, University of Montpellier, 34090 Montpellier, France; paul.tramini@orange.fr

* Correspondence: juancarlosllodra@gmail.com; Tel.: +34-958240658

Received: 5 October 2018; Accepted: 23 November 2018; Published: 27 November 2018



Abstract: Clinical research on herbal-based dentifrice +/- mouth rinse products is very limited compared with the plethora of research on conventional oral care products under normal oral hygiene conditions. The aim of this study was to determine the anti-inflammatory effects of a novel plant *Carica papaya* leaf extract (CPLE) on interdental bleeding in healthy subjects. In this randomized, single-blind parallel-design study, the eligible subjects were generally healthy non-smokers, aged 18–26, who exhibited healthy periodontal conditions upon study entry. The participants were equally randomized into the following four groups: CPLE dentifrice, CPLE dentifrice and mouthwash, sodium lauryl sulfate (SLS)-free enzyme-containing dentifrice and SLS-free enzyme-containing dentifrice with essential oil (EO) mouthwash. Subjects were instructed to brush their teeth twice a day without changing their other brushing habits. Interdental bleeding (BOIP) was measured from inclusion (T₀) until the fourth week (T₄) of the study. Clinical efficacy was assessed after one, two, three and four weeks of home use. The analyses compared BOIP between groups and were then restricted to participants with $\geq 70\%$ and then $\geq 80\%$ bleeding sites at T₀. Pairwise comparisons between groups were performed at T₀ and T₄, and a logistic regression identified correlates of gingival bleeding (T₄). Among 100 subjects (2273 interdental sites), the median percentage of bleeding sites per participant at T₀ was 65%. The bleeding sites dramatically decreased in all groups between T₀ and T₄ (relative variations from -54% to -75% , $p < 0.01$ for all). Gingival bleeding did not significantly differ between the CPLE dentifrice and the SLS-free dentifrice +/- EO mouthwash groups (from $p = 0.05$ to $p = 0.86$), regardless of the baseline risk level. Among the CPLE dentifrice users, fewer bleeding sites were observed when toothpaste and mouthwash were combined compared to bleeding sites in those who used toothpaste alone (21% vs. 32%, $p = 0.04$). CPLE dentifrice/mouthwash provides an efficacious and natural alternative to SLS-free dentifrice +/- EO-containing mouthwash when used as an adjunct to mechanical oral care to reduce interdental gingival inflammation.

Keywords: biofilm; anti-inflammatory; *Carica papaya*; interdental bleeding; natural dentifrice; sodium lauryl sulfate free dentifrice; mouthwash; essential oils

1. Introduction

The self-realized mechanical disruption of biofilm with tooth brushing and interdental tooth brushing is the best prevention method currently to prevent and reduce gingival inflammation [1]. This mechanical action is insufficient without the use of chemical products as dentifrices. Chemical agents, such as triclosan, sodium lauryl sulfate (SLS), and propylparaben, and allergens such as methylisothiazolinone and methylchloroisothiazolinone, as well as chlorhexidine, have been added to dentifrices to reinforce their antibacterial action. These products can pose a human health risk [2–5]. Some of these substances show undesirable side effects, such as altered taste and tooth staining, and doubts persist regarding detrimental impacts on endocrine function, notably, fertility [6,7]. Some manufacturers have moved away from SLS, chlorhexidine and triclosan and introduced other, less irritating surfactants such as non-ionic polyethylene glycol ethers of stearic acid [8,9]. Likewise, enzyme-containing dentifrices, such as Zendium[®], Enzycal[®], and Jason Powersmile Toothpaste[®], which are free of SLS, chlorhexidine and triclosan, have also been developed as alternatives to dentifrice chemotherapeutic agents. Antimicrobial agents present in dentifrices cannot effectively penetrate hard-to-reach areas in the oral cavity, resulting in biofilm-dwelling bacteria accumulation in the interdental spaces [10,11]. In this sense, mouthwashes for daily use are a complement to brushing to improve oral health [12,13].

It is necessary to distinguish solutions to be used daily, after or before brushing of the teeth, from those with a therapeutic aim which often have the status of a drug and whose use must be much more punctual. These therapeutic solutions are usually prescribed following oral surgery, tooth extraction or device-related injury [14,15]. Due to the high dose of chlorhexidine (0.2% minimum), these therapeutic solutions are also good antiseptics. The effects of an alcohol vehicle solution versus an essential oil (EO) mouthwash (for example thymol, menthol, eucalyptol and methyl salicylate) as daily mouthwashes in relation to antiplaque and antigingivitis properties have been discussed [16]. An unanswered question is whether toothpastes and mouthwashes used in combination have a significant effect on inflammation parameters, without causing any interference regarding their inhibitory effects on plaque, regardless of the order of use [17].

More consumers are using natural health products in the modern world [18]. In recent years, natural compound (excluding EO)-containing mouthwashes have shown a growth in demand in markets and the professional community [19]. A growing number of dentists have embraced the philosophy that natural agents are better for the oral health of children and the general population [20]. Given the increased bacterial resistance to antibiotics currently used in dentistry, natural compounds are important for the prevention of oral bacterial growth, adhesion and colonization [21]. Herbal medicines, including herbs, herbal materials, herbal preparations, finished herbal products that contain parts of plants or other plant materials as active ingredients, and various medicinal plants, individually or in combination, have been used for over 2000 years to maintain oral hygiene and to prevent inflammation [22–24]. An overview of representative plant extracts found that they have favorable antimicrobial properties against oral bacteria [25]. Side-effect-free medicinal herbs—*Acacia chundra* Willd, *Adhatoda vasica* Nees, *Mimusops elengi* L., *Piper nigrum* L., *Pongamia pinnata* (L.) Pirerre, *Quercus infectoria* Oliv, etc.—might supplement or even be a substitute for conventional anti-infectious agents in the battle against periodontitis and other biofilm-related diseases [26–28]. The antimicrobial properties of herbal dentifrices and mouthwashes vary greatly; however, few of these products have undergone rigorous testing, as evidenced by the limited amount of information on their safety and efficacy in the literature [29].

Dentifrices labelled as “natural” typically do not include ingredients such as synthetic sweeteners, artificial colors, preservatives, additives, or synthetic flavors and fragrances [30]. Clinical research on herbal-based mouth rinses and dentifrices is very limited, whereas a plethora of research exists on conventional oral care products [27]. Among these products, natural dentifrices/mouthwashes, in the form of water mixed with a powder containing *Carica papaya* leaf extract (CPLE) have been recently

marketed in Europe (Gencix®). However, to the best of our knowledge, there have been no studies investigating the anti-inflammatory action of CPLE.

The main objective of this study was to compare the efficacy in reducing interdental gingival bleeding between a natural dentifrice/mouthwash containing CPLE and a classical SLS-free enzyme-containing dentifrice, alone or associated with an EO mouthwash.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design

The study was designed as a single-blind, four-group, randomized, controlled, parallel clinical trial. The guidelines of the CONSORT Statement were followed. The study protocol was reviewed and approved by the Institutional Ethics Board Committee on research involving humans, Dental Faculty, University of Granada, Spain. Written informed consent in agreement with the Declaration of Helsinki was obtained from all enrolled individuals. Clinical Trials Registry—2018-000905-22. Registered 28 February 2018 (retrospectively registered).

The eligible volunteer participants were randomly assigned to one of the four experimental groups, each of which included 25 participants using a random number generator (www.random.org). To achieve the same sample size in both groups and simultaneously satisfy the randomization procedure to achieve balanced groups with respect to the most relevant variables (sex and baseline bleeding), a stratified (two levels for sex and two levels for baseline bleeding) block randomization (computer-assisted) method was used. Baseline bleeding was defined as the percentage of bleeding sites per participant as follows: a high level of bleeding if the participant had $\geq 30\%$ bleeding sites and a low level of bleeding if the participant had $< 30\%$ bleeding sites [31]. Each participant was identified using a code. The methods were not changed after the trial began.

2.2. Participants

The source population consisted of voluntary healthy subjects aged 18–26. The respondents were assured that participation was voluntary. One hundred and forty-one persons volunteered to participate in the study. All of the candidates were screened for suitability by the research team. The subjects who met the following inclusion criteria were included in this study. The selection inclusion criteria were (i) 18–26 years old; (ii) good general health and not pregnant or breastfeeding; (iii) the presence of at least 20 natural teeth (excluding 3rd molars); (iv) non-smokers; (v) willing to give written informed consent; (vi) capable of following the study for a period of 4 weeks; (vii) no allergy to personal care products or their ingredients; (viii) willing to abstain from the use of interdental brushing devices (interdental brushes, dental floss, etc.) during the study; (ix) no implants or orthodontic appliances; (x) willing to refrain from the use of brushing supplements containing antibacterial agents such as amine fluoride, chlorhexidine, silver ions, etc. during the study; and (xi) brushing the teeth at least twice per day.

The exclusion criteria were (i) subjects unable or unwilling to sign the informed consent form, (ii) unable to answer questions, (iii) non-cooperative, (iv) a state of health that requires premedication before visits or dental procedures, (v) subjects with the following pathologies: diabetes, haemophilia, anticoagulant treatment, and risk for infectious endocarditis, (vi) the presence of moderate or advanced periodontal disease, (vii) 2 or more decayed teeth during the screening or other diseases of the hard or soft oral tissues, (viii) use of drugs that affect salivary flow, (ix) use of antibiotics or antimicrobial drugs within 30 days prior to the study visit, (x) participation in any other clinical study in 1 week prior to enrolment in this study, (xi) subjects requiring dental treatment or other oral prophylaxis during the study dates, (xii) allergy to dentifrice ingredients, (xiii) allergy to several mouthwash components, (xiv) the presence of an orthodontic appliance, (xv) a history of allergy to natural remedies such as herbal ingredients, (xvi) immune deficiencies, (xvii) smokers (daily consumption greater than or equal to 1 cigarette), (xviii) regular use (more than once a week) of interdental brushes or dental floss in

addition to dental brushing, (xix) regular (more than once a week) use of a mouthwash and (xx) subjects requiring geographical mobility. All eligible volunteers were given oral information about the products and the purpose of the study. All subjects could at any time withdraw from the study. The study flow chart is shown in Figure 1.

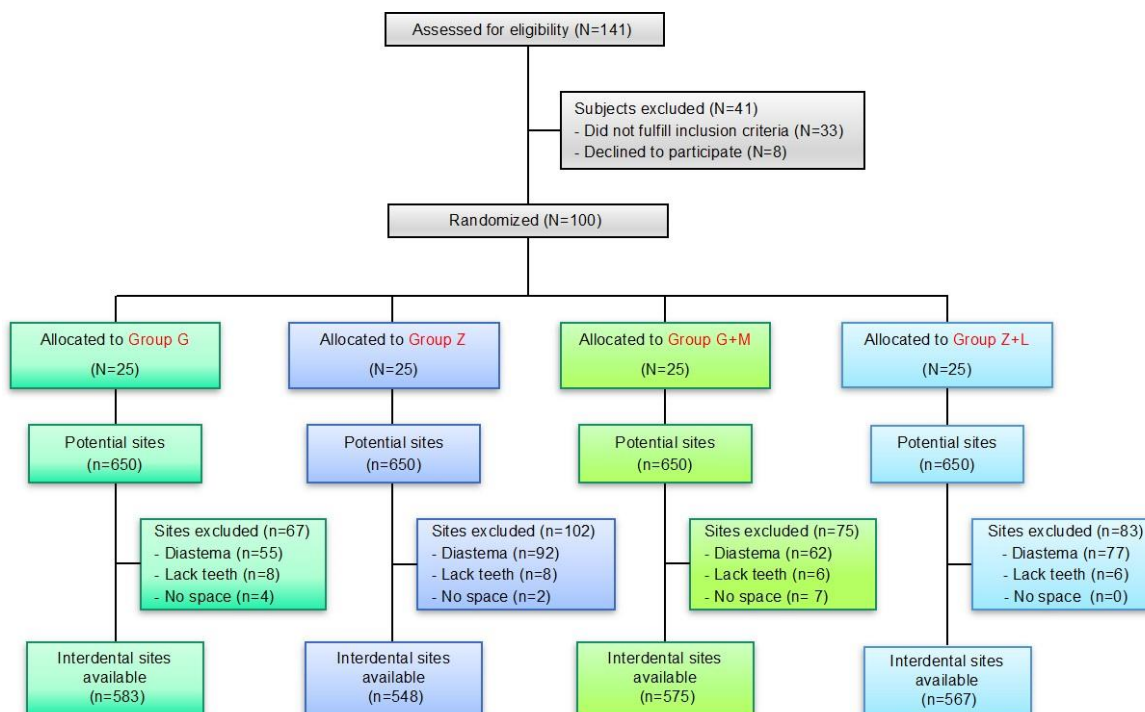


Figure 1. Flow chart of the study.

2.3. Interventions

The study was conducted in the Division of Prevention, Dental Clinic, University of Granada, Spain. At baseline, April 2017, the prescreened participants were referred to the clinic for examinations (gingivitis, periodontal conditions, and bleeding). A colorimetric probe (IAP Curaprox; Curaden, Kriens, Switzerland) was used to evaluate the diameter of the interproximal spaces, except those between the second and third molars, to determine the appropriate size of the interdental brushes (IDBs) for each site [32]. After the baseline oral examinations and assessments of the other inclusion/exclusion criteria, the qualifying participants were randomly assigned to one of the following four groups (Figure 1): (i) Group G: test CPLE dentifrice; (ii) Group G + M: test CPLE dentifrice with CPLE mouthwash; (iii) Group Z: control with SLS-free enzyme-containing dentifrice; (iv) Group Z + L: control with SLS-free enzyme-containing dentifrice and alcohol-based EO mouthwash.

All participants were provided with sufficient amounts of their assigned products. They were asked to brush for the total duration of the study twice daily for 2 min using only their provided toothbrush and assigned dentifrice/mouthwash. Groups G + M and Group Z + L were directed to use 20 mL of CPLE or alcohol-based EO mouthwash twice a day for 30 s after tooth brushing. The first rinse and rinses on the examination visits occurred under supervision at the study site. All other rinsing was unsupervised. Subsequent rinsing with water was not allowed. The use of any other dental products or interdental cleaning aids during the study was not allowed.

2.4. Description of Dentifrices and Mouthwashes

The CPLE dentifrice and mouthwash were used after dilution of the powder in water. The powder contained an aqueous extract of *Carica papaya* leaves (40%) with pumice (60%) (Gencix®, Esprit d’Ethique, Orvault, France).

The SLS-free enzyme-containing dentifrice contained sodium fluoride, colostrum, lactoperoxidase, lysozyme glucose oxidase and amyloglucosidase (Zendium® classic, Sara Lee, Amersfoort, The Netherlands).

The alcohol-based EO mouthwash contained eucaliptol (0.092%), menthol (0.042%), methyl salicylate (0.060%), and thymol (0.064%) as active ingredients. Inactive ingredients included water, alcohol (21.6%), benzoic acid, poloxamer 407, benzoic acid, and flavoring (Listerine® Cool Mint®, Manufacturer Johnson & Johnson Healthcare Products, Maidenhead, UK).

2.5. Assessment and Outcome

All selected individuals were followed after the inclusion visit (T_0) for 4 weeks with the following weekly dental consultations: Week 1 (T_1), Week 2 (T_2), Week 3 (T_3) and Week 4 (T_4). These consultations involved the visual assessment of interdental gingival bleeding and supragingival plaque (PI) by a trained and calibrated dental examiner.

Gingivitis was assessed using the Bleeding on Interdental Brushing Index (BOIP) on the interdental space. All interdental sites were recorded, as was the bleeding response to the horizontal pressure applied in the interdental area by a calibrated IDB. After 30 s, bleeding at each gingival unit was recorded according to the following scale: 0, absence of bleeding; and 1, bleeding. The probing protocol was always the same, starting in the 16–17 interdental space and finishing in the 46–47 interdental space.

At each visit during the evaluation period, a calibrated interdental brush was introduced into the interproximal space, and the presence of bleeding was observed. The pressure applied by a horizontal brush in the interdental area should be firm and continuous until reaching maximum compression with minimal discomfort to the patient. The pressure used to place the IDB was approximately $50\text{--}100\text{ N}\cdot\text{cm}^{-2}$ (0.20–0.40 gram-force), and 83% of participants were assigned a Visual Analogue Scale score of ≤ 1 . More details can be found in a previous study [31].

The plaque score was assessed using a standard scale called the Turesky Modification of the Quigley Hein Plaque Index after disclosing and scored from 0 to 5, where 0 = no plaque, 1 = separate flecks or a discontinuous band of plaque at the gingival (cervical) margin, 2 = a thin (up to 1 mm), continuous band of plaque at the gingival margin, 3 = a band of plaque wider than 1 mm but less than 1/3 of the surface, 4 = plaque covering 1/3 or more, but less than 2/3, of the surface, and 5 = plaque covering 2/3 or more of the surface [33].

The primary efficacy endpoint was the percentage of bleeding sites at four weeks, and the secondary endpoints included the mean BOIP at one, two and three weeks and the mean PI at one, two, three, and four weeks.

2.6. Sample Size Calculation

The calculation of the sample size (interdental sites) was performed using Sample Power 2.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) software. A *t*-test for independent groups was used to detect a power of 80% and 5% alpha error for an estimated Cohen's *d* of 0.5, a medium effect size according to Cohen's scale, for bleeding after interdental brush use.

We required 256 a-priori interdental sites (64 per group, 4 groups). After considering a design effect (owing to interdental sites being clustered within participants) of 5.0 (estimated from previous experience with these IDBs) in estimating the bleeding percentage, the sample size increased to 1280 interdental sites ($=256 \times 5$). Furthermore, after considering that an estimated 80% of the interdental sites would be available for analysis (i.e., 20% would be excluded owing to lack of space to introduce the IDB, the presence of diastema or missing teeth), the sample size increased to 1600 interdental sites ($=1280/0.80$). Considering 26 a-priori interdental sites per participant, this resulted in a minimum sample size of 61 participants (i.e., approximately 15 participants per group).

2.7. Data Analysis

The output variable is the level of interproximal bleeding at the interproximal site after one of four commercially available dentifrices/mouthwashes. The statistical unit was the individual interdental site with the available BOIP measurement. After the preliminary descriptive analyses, the proportion of the individual bleeding interdental sites among the treatment groups was compared. Standard errors (se) were calculated according to Dubey and colleagues' method [34]. In parallel, relative changes in the proportion of bleeding sites from T₀ to T₄ were assessed within each group. All *p*-values were corrected for complex sampling (multiple interdental sites within the mouth). Then, analyses were further conducted after restricting the data to subjects with ≥70% of bleeding interdental sites (median value). In this analysis, we used pairwise univariate comparisons, conducted weekly from baseline (T₀) until the 4th week (T₄). The statistical methods are indicated in the table footnotes. Given the possible loss of comparability of the randomized groups due to the restriction, a multivariate multilevel logistic model was computed at T₄, investigating the risk of interdental bleeding as a dependent variable with treatment group (G vs. Z) as the main explanatory variable. Descriptive statistics (*p*-values and standard errors) were performed with SPSS Windows 20.0 (IBM Inc., Chicago, IL, USA) for analyses based on the patients. The SUDAAN 7.0 (RTI, RTP, NC) was used to account for clustering (multiple interproximal spaces within the patient) for analyses based on interproximal spaces. The statistical methods are indicated in the table footnotes.

3. Results

3.1. Baseline Characteristics

3.1.1. Subject Characteristics

Of the 141 subjects that volunteered, 33 were excluded based on the eligibility criteria. Eight participants dropped out for reasons unrelated to the study protocol (Figure 1). In total, 100 participants (47 males, 53 females) completed all visits of this clinical trial and had a mean age of 23.2 (±3.0) years (range: 19–33 years). All clinical parameters were normally distributed. The mean proportion of interdental bleeding sites per subject at baseline ranged from 62 to 69% in the different groups. The median proportion of bleeding sites per subject was close to 65% (Table 1). At the sampling site level, the overall plaque indexes for groups G, Z, G + M and Z + L were 0.82 ± 0.19; 0.90 ± 0.21; 0.87 ± 0.19 and 0.76 ± 0.30, respectively. There was no significant difference in plaque accumulation among the four groups or the four timepoints. The mean clinical attachment loss (CAL) values (mm) were 1.45 ± 0.20; 1.37 ± 0.24; 1.60 ± 0.32 and 1.54 ± 0.38 (*p* > 0.05), respectively. No safety issue was noticed for any patient throughout the study period.

Table 1. Distribution of subject characteristics at baseline (n = 100).

	Group G	Group Z	Group G + M	Group Z + L	
Variable	(N = 25)	(N = 25)	(N = 25)	(N = 25)	<i>p</i> -Value
Sex, N (%)					0.932 ^a
Male	11 (44.0)	13 (52.0)	12 (48.0)	11 (44.0)	
Female	14 (56.0)	12 (48.0)	13 (52.0)	14 (56.0)	
% Bleeding sites, mean ± sd	66 ± 20	63 ± 26	69 ± 22	62 ± 27	0.759 ^b
Subject bleeding, N (%)					
≥30% Bleeding sites	23 (92.0)	22 (88.0)	24 (96.0)	22 (88.0)	0.719 ^a
≥70% Bleeding sites	12 (48.0)	11 (44.0)	15 (60.0)	12 (48.0)	0.700 ^a

^a Chi-square test. ^b Analysis of variance.

3.1.2. Interdental Sites

Of the 2600 a-priori interdental sites available (i.e., 100 subjects \times 26 interproximal sites/subjects), 13 were excluded due to lack of space to introduce an IDB, 28 for missing teeth and 286 for diastema, leaving a total of 2273 interdental sites available for the analyses (Figure 1). The distribution of interdental sites according to location was upper-posterior (n = 752, 33.1%), lower-posterior (n = 757, 33.3%), upper-anterior (n = 392, 17.2%) and lower-anterior (n = 372, 16.4%). According to the IDB diameter, the distributions were 1.1 mm (n = 88, 3.9%), 0.9 mm (n = 284, 12.5%), 0.8 mm (n = 589, 25.9%), 0.7 mm (n = 720, 31.7%) and 0.6 mm (n = 592, 26.0%). There were no significant differences among the groups for the site location ($p = 0.30$) or the IDB diameter ($p = 0.35$, p -values calculated with chi-square test, corrected for multiple sites within the patients with CROSSTAB in SUDAAN 7.0).

3.2. Inferential Analyses

3.2.1. Changes in Gingival Bleeding in Each Group from T₀ to T₄

A salient monotonous decrease in bleeding of interdental sites was observed between T₀ and T₄ in subjects from all groups, regardless of the baseline interdental bleeding level (Figure 2). Overall, the proportion of bleeding sites per subject substantially decreased in all groups from -59% to -72% , ($p < 0.01$ for all), although this trend was more pronounced in Group G + M (Table 2).

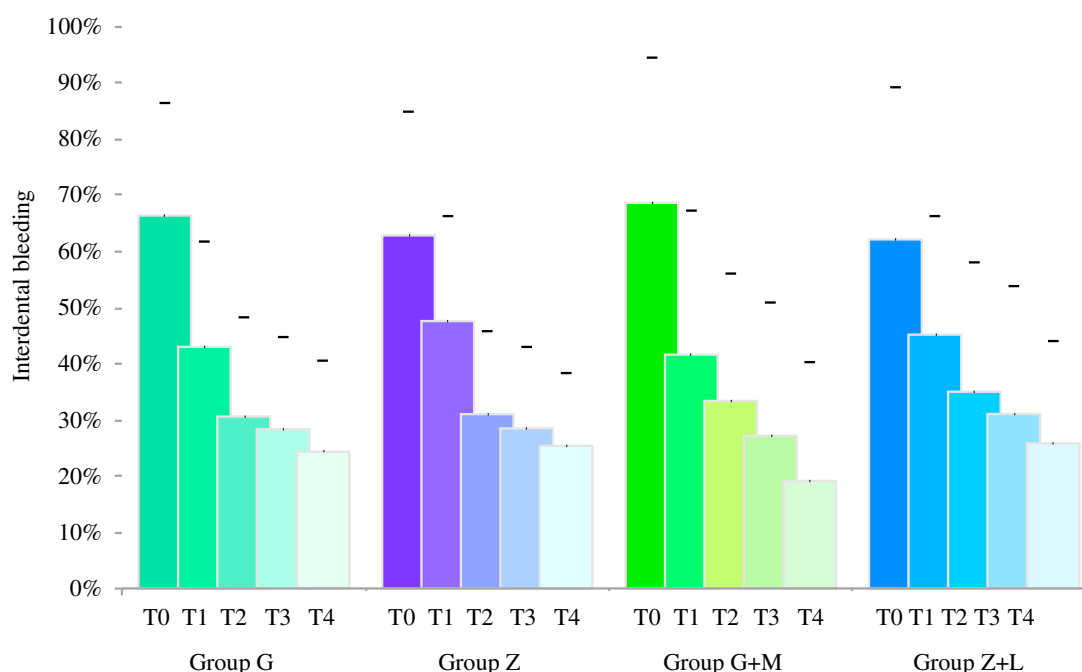


Figure 2. Evolution of interproximal bleeding by group in 2273 interdental sites (100 subjects). Group G: test *Carica papaya* leaf extract (CPLE) dentifrice; Group G + M: test CPLE dentifrice with CPLE mouthwash; Group Z: control with sodium lauryl sulfate (SLS)-free enzyme-containing dentifrice; Group Z + L: control with SLS-free enzyme-containing dentifrice and alcohol-based essential oil mouthwash; T₀: basal; T₁: 1 week; T₂: 2 weeks; T₃: 3 weeks; T₄: 4 weeks.

After restricting the analysis to patients with $\geq 70\%$ bleeding sites at T₀, the magnitude of the decrease from T₀ to T₄ was slightly higher in all groups (from -54% to -65% , $p < 0.01$ for all, Table 3). Interestingly, the proportional decrease in bleeding interdental sites over the four-week period tended to be slightly greater in subjects with 70% or more bleeding sites at baseline compared with that of the overall study population.

Table 2. Interproximal bleeding after IDB (interdental brush) according to treatment group in 2273 interproximal sites ^a (from 100 patients).

Time	Group G			Group Z			Group G + M			Group Z + L			Paired Comparisons (<i>p</i> -Value) ^c					
	n	% \pm se ^b	↓ ^c	n	% \pm se ^b	↓ ^c	n	% \pm se ^b	↓ ^c	n	% \pm se ^b	↓ ^c	Z-G	GM-G	ZL-G	Z-GM	ZL-GM	ZL-Z
T ₀ (Baseline)	583	67 \pm 4	x	548	62 \pm 5	w	575	69 \pm 4	w	567	63 \pm 5	v	0.45	0.66	0.61	0.26	0.39	0.84
T ₁ (1 week)		44 \pm 4	y		43 \pm 5	x		42 \pm 4	x		47 \pm 4	w	0.91	0.80	0.56	0.92	0.43	0.53
T ₂ (2 weeks)		30 \pm 4	z		31 \pm 4	y		35 \pm 3	y		37 \pm 4	x	0.85	0.34	0.21	0.52	0.62	0.33
T ₃ (3 weeks)		29 \pm 3	z		29 \pm 4	y		29 \pm 3	y		33 \pm 5	xy	1.00	0.99	0.43	0.99	0.43	0.48
T ₄ (4 weeks) Effect.		25 \pm 3	z		24 \pm 4	z		19 \pm 2	z		26 \pm 4	z	0.85	0.15	0.83	0.31	0.13	0.71
T ₄ , % (95%-CI) ^e		63 (53–72)			61 (47–75)			72 (63–82)			59 (45–73)							

^a 100 patients \times 26 interproximal sites/patient = 2600 interproximal sites. We excluded 13 for lack of space to introduce an IDB -interdental brush-, 30 for missing teeth and 284 for diastema, leaving 2273 for the analysis (i.e., with enough interproximal space to introduce the IDB). ^b Standard errors (se) corrected for complex sampling (multiple interproximal spaces within the mouth) with DESCRIPT procedure in SUDAAN 7.0. ^c Paired comparisons were calculated correcting for complex sampling, i.e., with DESCRIPT in SUDAAN. Different letters indicate significantly ($p < 0.05$) different groups. ^d p -values corrected for complex sampling (multiple interproximal spaces within the mouth), by using DESCRIPT procedure in SUDAAN 7.0. ^e Percent difference between T₄ and T₀ = $[(T_0 - T_4)/T_0] \times 100$, with 95%-CI calculated according to Dubey et al. [2].

Table 3. Interproximal bleeding after IDB (interdental brush) according to patient’s baseline gingival bleeding and treatment group in 2273 interproximal spaces (from 100 patients).

Patient’s Bleeding Time	Group G			Group Z			Group G + M			Group Z + L			Paired Comparisons (<i>p</i> -Value) ^c						
	n	% ±se ^a	↓ ^b	n	% ±se	↓ ^c	n	% ±se	↓ ^c	n	% ±se	↓	Z-G	GM-G	ZL-G	Z-GM	ZL-GM	ZL-Z	
Patient’s Bleeding <70% (50 Patients, with 1119 Spaces)																			
T ₀ (Baseline)	297	51 ± 4	x	322	46 ± 5	x	216	46 ± 5	x	284	40 ± 5	x	0.43	0.47	0.09	0.98	0.42	0.42	
T ₁ (1 week)		44 ± 4	x		39 ± 5	x		32 ± 6	xy		36 ± 5	x	0.78	0.25	0.45	0.36	0.66	0.62	
T ₂ (2 weeks)		30 ± 4	y		27 ± 5	y		30 ± 5	y		25 ± 4	y	0.94	0.75	0.74	0.68	0.50	0.79	
T ₃ (3 weeks)		29 ± 3	y		22 ± 5	y		20 ± 3	z		21 ± 4	y	0.56	0.36	0.44	0.80	0.94	0.87	
T ₄ (4 weeks) Effect.		25 ± 3	y		20 ± 4	y		16 ± 5	z		19 ± 4	y	0.70	0.77	0.86	0.56	0.68	0.83	
T ₄ , % (95%-CI) ^d		65 (52–78)			56 (36–77)			65 (43–86)			54 (33–74)								
Patient’s Bleeding ≥70% (50 Patients, with 1145 Spaces)																			
T ₀ (Baseline)	286	84 ± 2	x	226	85 ± 4	w	359	84 ± 2	w	283	87 ± 3	w	0.74	≈1	0.38	0.75	0.40	0.72	
T ₁ (1 week)		46 ± 5	y		48 ± 9	x		48 ± 4	x		58 ± 5	x	0.84	0.72	0.09	0.97	0.14	0.32	
T ₂ (2 weeks)		34 ± 5	z		38 ± 8	y		38 ± 3	y		50 ± 6	y	0.62	0.44	0.03	0.98	0.07	0.22	
T ₃ (3 weeks)		32 ± 4	z		39 ± 7	y		34 ± 4	y		46 ± 7	y	0.42	0.76	0.08	0.56	0.13	0.48	
T ₄ (4 weeks)		32 ± 5	z		30 ± 7	z		21 ± 3	z		33 ± 6	z	0.77	0.04	0.89	0.25	0.05	0.70	
Effect T ₄ , % (95%-CI)		62 (51–72)			65 (48–82)			75 (68–82)			62 (48–75)								

^a Standard errors (se) corrected for complex sampling (multiple interproximal spaces within the mouth) with DESCRIPT procedure in SUDAAN 7.0. ^b Paired comparisons were calculated correcting for complex sampling, i.e., with DESCRIPT in SUDAAN. Different letters indicate significantly (*p* < 0.05) different groups. ^c *p*-values corrected for complex sampling (multiple interproximal spaces within the mouth), by using DESCRIPT procedure in SUDAAN 7.0. ^d Percent difference between T₄ and T₀ = [(T₀ T₄)/T₀] 100], with 95%-CI calculated according to Dubey et al. [2].

3.2.2. Risk of Interdental Bleeding between Treatment Groups

Overall, we did not observe any significant difference between Group G and Group Z or Group Z+L in terms of a reduction in gingival bleeding over the four-week period (Table 2). In the subgroup presenting with $\geq 70\%$ bleeding sites, a near-significantly lower proportion of bleeding interdental sites was observed in subjects using CPLE dentifrice combined with mouthwash compared to those receiving SLS-free enzyme-containing dentifrice with alcohol-based EO mouthwash (21% vs. 33%, $p = 0.05$, Table 3). More importantly, this trend disappeared when the combined use of CPLE dentifrice was compared to the use of SLS-free enzyme-containing dentifrice alone. Furthermore, a near-significantly lower interdental bleeding level was seen when using CPLE dentifrice and mouthwash compared to the combined use of SLS-free enzyme-containing dentifrice and alcohol-based EO mouthwash. In contrast, no marked difference was observed in between-group pairwise comparisons. A unique and statistically significant between-group difference was observed at 4 weeks in the high-risk category between subjects receiving CPLE dentifrice with or without mouthwash. In parallel, the decrease in bleeding interdental sites from T_0 to T_4 was more prominent in Group G+M than that in Group G (-75% vs. -62% , $p = 0.04$).

No significant difference was observed between the different high-risk groups for the studied variables and interproximal bleeding at T_4 (Table 4).

Table 4. Distribution of variables at interdental site level and multivariate associations in the different high-risk groups between the studied variables and interproximal bleeding at T_4 (4 weeks) ($n = 2273$ interdental sites from 100 subjects).

Variables	Subjects with $\geq 70\%$ of Bleeding Sites at T_4 50 Subjects (1154 Interdental Sites)			Subjects with $\geq 30\%$ of Bleeding Sites at T_4 31 Subjects (2273 Interdental Sites)			Subjects with $\geq 20\%$ of Bleeding Sites at T_4 15 Subjects (344 Interdental Sites)		
	n	OR ^a (95%-CI ^b)	p-Value	n	OR ^a (95%-CI ^b)	p-Value	n	OR ^a (95%-CI ^b)	p-Value
Group G	297	1.0		199			47		
Group Z	241	0.60 (0.18–1.78)	0.19	111	0.74 (0.28–2.23)	0.57	99	0.66 (0.13–3.36)	0.62
Group G + M	371	0.52 (0.16–1.52)	0.07	200	0.49 (0.06–3.88)	0.16	100	0.30 (0.05–1.81)	0.19
Group Z + L	304	1.23 (0.42–3.21)	0.56	247	1.47 (0.48–4.16)	0.39	112	1.81 (0.37–8.90)	0.46

^a Odds ratio. ^b Confidence interval.

4. Discussion

This study compared the effectiveness of a natural dentifrice containing *Carica papaya* leaf extract to a commercially available SLS-free enzyme-containing dentifrice in reducing interdental gingival bleeding. Since mouthwashes are typically used in conjunction with a mechanical cleaning regimen, the effects of CPLE dentifrice used alone or with CPLE mouthwash versus an antimicrobial EO mouthwash in combination with a non-antimicrobial dentifrice were also assessed.

To the best of our knowledge, this is the first clinical trial on the effects of the application of natural extracts versus SLS-free enzyme-containing dentifrices against the interdental inflammatory process. Our study reveals that CPLE dentifrice with or without mouthwash and SLS-free enzyme-containing dentifrice with or without alcohol-based EO mouthwash significantly reduced interdental inflammation at four weeks. Moreover, no significant difference was observed between the CPLE dentifrice and the SLS-free enzyme-containing dentifrice whether or not they were combined with the alcohol-based EO mouthwash. A dramatic decrease in interdental gingival bleeding appeared within the four-week period in all groups. In the subjects with more than 70% bleeding, the combined use of the CPLE dentifrice, both as a dentifrice and a mouthwash, showed a greater impact on bleeding reduction than the use of the CPLE dentifrice alone.

Additionally, the two dentifrices tested significantly decreased interdental inflammation but through different actions. Dentifrice containing enzymes stimulated natural salivary defenses. The enzyme cascade leads to the production of hypothiocyanite and hydrogen peroxide, which could

result in an increase in oxygen levels and an inhibition of the growth of anaerobic bacteria. This result promotes a shift in the bacterial community, resulting in an increase in bacteria associated with gum health and a concomitant decrease in those associated with periodontal disease, such as *Treponema* spp [35]. No salient impact on interdental bleeding of the addition of mouthwash with the dentifrice was observed in low or high-risk subjects. Although no formal conclusion was possible given the non-significant differences, the results tended to be better with the use of the SLS-free enzyme-containing dentifrice alone. Components of the alcohol solution may interact [36]. In the present study design, it can be concluded that the interdental bleeding efficacy of a post-brushing alcohol-based EO or CPLE mouthwash does not seem to be reduced under the influence of a normal tooth brushing regimen with a dentifrice, whether or not the dentifrice contained enzymes or CPLE powder.

The mechanisms of action of the CPLE dentifrice in the process of reducing interdental bleeding have not yet been clearly identified. The various organs of this plant are rich in specific compounds. For example, papain, an enzyme from papaya, is mainly harvested from the fruit latex, because it does not accumulate to sufficient levels in other tissues [37]. Additionally, extraction solvents can be concentrated in certain compounds to a greater or lesser extent. Polar solvents, such as water, concentrate the most polar molecules, whereas highly apolar solvents, such as dichloromethane, concentrate apolar molecules [38]. Enzyme effects are unlikely because the aqueous extraction by decoction includes heating, which would unfold this type of molecule. Vascular effects have not been documented in the *papaya* leaf to our knowledge. Previous studies have discovered several activities from the leaves of *Carica papaya* linked to a few identified metabolites such as amino acids, fatty acids, sugars and organic acids [39,40]. Therefore, the observed activities are probably related to terpenes, which have been found to have antibacterial activity [41] and antifungal activity [42]. Another possibility is the large family of phenolic compounds that can have antioxidant activity [43–46], antitumour activity [43,47] or immunomodulatory and antithrombocytopenic activity [48]. Similarly, the biological effects of flavonoid secondary metabolites found in papaya leaves are evident. The anti-inflammatory action (anti-TNF- α) of CPLE dentifrice could explain the global reduction of gingival inflammation and thus the reduction of interdental bleeding. Anti-inflammatory activity described by Erlund and colleagues is related to quercetin, hesperitin and naringenin present in the leaves [49]. The anti-inflammatory mechanism of quercetin induces the activation of extracellular signal kinase (ERK), c-Jun NH2-terminal kinase (JNK), c-Jun and nuclear factor- κ B (NF- κ B), or it induces an increase in peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR γ) activity [50]. In addition, antimicrobial activity has also been reported, including 3 *Candida* species and Gram-positive and Gram-negative bacteria [51–53]. The final family of metabolites identified are the alkaloids, which have cytotoxic activities [47,48,54,55], especially with certain cell lines. The literature also reveals antimicrobial activities [37], particularly antifungal [42,56,57], antiparasitic [58–61], antibacterial [41,62–65] and antiviral activities [66,67]. Finally, anti-inflammatory action has been attributed to the alkaloids of papaya [68,69].

Some limitations of this study must be acknowledged. The stratification of the analyses of the baseline interdental bleeding may have affected the comparability initially obtained between groups after randomization. Nonetheless, groups did not statistically differ at the baseline compared to the outcome, particularly among subjects presenting with a higher baseline interdental bleeding risk.

The subjects' actual adherence to the assigned therapies was unknown. Nonetheless, a dramatically significant decrease in bleeding at interdental sites was observed in all groups, suggesting a global correct adherence level. This was a single-blind study, which could have impacted some of the comparisons between groups. Nonetheless, we believe that our findings were minimally affected by such bias, as our outcome was collected by trained investigators who were unaware of the subjects' exposure. Further investigations, particularly observational studies, will be eventually needed to confirm our conclusions in real-life settings.

While the antimicrobial effect of only Listerine Cool Mint with a vehicle alcohol solution was tested in combination with SLS-free enzyme-containing dentifrice, the results of our study may not be extrapolated to all Listerine products [70]. For instance, alcohol-based EO mouth rinse penetrates and kills microorganisms deeper and more effectively in plaque biofilm in typical exposure times when compared to dentifrice chemotherapeutic agents [10].

Our results have clinical implications. CPLE dentifrice and mouthwash provide an efficacious alternative to SLS-free enzyme-containing dentifrice with or without EO-containing mouthwash when used as an adjunct to mechanical oral care. The data suggest that the CPLE dentifrice has similar benefits and efficacy as the SLS-free enzyme-containing dentifrice alone or associated with an alcohol-based EO mouthwash regarding interdental bleeding. Furthermore, our findings indicate that the optimal benefit of the CPLE dentifrice in reducing interdental bleeding occurs when it is used as both a dentifrice and a mouthwash. Given the current concerns regarding the safety of many commercial types of dentifrice, the CPLE dentifrice could constitute an interesting natural alternative to treat susceptible persons with interdental bleeding, particularly at an advanced stage of gingival bleeding (>70%).

Nonetheless, our findings require confirmation in a less selected population or in patients with periodontitis. Further comparisons against classical dentifrices and with other periodontitis outcomes are also desirable. Our findings indicate that CPLE dentifrice/mouthwash used alone is safe. However, a natural product does not inherently mean the absence of any adverse outcomes. The benefit risk balance of CPLE dentifrice use should be investigated more thoroughly. Likewise, the cost effectiveness ratio of CPLE dentifrice use must not be overlooked. Further research should be done, especially on indications for long-term use and maintenance of a healthy oral microbiota as well as special needs patients.

5. Conclusions

Finally, we conclude that the *Carica papaya* leaf extract dentifrice is effective when compared to an SLS-free enzyme-containing dentifrice in the reduction of gingival bleeding and inflammation and could constitute a valid parallel alternative to classical commercial dentifrices. This effect was sustained with a continuing trend of reduction observed for tissue bleeding metrics. The addition of alcohol-based EO mouthwash to the SLS-free enzyme-containing dentifrice did not show any clinical benefit in terms of the reduction in interdental bleeding.

Author Contributions: J.C.L., F.C., and I.S. designed the study. J.L. and M.B. supervised the clinical process and carried out protocols. C.D., M.B. and P.T. carried out the informatics processing of the data. C.D., F.C., I.S., M.B., P.T. and S.V. contributed to the analysis and interpretation of the data. C.D., I.S., J.C.L., M.B., P.T. and S.V. carried out the statistical analysis of the results. All authors contributed to the writing and review of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Acknowledgments: The authors acknowledge all participants in the study.

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

References

1. Van der Weijden, F.A.; Slot, D.E. Efficacy of homecare regimens for mechanical plaque removal in managing gingivitis a meta review. *J. Clin. Periodontol.* **2015**, *42* (Suppl. 16), S77–S91. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Bernard, A.; Dornic, N.; Roudot, A.; Ficheux, A. Probabilistic exposure assessment to face and oral care cosmetic products by the French population. *Food Chem. Toxicol.* **2018**, *111*, 511–524. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Bourgeois, D.; Weiler, D.; Carrouel, F. Oral Microbiota, Intestinal Microbiota and Inflammatory Bowel Diseases. *Res. Rev. Biosci.* **2017**, *12*, 136.
4. Rempelberg, C.; Heringa, M.B.; van Donkersgoed, G.; Drijvers, J.; Roos, A.; Westenbrink, S.; Peters, R.; van Bommel, G.; Brand, W.; Oomen, A.G. Oral intake of added titanium dioxide and its nanofraction from food products, food supplements and toothpaste by the Dutch population. *Nanotoxicology* **2016**, *10*, 1404–1414. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

5. Forte, M.; Mita, L.; Cobellis, L.; Merafina, V.; Specchio, R.; Rossi, S.; Mita, D.G.; Mosca, L.; Castaldi, M.A.; De Falco, M.; et al. Triclosan and bisphenol a affect decidualization of human endometrial stromal cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2016**, *422*, 74–83. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Heringa, M.B.; Geraets, L.; van Eijkeren, J.C.; Vandebriel, R.J.; de Jong, W.H.; Oomen, A.G. Risk assessment of titanium dioxide nanoparticles via oral exposure, including toxicokinetic considerations. *Nanotoxicology* **2016**, *10*, 1515–1525. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Karpuzoglu, E.; Holladay, S.D.; Gogal, R.M., Jr. Parabens: Potential impact of low-affinity estrogen receptor binding chemicals on human health. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* **2013**, *16*, 321–335. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Sälzer, S.; Rosema, N.A.; Martin, E.C.; Slot, D.E.; Timmer, C.J.; Dörfer, C.E.; van der Weijden, G.A. The effectiveness of dentifrices without and with sodium lauryl sulfate on plaque, gingivitis and gingival abrasion—a randomized clinical trial. *Clin. Oral Investig.* **2016**, *20*, 443–450. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Searls, J.C.; Berg, C.A. The influence of dentifrice detergents on oral epithelial slough. *Dent. Hyg. (Chic)* **1986**, *60*, 20–23. [[PubMed](#)]
10. Serbiak, B.; Fourre, T.; Geonnotti, A.R.; Gambogi, R.J. In vitro efficacy of essential oil mouthrinse versus dentifrices. *J. Dent.* **2018**, *69*, 49–54. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Zijngje, V.; van Leeuwen, M.B.; Degener, J.E.; Abbas, F.; Thurnheer, T.; Gmür, R.; Harmsen, H.J. Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLoS ONE* **2010**, *5*, e9321. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Haas, A.N.; Wagner, T.P.; Muniz, F.W.M.G.; Fiorini, T.; Cavagni, J.; Celeste, R.K. Essential oils-containing mouthwashes for gingivitis and plaque: Meta-analysis and meta-regression. *J. Dent.* **2016**, *55*, 7–15. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Araujo, M.W.B.; Charles, C.A.; Weinstein, R.B.; McGuire, J.A.; Parikh-Das, A.M.; Du, Q.; Zhang, J.; Berlin, J.A.; Gunsolley, J.C. Meta-analysis of the effect of an essential oil-containing mouthrinse on gingivitis and plaque. *J. Am. Dent. Assoc.* **2015**, *146*, 610–622. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Da Costa, L.F.N.P.; Amaral, C.D.S.F.; Barbirato, D.D.S.; Leão, A.T.T.; Fogacci, M.F. Chlorhexidine mouthwash as an adjunct to mechanical therapy in chronic periodontitis: A meta-analysis. *J. Am. Dent. Assoc.* **2017**, *148*, 308–318. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Barbosa, M.; Prada-López, I.; Álvarez, M.; Amaral, B.; de los Angeles, C.D.; Tomás, I. Post-tooth extraction bacteremia: A randomized clinical trial on the efficacy of chlorhexidine prophylaxis. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0124249. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Lynch, M.C.; Cortelli, S.C.; McGuire, J.A.; Zhang, J.; Ricci-Nittel, D.; Mordas, C.J.; Aquino, D.R.; Cortelli, J.R. The effects of essential oil mouthrinses with or without alcohol on plaque and gingivitis: A randomized controlled clinical study. *BMC Oral Health* **2018**, *18*, 6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Elkerbout, T.A.; Slot, D.E.; Bakker, E.W.; Van der Weijden, G.A. Chlorhexidine mouthwash and sodium lauryl sulphate dentifrice: Do they mix effectively or interfere? *Int. J. Dent. Hyg.* **2016**, *14*, 42–52. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Enioutina, E.Y.; Salis, E.R.; Job, K.M.; Gubarev, M.I.; Krepkova, L.V.; Sherwin, C.M. Herbal Medicines: Challenges in the modern world. Part 5. Status and current directions of complementary and alternative herbal medicine worldwide. *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* **2017**, *10*, 327–338. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Tartaglia, G.M.; Kumar, S.; Fornari, C.D.; Corti, E.; Connelly, S.T. Mouthwashes in the 21st century: A narrative review about active molecules and effectiveness on the periodontal outcomes. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2017**, *14*, 973–982. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Mishra, R.; Tandon, S.; Rathore, M.; Banerjee, M. Antimicrobial Efficacy of Probiotic and Herbal Oral Rinses against *Candida albicans* in Children: A Randomized Clinical Trial. *Int. J. Clin. Pediatr. Dent.* **2016**, *9*, 25–30. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Kouidhi, B.; Al Qurashi, Y.M.; Chaieb, K. Drug resistance of bacterial dental biofilm and the potential use of natural compounds as alternative for prevention and treatment. *Microb. Pathog.* **2015**, *80*, 39–49. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Varghese, J.; Tumkur, V.K.; Ballal, V.; Bhat, G.S. Antimicrobial effect of *Anacardium occidentale* leaf extract against pathogens causing periodontal disease. *Adv. Biosci. Biotechnol.* **2013**, *4*, 15–18. [[CrossRef](#)]
23. Palombo, E.A. Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity against Oral Bacteria: Potential Application in the Prevention and Treatment of Oral Diseases. *Evid. Based Complement. Altern. Med.* **2011**, *2011*, 680354. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

24. Singh, A.; Purohit, B. Tooth brushing; oil pulling and tissue regeneration: A review of holistic approaches to oral health. *J. Ayurveda Integr. Med.* **2011**, *2*, 64–68. [CrossRef] [PubMed]
25. Karygianni, L.; Al-Ahmad, A.; Argyropoulou, A.; Hellwig, E.; Anderson, A.C.; Skaltsounis, A.L. Natural Antimicrobials and Oral Microorganisms: A Systematic Review on Herbal Interventions for the Eradication of Multispecies Oral Biofilms. *Front. Microbiol.* **2016**, *6*, 1529. [CrossRef] [PubMed]
26. Chandra Shekar, B.R.; Nagarajappa, R.; Suma, S.; Thakur, R. Herbal extracts in oral health care—A review of the current scenario and its future needs. *Pharmacogn. Rev.* **2015**, *9*, 87–92. [CrossRef] [PubMed]
27. Bhat, S.S.; Hegde, S.K.; Ratheesh, M.S. Comparison of Antimicrobial Potential of Various Herbal Dentifrices. *Int. J. Dent. Med. Res.* **2014**, *1*, 41–45.
28. Jayashankar, S.; Panagoda, G.J.; Amaratunga, E.A.; Perera, K.; Rajapakse, P.S. A randomised double-blind placebo-controlled study on the effects of a herbal toothpaste on gingival bleeding, oral hygiene and microbial variables. *Ceylon Med. J.* **2011**, *56*, 5–9. [CrossRef] [PubMed]
29. Lee, S.S.; Zhang, W.; Li, Y. The antimicrobial potential of 14 natural herbal dentifrices: Results of an in vitro diffusion method study. *J. Am. Dent. Assoc.* **2004**, *135*, 1133–1141. [CrossRef] [PubMed]
30. Smith, C. Pasting the competition. *AGD Impact* **1996**, *24*, 16.
31. Carrouel, F.; Llodra, J.C.; Viennot, S.; Santamaria, J.; Bravo, M.; Bourgeois, D. Access to Interdental Brushing in Periodontal Healthy Young Adults: A Cross-Sectional Study. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0155467. [CrossRef] [PubMed]
32. Bourgeois, D.; Carrouel, F.; Llodra, J.C.; Bravo, M.; Viennot, S. A Colorimetric Interdental Probe as a Standard Method to Evaluate Interdental Efficiency of Interdental Brush. *Open Dent. J.* **2015**, *9*, 431–437. [CrossRef] [PubMed]
33. Cugini, M.; Thompson, M.; Warren, P.R. Correlations between two plaque indices in assessment of toothbrush effectiveness. *J. Contemp. Dent. Pract.* **2006**, *7*, 1–9. [PubMed]
34. Dubey, S.D.; Lehnhoff, R.W.; Radike, A.W. A statistical confidence interval for true per cent reduction in caries-incidence studies. *J. Dent. Res.* **1965**, *44*, 921–923. [CrossRef] [PubMed]
35. Adams, S.E.; Arnold, D.; Murphy, B.; Carroll, P.; Green, A.K.; Smith, A.M.; Marsh, P.D.; Chen, T.; Marriott, R.E.; Brading, M.G. A randomised clinical study to determine the effect of a toothpaste containing enzymes and proteins on plaque oral microbiome ecology. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 43344. [CrossRef] [PubMed]
36. Bassolé, I.H.; Juliani, H.R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules* **2012**, *17*, 3989–4006. [CrossRef] [PubMed]
37. Baskaran, C.; Bai, V.R.; Velu, S.; Kumaran, K. The efficacy of *Carica papaya* leaf extract on some bacterial and a fungal strain by well diffusion method. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2012**, *2*, S658–S662. [CrossRef]
38. Zunjar, V.; Mammen, D.; Trivedi, B.; Daniel, M. Pharmacognostic, physicochemical and phytochemical studies on *Carica papaya* Linn. leaves. *Pharmacogn. J.* **2011**, *3*, 5–8. [CrossRef]
39. Gogna, N.; Hamid, N.; Dorai, K. Metabolomic profiling of the phytomedicinal constituents of *Carica papaya* L. leaves and seeds by 1H NMR spectroscopy and multivariate statistical analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2015**, *115*, 74–85. [CrossRef] [PubMed]
40. Akhila, S.; Vijayalakshmi, N.G. Phytochemical studies on *Carica papaya* leaf juice. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2015**, *6*, 880–883.
41. Igwe, O. Chemical constituents of the leaf essential oil of *Carica papaya* from south east Nigeria and its antimicrobial activity. *IJRPC* **2015**, *5*, 77–83. Available online: <http://www.ijrpc.com/files/13-01-15/07-4203.pdf> (accessed on 29 May 2015).
42. Chávez-Quintal, P.; González-Flores, T.; Rodríguez-Buenfil, I.; Gallegos-Tintoré, S. Antifungal activity in ethanolic extracts of *Carica papaya* L. cv. maradol leaves and seeds. *Indian J. Microbiol.* **2011**, *51*, 54–60. [CrossRef] [PubMed]
43. Zuhrotun, N.F.; Astuti, M.; Murdiati, A.; Mubarika, H.S. Anti-proliferation and Apoptosis Induction of Aqueous Leaf Extract of *Carica papaya* L. on Human Breast Cancer Cells MCF-7. *Pakistan J. Biol. Sci.* **2017**, *20*, 36–41. [CrossRef] [PubMed]
44. Inam, A.; Shahzad, M.; Shabbir, A.; Shahid, H.; Shahid, K.; Javeed, A. *Carica papaya* ameliorates allergic asthma via down regulation of IL-4, IL-5, eotaxin, TNF- α , NF-kB, and iNOS levels. *Phytomedicine* **2017**, *32*, 1–7. [CrossRef] [PubMed]
45. Zhang, K.; Zuo, Y. GC-MS determination of flavonoids and phenolic and benzoic acids in human plasma after consumption of cranberry juice. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 222–227. [CrossRef] [PubMed]

46. Chen, H.; Zuo, Y.; Deng, Y. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **2001**, *913*, 387–395. [[CrossRef](#)]
47. Nguyen, T.T.T.; Shaw, P.N.; Parat, M.O.; Hewavitharana, A.K. Anticancer activity of *Carica papaya*: A review. *Mol. Nutr. Food Res.* **2013**, *57*, 153–164. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Fauziya, S.; Krishnamurthy, R. Papaya (*Carica papaya*): Source material for anticancer. *CIBTech J. Pharm. Sci.* **2013**, *2*, 25–34.
49. Anjum, V.; Arora, P.; Ansari, S.H.; Najmi, A.K.; Ahmad, S. Antithrombocytopenic and immunomodulatory potential of metabolically characterized aqueous extract of *Carica papaya* leaves. *Pharm. Biol.* **2017**, *55*, 2043–2056. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Erlund, I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutr. Res.* **2004**, *24*, 851–874. [[CrossRef](#)]
51. Li, Y.; Yao, J.; Han, C.; Yang, J.; Tabassum Chaudhry, M.; Wang, S.; Liu, H.; Yin, Y. Quercetin, inflammation and immunity. *Nutrients* **2016**, *8*, 167. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Parthiban, P.; Siddha, M.D.; Clinic, K.S.M.S.; Road, K.M. Analysis of phytochemical constituents and Antimicrobial activity of *Carica papaya*. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* **2016**, *3*, 329–334.
53. Kuete, V.; Simo, I.K.; Ngameni, B.; Bigoga, J.D.; Watchueng, J.; Nzesse Kaguep, R.; Etoa, F.X.; Ngadjui Tchaleu, B.; Penlap Beng, V. Antimicrobial activity of the methanolic extract, fractions and four flavonoids from the twigs of *Dorstenia angusticornis* Engl. (Moraceae). *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *112*, 271–277. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Li, Z.Y.; Wang, Y.; Shen, W.T.; Zhou, P. Content determination of benzyl glucosinolate and anti-cancer activity of its hydrolysis product in *Carica papaya* L. *Asian Pac. J. Trop. Med.* **2012**, *5*, 231–233. [[CrossRef](#)]
55. Otsuki, N.; Dang, N.H.; Kumagai, E.; Kondo, A.; Iwata, S.; Morimoto, C. Aqueous extract of *Carica papaya* leaves exhibits anti-tumor activity and immunomodulatory effects. *J. Ethnopharmacol.* **2010**, *127*, 760–767. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Zhang, Z.-S.; Wang, X.-M.; Han, Z.-P.; Zhao, M.-X.; Yin, L. Purification, antioxidant and moisture-preserving activities of polysaccharides from papaya. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *87*, 2332–2337. [[CrossRef](#)]
57. Singh, O.; Ali, M. Phytochemical and antifungal profiles of the seeds of *Carica papaya* L. *Indian J. Pharm. Sci.* **2011**, *73*, 447–451. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Julianti, T.; Oufir, M.; Hamburger, M. Quantification of the antiplasmodial alkaloid carpaine in papaya (*Carica papaya*) leaves. *Planta Med.* **2014**, *80*, 1138–1142. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Kovendan, K.; Murugan, K.; Panneerselvam, C.; Aarthia, N.; Mahesh Kumar, P.; Subramaniama, J.; Amerasan, D.; Kalimuthu, K.; Vincent, S. Antimalarial activity of *Carica papaya* (Family: Caricaceae) leaf extract against *Plasmodium falciparum*. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2012**, *2*, S306–S311. [[CrossRef](#)]
60. Wabo Poné, J.; Ngankam Ntemah, J.D.; Bilong Bilong, C.F.; Mbida, M. A comparative study of the ovicidal and larvicidal activities of aqueous and ethanolic extracts of pawpaw seeds *Carica papaya* (Caricaceae) on *Heligmosomoides bakeri*. *Asian Pac. J. Trop. Med.* **2011**, *4*, 447–450. [[CrossRef](#)]
61. Melariri, P.; Campbell, W.; Etusim, P.; Smith, P. Antiplasmodial properties and bioassay-guided fractionation of ethyl acetate extracts from *Carica papaya* leaves. *J. Parasitol. Res.* **2011**, *2011*, 104954. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Ayanfemi, A.A.; Bukola, A.O. Antibacterial Activity of *Carica Papaya* Leaves and Seeds Extracts on Some Bacteria and their Phytochemical Characterization. *Int. J. Bot. Res.* **2015**, *5*, 15–22.
63. Akujobi, C.N.; Ofodeme, C.N.; Enweani, C.A. Determination of antibacterial activity of *Carica papaya* (pawpaw) extracts. *Niger. J. Clin. Pract.* **2010**, *13*, 55–57.
64. Vieira, R.H.S.D.F.; Rodrigues, D.D.P.; Gonçalves, F.A.; De Menezes, F.G.R.; Aragão, J.S.; Sousa, O.V. Microbicidal effect of medicinal plant extracts (*Psidium guajava* Linn. and *Carica papaya* Linn.) upon bacteria isolated from fish muscle and known to induce diarrhea in children. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **2001**, *43*, 145–148. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Emeruwa, A.C. Antibacterial substance from *Carica papaya* fruit extract. *J. Nat. Prod.* **1982**, *45*, 123–127. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Joseph, B.; Sankarganesh, P.; Ichiyama, K.; Yamamoto, N. In vitro study on cytotoxic effect and anti-DENV2 activity of *Carica papaya* L. leaf. *Front. Life Sci.* **2014**, *8*, 18–22. [[CrossRef](#)]
67. Ahmad, N.; Fazal, H.; Ayaz, M.; Abbasi, B.H.; Mohammad, I.; Fazal, L. Dengue fever treatment with *Carica papaya* leaves extracts. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2011**, *1*, 330–333. [[CrossRef](#)]

68. Amazu, L.; Azikiwe, C.; Njoku, C.; Osuala, F.N.; Nwosu, P.J.C.; Ajugwo, A.O.; Enye, J.C. Antiinflammatory activity of the methanolic extract of the seeds of *Carica papaya* in experimental animals. *Asian Pac. J. Trop. Med.* **2010**, *3*, 884–886. [[CrossRef](#)]
69. Owoyele, B.V.; Adebukola, O.M.; Funmilayo, A.A.; Soladoye, A.O. Anti-inflammatory activities of ethanolic extract of *Carica papaya* leaves. *Inflammopharmacology* **2008**, *16*, 168–173. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
70. Vlachojannis, C.; Chrubasik-Hausmann, S.; Hellwig, E.; Al-Ahmad, A. A Preliminary Investigation on the Antimicrobial Activity of Listerine, Its Components, and of Mixtures Thereof. *Phytother. Res.* **2015**, *29*, 1590–1594. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2018 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

3 Résultats pédagogiques d'un nouveau programme d'études sur la prophylaxie orale interproximale pour les étudiants en médecine dentaire (ARTICLE 3)

L'article « Educational outcomes of a new curriculum on interproximal oral prophylaxis for dental students » a été publié le 10 octobre 2018 dans la revue Plos One.

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'efficacité d'un programme d'éducation préclinique en prophylaxie orale en examinant l'efficacité d'un module d'enseignement sur les changements d'attitude des étudiants vis-à-vis de leurs comportements d'hygiène individuels avec les BIDs.

Dans le cadre d'un nouveau programme didactique sur la prophylaxie interproximale orale, tous les étudiants précliniques de troisième année (n = 96) inscrits à l'année scolaire 2014/15 ont reçu des leçons théoriques, précliniques et cliniques sur la prophylaxie interproximale. L'évaluation des résultats éducatifs était liée aux changements observés dans les comportements d'hygiène des élèves à l'aide de BIDs. Les connaissances, les compétences, les attitudes, la satisfaction, les compétences et les performances ont également été étudiées. Les entretiens d'évaluation ont été enregistrés à chaque rappel, c'est-à-dire 1 semaine, 1 mois, 3 mois et 1 an après l'inclusion.

Les résultats ont montré que la motivation à utiliser les BIDs est clairement liée à la perception de l'efficacité des BIDs et à la perception de la réduction des saignements. À une semaine, 89,6% des sujets ont déclaré utiliser des BIDs. L'utilisation individuelle a diminué de façon significative d'une semaine à un mois (-26%, $p = 0,006$) tandis qu'une tendance à la hausse non significative s'est produite entre un mois et trois mois. Parmi les étudiants déclarant avoir utilisé des BIDs à 1 an (20,8%), seulement 2,0% ont utilisé des BIDs quotidiennement. La plupart des étudiants recommanderaient les BIDs à d'autres personnes au début (69,8%). Cependant, cette part est tombée à 50% à 3 mois. Les utilisateurs de BIDs ont prescrit plus que les non-utilisateurs.

Ces données permettent de conclure que la mise en place d'un module sur les pratiques d'hygiène interdentaire dans le programme de santé bucco-dentaire est fortement recommandée car il a un effet positif sur les pratiques d'hygiène interdentaire. Cependant, des mesures correctives doivent être envisagées concernant l'organisation et la fréquence des périodes de rappel afin d'améliorer les performances du programme.

RESEARCH ARTICLE

Educational outcomes of a new curriculum on interproximal oral prophylaxis for dental students

Denis Bourgeois^{1,2}*, Ina Saliassi^{1,2}, Claude Dussart¹, Juan Carlos Llodra³, Delphine Tardivo⁴, Laurent Laforest², Manuel Bravo³, Stéphane Viennot¹, Bruno Foti⁴, Florence Carrouel^{1,2}

1 Laboratory Systemic Health Care, EA4129, University Lyon, Lyon, France, **2** Faculty of Dental Medicine, University Lyon, Lyon, France, **3** Faculty of Dental Medicine, University of Granada, Granada, Spain, **4** Laboratory Anthropology, Health Law, and Medical Ethics, UMR 7268, University Aix Marseille 2, Marseille, France

* These authors contributed equally to this work.
* denis.bourgeois@univ-lyon1.fr



Abstract

Objective

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of a preclinical oral prophylaxis education program by examining the effectiveness of the teaching module on changes to the students' attitudes towards their individual hygiene behaviors with interdental brushes (IDBs).

Methods

As being part of a new didactic program on oral interproximal prophylaxis, all preclinical third-year students (n = 96) enrolled in the 2014/15 academic year received theoretical, pre-clinical, and clinical lessons on interproximal prophylaxis. The evaluation of educational outcomes was linked to observed changes in students' hygiene behaviors using interdental brushes. Knowledge, skills, attitudes, satisfaction, competence and performance were also explored. The evaluation interviews were recorded at each recall, i.e., 1 week, 1 month, 3 months and 1 year after baseline.

Results

Motivation to use IDBs is clearly related to the perception of the effectiveness of the brushes and the perception of bleeding reduction. At one week, 89.6% of subjects reported using IDBs. Individual use decreased significantly from one week to one month (-26%, p = 0.006) while a non-significant upward trend occurred between one month and three months. Among students reporting usage of IDBs at 1 year (20.8%), only 2.0% used IDBs daily. Most students would recommend IDBs to other people at the beginning (69.8%). However, this share dropped to 50% at 3 months. IDB-users prescribed more than non-users.

OPEN ACCESS

Citation: Bourgeois D, Saliassi I, Dussart C, Llodra JC, Tardivo D, Laforest L, et al. (2018) Educational outcomes of a new curriculum on interproximal oral prophylaxis for dental students. PLoS ONE 13 (10): e0204564. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204564>

Editor: Ratilal Laloo, University of Queensland, AUSTRALIA

Received: December 7, 2017

Accepted: September 11, 2018

Published: October 10, 2018

Copyright: © 2018 Bourgeois et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its supplementary material.

Funding: The authors received no specific funding for this work

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Discussion and public health implications

The implementation of a module on interdental hygiene practices in the oral health program is strongly recommended. However, corrective measures should be considered regarding the organization and frequency of recall periods in order to improve the performance of the curriculum.

Introduction

Oral conditions, as chronic diseases, are highly prevalent, affecting 3.9 billion people. Severe periodontitis conditions evaluated for the entire Global Burden of Diseases 2010 Study were the 6th most prevalent conditions, affecting 11% of the global population [1]. Periodontal disease is a component of the global burden of chronic disease [2]. It is characterized at its onset by a synergistic and dysbiotic microbiota in which different members or specific gene combinations fulfill distinct roles that converge to shape and stabilize a disease-provoking microbiota [3].

In oral health, the interdental spaces are an ecological niche for which the body has few or no defenses and for which the traditional daily methods for control via disrupting biofilm as twice daily tooth brushing are inadequate. In young healthy adults, the interdental space holds approximately 16 billion bacteria, including *P. gingivalis*, a pathogen for heart disease and other systemic diseases [4,5]. Evidence suggests that the oral biofilm can have important health outcomes, such as periodontitis, and potential associations with and/or causes of cardiovascular disease, diabetes, chronic kidney disease, degenerative disease, and depression [5,6].

Originally, interdental brushes (IDB) were recommended by dental professionals to patients with large embrasure spaces between the teeth [7], caused by the loss of interdental papilla mainly due to periodontal destruction. Patients who had interdental papillae that filled the embrasure space were usually recommended to use dental floss as an interdental cleansing tool. Flossing cannot be recommended other than for sites of gingival and periodontal health, where IDBs will not pass through the interproximal area without trauma. Otherwise, IDBs are the device of choice for interproximal plaque removal [8]. The recent workshop consensus by the European Federation of Periodontology concluded “flossing cannot be recommended other than for sites of gingiva and periodontal health, where interdental brushes will not pass through the interproximal area without trauma”. “In young individuals in whom the papillae fill out the interdental spaces, dental floss is the only tool which can reach into this area” [9]. One challenge, our challenge is to go against this generally induced idea that IDBs do not fall within the scope of individual prophylaxis in healthy adults whose accessibility is made difficult [4]. Consequently, they are mainly considered when the clinical signs of periodontal lesions appear in adult patients [8]. It is also important that further well designed and appropriately powered clinical trials are warranted to provide more guidelines on interdental oral health selection [10].

In daily oral hygiene activities, it is very difficult to reach this space and disrupt the biofilm of a healthy adult especially in the posterior parts of the mouth [10]. However, updated recommendations for tools and techniques have been recently identified for interdental cleaning, and these approaches aim to reduce interproximal plaque, reduce bleeding, control gingivitis and increase patient motivation and compliance for a more effective prophylaxis and a better quality of life [11]. Accessibility of interdental spaces of healthy adults with the use of calibrated IDBs has been demonstrated [5]. Conventional tooth brushing alone is not effective in

removing the biofilm within interdental spaces [8,10]. Thus, interdental cleaning, similarly to toothbrushing, should become an established part of daily oral hygiene.

In the past decades, oral prophylaxis training in dental faculties has mainly focused on brushing alone or the combined use of brushing and dental floss [12]. Similarly, there have been no major actions to increase levels of knowledge or skills in interdental cleansing in the general population. Global oral health programs rarely include this topic [13].

As a key stakeholder in the oral health of their future patients and recognizing the importance of good interdental prophylaxis, a specific curriculum was developed for dental students within the Public health program of the faculty of Lyon. Introduced from the third year of pre-clinical study, it aims to focus on the major role of IDBs, as well as dental brushing and tooth-pastes, in the dental education of students. Therefore, the Individual Interproximal Oral Prophylaxis Education Program (IIOPEP) was developed at the University of Lyon to highlight the need for interdental prophylaxis education and to evaluate the effectiveness of this program targeted at a cohort of “dentists of tomorrow”.

The aim of this follow-up study was to evaluate the effectiveness of a preclinical oral prophylaxis education program with respect to observed changes in the individual hygiene behaviors of students regarding the use of IDBs. Interdental bleeding in students, along with the correlates of their IDB perceptions, recommendations to relatives and prescriptions to patients were also explored at each recall, i.e., 1 week, 1 month, 3 months and 1 year after baseline.

Materials and methods

Ethical approval

Classified as non-interventional research and a teaching practices investigation, the study does not, under national law, require ethics committee approval or written informed consent (www.legifrance.gouv.fr/eli/decret/2016/11/16/AFSP1621392D/jo/texte). Regional ethics committee approved the protocol (Rech_FRCH_2013/0023). The French data protection authority (CNIL) indicated that we were not required to declare the survey to the French authority that oversees the protection of personal data (S1 Material).

Study population

All third-year ($n = 96$) pre-clinical students enrolled in the 2014/15 academic year in the Faculty of Oral Medicine of Lyon followed didactic, preclinical (hands-on experience using manikins), and clinical (hands-on experience on patients) learning throughout the curriculum. In France, dentistry courses are organized into 12 semesters taken over six years. The entire curriculum is organized on the principle of flipped pedagogy, a pedagogical model in which the typical lecture and homework elements of a course are reversed. Lectures are viewed by students at home before the class session, while in-class time is devoted to exercises, projects, or discussions.

Students have already performed one year of medical studies common to the studies of dentistry, medicine, pharmacy and midwifery. At the end of their third year, they start clinical work with patients in hospitals, which involves semiology, prevention consultation, periodontics, surgery, dentistry and dentures. In each of these disciplines, they can thus apply the lessons learned in individual oral prophylaxis. All anonymous data was collected as part of the students' compulsory curriculum. This is part of the traditional process of evaluating teaching within the faculty. No additional data was recorded for the purposes of the study. With respect to the research on the use of a new curriculum on interproximal oral prophylaxis, the students were not aware of the intention to communicate the evaluation of the results.

Content and development of the learning module

The workflow of the module, including the five-stage technique “*Online e-learning tutorial, Organization of a tutorial classroom, Advanced preclinical training session on interdental oral prophylaxis practices, Clinical training session and Recall clinical training sessions*” of skill acquisition, is described in Fig 1. The details of the curriculum are presented in Table 1. Briefly, the 3 first steps provided students with comprehensive knowledge and understanding of the issues related to interdental biofilm and how to address them. The fourth step consisted of a practical clinical training session to promote efficient scoring and management of biofilm health consequences in dental clinical practice. Students were also sensitized regarding the content and the way to deliver the prevention messages to their patients. The last phase was conducted with recall sessions until the 12th month following the implementation of the curriculum (Table 1). The module including all recalls was mandatory as it is implemented in the curriculum of the faculty. It was explained orally and individually to the students that nothing obliged them from baseline to implement for themselves the clinical lessons received. The students had total freedom to implement or not the process of using IDBs without prejudice or value judgment against them.

Evaluation of the intervention: Outcomes

The different outcomes were collected at 1 week (7 days, T1), 1 month (4 weeks, T2), 3 months (12 weeks, T3) and 1 year (48 to 52 weeks, T4).

Primary outcome. Our main outcome was the percentage of IDB-users immediately before each time-point. IDB-use is a central variable in this study, and conceptually to use the IDB is the expected output of this study. Nevertheless, it is not a limitation, in our opinion, to consider in some statistical analysis this variable as independent. For example, in our analysis it plays mainly a role of an independent variable or factor predicting other variables. The declared frequency in use was also detailed into 6 mutually exclusive categories: no use, < 1 per week, 1/3 days, 1/2 days, daily, and more than daily. The reasons for non-use (lack of motivation, information on how to use, accessibility problems, pain, discomfort and cost) were rated by specific Likert scales scored from 1 (total agreement) to 5 (total disagreement). Respondents also have the option of saying, “Do not know”. When calculating, the “Do not know” responses were treated as missing values. Data from Likert scales were treated as interval data.

Secondary outcomes. Secondary outcomes were perceptions of IDB use in terms of acceptability, traumatism (pain, iatrogenia, sensibility) and efficacy, rated with Likert scales scored from 1 (very good) to 5 (very bad). This 3 criteria have priority to ensure the patient’s engagement [14–16]. The latter requires the practice of the good hygiene methods taught on the disorganization of the interdental biofilm and use of the material recommended by the practitioner. These were assessed in IDB users only. Student recommendations of IDB use to their community (T1 to T4) and prescription to their patients (T4) were also appraised. Lastly, students reported their perception of their interdental bleeding, perceived bleeding reduction (Likert scale scored from 1: “Often” to 4: “Never”) and health outcome, which was the percentage of bleeding interdental sites for each student.

Collection of data

At the beginning of each session (T1, T2, T3, T4), a questionnaire (S2 Material) was given to students. Afterwards, students underwent oral examinations by 2 examiners to determine the percentages of bleeding interdental sites. The Bleeding on Interdental Brushing Index was recorded, as was the bleeding response to the horizontal pressure applied in the interdental

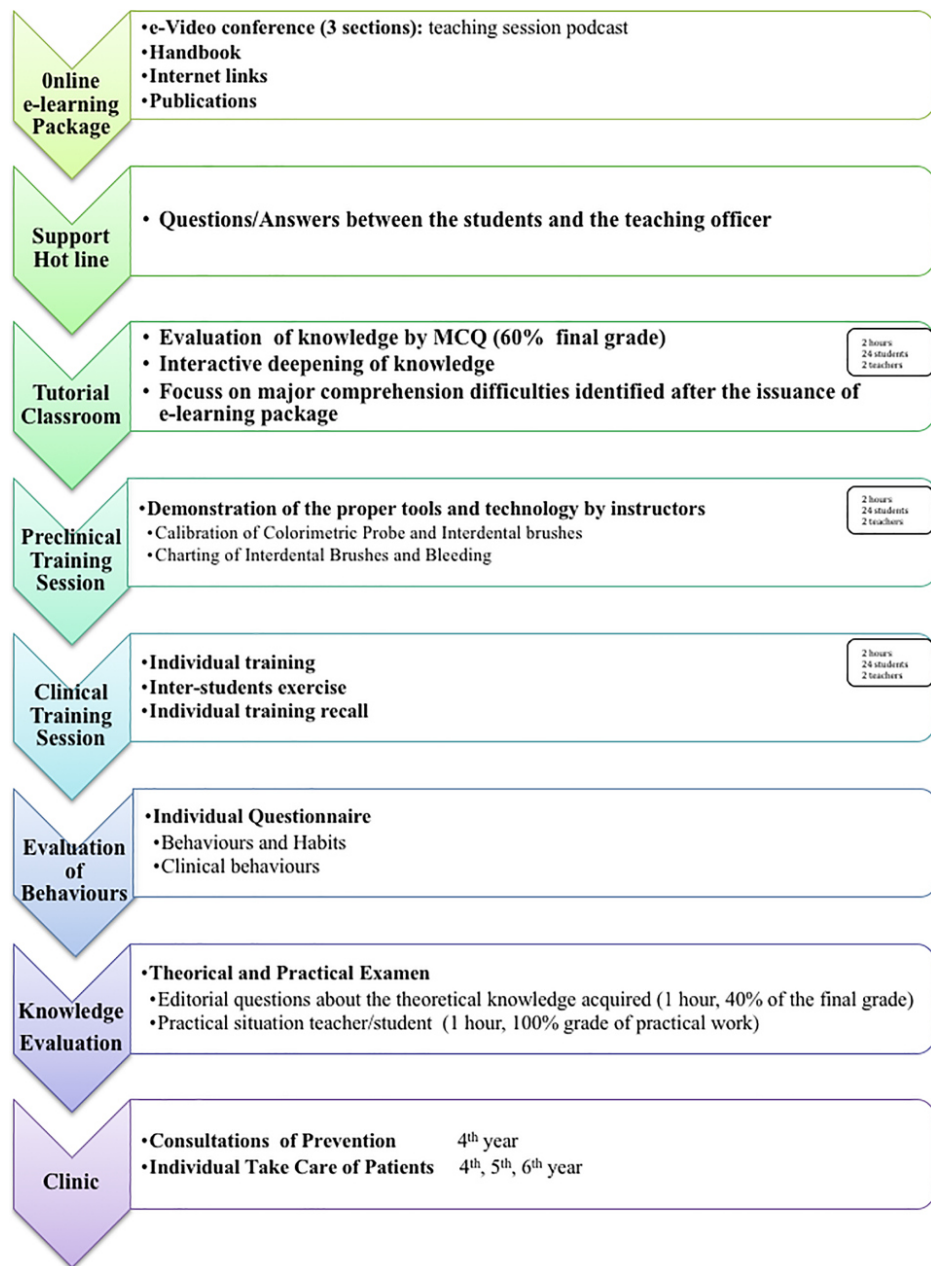


Fig 1. Workflow of the evaluation.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204564.g001>

Table 1. Description of the successive steps of the curriculum.

PRELIMINARY DIDACTIC AND PRECLINICAL PHASES (1–3)		
Steps	Learning objectives	Contents
<p>Provision of the online e-learning tutorial (1) E-learning package sent to students via email</p>	<ul style="list-style-type: none"> To describe the current concept of prophylaxis given the complexity of the interdental biofilm and its effect on systemic health To propose criteria for the proper choice of interdental techniques 	<ul style="list-style-type: none"> E-video conference sequenced into 3 20-minute chapters: <ol style="list-style-type: none"> Individual prophylaxis and biofilm disorganization; Biofilm: Tools and Methods of disorganization; Biofilm: Interdental spaces, Bacteria and Bleeding A handbook to assess the interdental spaces with case studies, open questions and appropriate iconography Internet links to analyze advertisements and/or interdental techniques Recommendations of publications supporting the scientific rationale of the prophylactic concept E-Learning module: Over 15 days, each student could ask the teaching supervisor via an online forum about issues or topics
<p>Organization of the tutorial classroom (2) Directed teaching of 2 hours in groups of 24 students</p>	<ul style="list-style-type: none"> To describe and demonstrate basic concepts of biofilm technology To identify technical innovations that meet the criteria for technical feasibility, cost, and individual desirability/usability of an interdental prophylaxis technology To formulate qualitative questions that connect the fundamentals to clinical innovation objectives 	<ul style="list-style-type: none"> Prior learning assessment by multiple-choice questions (MCQs) with a voting box Interactive deepening of knowledge related to the learning objectives Session restricted to major comprehension difficulties identified after the issuance of the e-learning package
<p>Advanced preclinical training session on interdental oral prophylaxis practices (3) IAP colorimetric probe with a color code provided to students Sessions organized by 2 highly experienced instructors in groups of 24 students</p>	<ul style="list-style-type: none"> To explain the rationale for evaluating the access diameter of the interdental spaces. To demonstrate how to use the right interdental brush in clinical practice To estimate how to record interdental bleeding in clinical practice 	<ul style="list-style-type: none"> Students received a package including: <ul style="list-style-type: none"> an IAP colorimetric probe to evaluate an access diameter defined by the gauge of the wire core CURAL as 5 cylindrical CPS IDBs (Curaprox CPS, Curaden International AG, Kriens, Switzerland) (S1 Fig). a color code related to the size of the brush and screening cards Demonstration to the students by instructors about proper tools and technology
PRACTICAL CLINICAL PHASE (4) AND MAINTENANCE PHASE (5)		
Steps	Learning objectives	Contents
<p>Clinical training session (4) . Interproximal Clinical Examination . Training clinical session Session organized by 2 highly experienced instructors in groups of 24 students</p>	<ul style="list-style-type: none"> Organize clinical sequences for students to take control of their oral health to disrupt the biofilm of the interdental spaces with personal acquisition of the prophylaxis technique Assess their bleeding gingival score 	<ul style="list-style-type: none"> The Interproximal Clinical Examination, a scoring method including the classification of the access diameter for interdental space, and the internal validity of the examiners to record bleeding conditions were described in detail in «<i>Access to Interdental Brushing in Periodontal Healthy Young Adults: A Cross-Sectional Study</i>» (4) Individual training session with the correction of the interdental prophylaxis technique, if necessary Inter-students exercise with rotation (Patient/Student/Assistant Secretary) Recommendations on how to implement the “Touch to teach interdental students’ training”, in terms of the method of education and communication, were individually installed. In the Touch-to-Teach method, the student partner holds his colleague’s interdental toothbrush. Through hands-on training on the use of selected tools and techniques, he can better know, have a better idea of where and how the IDB cleans. The student-patient is guided and accompanied in his gesture by the instructor. He also learns to recalibrate several times in his technique so as not to use excessive pressure. It covers a non-traumatic way of learning good oral care. Training follows this instruction on the clinical use of the colorimetric probe to assess the diameter of each interdental site. The record charting includes for each site the interdental diameter and bleeding score
<p>Recall clinical training sessions (5) at: • 1 week (T1) • 1 month (T2) • 3 months (T3) • 1 year (T4)</p>	<ul style="list-style-type: none"> To assess the effect of a preventive recall strategy on changes in behaviors and attitude level over time at post- and recall visits To reinforce self-care instructions and compliance 	<ul style="list-style-type: none"> Sessions included repetition of practical hand, re-motivation, error management, re-calibration, and evaluation of clinical performance based on the evolution of the bleeding score At the end of the sessions, students had a new IDB kit available with the opportunity to receive free additional brushes in case they were needed between each individual recall

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204564.t001>

area by a calibrated IDB [17]. After 30 s, bleeding at each gingival unit was recorded according to the following scale: 0, absence of bleeding after 30 s; and 1, bleeding after 30 s [18]. A gold standard examiner (DB), specialist in epidemiology, and with vast experience in screening, led calibration stages including the record of baseline characteristics. The 2 examiners obtained a minimum kappa value of 0.84 compared to the gold standard examiner. The questionnaire was also evaluated through a convenience sample from dental students ($N = 28$). Interexaminer concordance was also good, as the kappa coefficient was higher than 0.76 for the majority of items (range: 0.68 to 0.95).

Statistical analysis

After a preliminary description of the characteristics of the students, the changes were assessed for each outcome between the different time-points following the curriculum from T1 to T4, using both global and pair-wise comparisons. As no student used IDB before the curriculum, the baseline period was not considered. Then, linear regression models were conducted for each quantitative outcome to determine the potential influence of factors measured at baseline before implementing the curriculum IDB use at the preceding time-point, gender, tobacco use and percentage of bleeding sites at baseline. All factors were forced in the different models. Linear regression models were conducted for each quantitative outcome variable (and at each time-period) to determine the association with some baseline factors: sex, tobacco and bleeding, together with IDB-use in that time-period (for example, for acceptability at 1-month, IDB-use were tested in the time-period between 1-week and 1-month, etc). Those factors were forced, for being potentially confounding factors. We did not statistically test the assumptions (linearity, homocedascity and normality), of those regression models, for the high risk of multiple testing (many regression models) and for this technique (linear regression), as it is well-known, being very robust. Instead, we decided "a visu", looking at the residuals distributions graphs looking for outliers or high deviations that could affect this robust technique. No problem was found for applying the models. Furthermore, as a further checking, we did not find in the distribution of the studied variables any atypical value separated more than 3 times the interquartile range, from Q1 (first quartile) or Q3 (third quartile).

SPSS Windows 20.0 (IBM, Chicago, IL, USA) was used for the descriptive statistics (mean values with SD and percentages) and analytical statistics (p-values calculation) in those analyses with the student as the unit of analysis. Models (binary logistic regression) for dichotomous variables were used. SUDAAN 7.0 (Research Triangle Institute, Research Triangle Park, NC) was used for analytical purposes (P value calculation) to make use of all available data in those repeated measurements situations (see Table's footnotes). SUDAAN enables to obtain, after the application of the Taylor series method [19], consistent estimates of standard errors for cluster-correlated or repeated measurements data. The detailed statistical methods are indicated in the table footnotes. All data were considered statistically significant when $p < 0.05$.

Results

Baseline characteristics

All 96 third-year students completed the survey. Of these students, 43.8% were female and 56.3% were male; 24% used tobacco. Their average age was 21.6 ± 2.1 years. All reported brushing their teeth at least twice per day. No subject reported experience with the use of dental floss and/or the use of interdental brushes.

The mean number of teeth was 29.0 ± 1.3 . Missing teeth were due to orthodontic extractions (2.8%) and absence of the third molars (97.2%). As far as clinically visible, all participants were free of active caries and interproximal caries.

In the study, $40.5 \pm 25.1\%$ of the interdental sites had bleeding and 100% of students had access to IDBs. IDBs can penetrate in 94.5% of interdental spaces with 80.4% indicating brushes with a small diameter (0.6–0.7 mm).

Changes in interdental hygiene behavior

One week after baseline, 89.6% of subjects reported using interdental brushes. Individual use decreased significantly from 1 week to 1 month (percentage change -26.1 , $p = 0.006$), while a non-significant upward-trend appeared from 1 month to 3 months following baseline (percent change $+9.40$, $p = 0.06$). In contrast, IBD use markedly decreased at one year. The effect for the 1-year (48 to 52 weeks) time point differs significantly and converts back to a 52.1% reduction. A total of 50 out of 70 students who reported using IDB at 3 months reported stopping at the twelfth month (Table 2).

Self-reported frequency of IDB use

The answers related to the question “how many times do you use an IDB” demonstrated considerable heterogeneity ($p < 0.001$). Of the 20.8% of students who reported using the brushes at T4, 10.0% used them daily. Among IDB users, a significant downward trend in daily use was observed from T1 (32.6%) to T2 (11.5%) and T3 (11.4%) before increasing at T4.

Knowledge, perceived barriers and facilitators of IDB use

The perceived acceptability, perception of pain and bleeding of the students during the 3 periods are described in Table 2.

Accessibility is perceived as globally satisfactory for all periods. The 66 students who stopped using IDBs between the 3rd month and 12th month did not consider the purchase price of IDBs in the 4th year of study as an essential explanatory model with an average score of 3.05 ± 1.30 on a scale of 5. The discomfort experienced with the use of IDBs is constant across all controlled periods with constant values close to 2, indicating an immediate mean negative perception.

Perception of interdental brushes

Table 2 shows that the participants’ overall impression of “Acceptability, Traumatism and Perceived efficacy” was positive. The acceptability of the students has demonstrated a constant trend according to the study periods, with a level that was globally qualified as average. The same applies to “Traumatism”. The perception of efficacy is overall very good, except at 3 months, where 70 students still report using IDBs.

Link between self-reported application of IDB and recommendation to others

During the 3rd preclinical year, most students would recommend the program to other people (69.8% at T1 and T2), reaching 50% at T3. The average number of individuals reached by students is similar regardless of their membership in non-users group compared to users group except at T2. More importantly, a dramatic increase in the percentage of students either recommending IDBs to relatives or prescribing them to their patients was observed at T4 (Table 2).

The average numbers of individuals who received information from students were 2.83 ± 2.98 (T0 = T1) and 1.60 ± 2.23 (T2, $p < 0.01$). The rate of recommendation is similar

Table 2. Change over time of indicators in dental students (n = 96).

Variable	1 week [T1]		1 month [T2]		3 months [T3]		1 year [T4]		Global p-value	Paired Comparisons ⁱ
	n	value	n	value	n	value	n	value		
Use (% of all categories) of IDB (last period) ^a	96	10-6-6-29-20-25-3	96	36-6-13-25-12-7-0	96	27-5-28-20-11-8-0	96	79-3-9-4-2-2-0	<0.001 ^c	T1≠T2T3≠T4 ^j
Detail of Non-Users/Users (last period), n (%)									<0.001 ^f	T1≠ T2 T3≠ T4 ^k
No	10	(10.4)	35	(36.5)	26	(27.1)	76	(79.2)		
Yes	86	(89.6)	61	(63.5)	70	(72.9)	20	(20.8)		
Reason for not using IDB, mean±sd [IDB-non-users] (Likert scale 1 = total agree to 5 = total disagree)										
Motivation (Determination)	10	1.80±0.92	26	2.27±1.25	24	1.96±1.08	67	3.61±1.03	<0.001 ^g	*
Ability to use IDB	10	3.80±0.63	24	3.96±0.91	19	4.11±0.57	68	3.13±1.17	<0.001 ^g	*
Accessibility problem	9	2.78±1.39	24	3.08±1.25	19	3.00±0.94	66	2.82±1.16	0.583 ^g	*
Pain	10	2.30±1.34	25	2.68±1.49	21	2.14±0.91	67	2.87±1.27	0.018 ^g	*
Bleeding	10	2.70±1.49	25	2.76±1.48	21	2.10±0.89	67	3.09±1.22	<0.001 ^g	*
Too uncomfortable	10	2.20±1.14	25	2.28±1.31	22	2.00±0.93	67	2.16±1.07	0.715 ^g	*
Cost		-		-		-	62	3.05±1.30	-	
Evaluation of IDB, mean±sd [IDB-users] (Likert scale 1 = very good to 5 = very bad)										
Acceptability	86	2.27±0.87	61	2.10±0.75	70	2.19±0.79	20	2.15±0.75	0.153 ^g	-
Traumatism (sensitivity, pain, iatrogenia)	86	2.85±1.00	61	2.62±0.90	70	2.63±0.84	20	2.40±0.75	0.013 ^g	T1≠T2 ^l
Perceived efficacy	86	1.63±0.67	60	1.53±0.65	70	1.97±1.02	19	1.79±0.63	0.006 ^g	T1T2≠T3 ^l
Have you recommended IDB use?, valid total n (% Yes)										
All	96	(69.8)	96	(69.8)	96	(50.0)	96	(90.6)	<0.001 ^f	T1T2≠T3≠T4 ^k
IDB-non-users	10	(40.0)	35	(57.1)	26	(46.2)	76	(88.2)	<0.001 ^h	T2T3≠T4 ⁿ
IDB-users	86	(73.3)	61	(77.0)	70	(51.4)	20	(100)	<0.001 ^h	T1T2≠T3≠T4 ⁿ
p-value ^b		0.062		0.070		0.818		0.197		
How many people ^e have you recommended IDB use?, mean±sd										
All	96	2.83±2.98	96	2.83±2.98	96	1.60±2.23	96	11.50±15.30	<0.001 ^c	T1T2≠T3≠T4 ^m
IDB-non-users	10	1.70±3.16	35	1.99±2.57	26	1.50±2.34	76	11.18±16.25	<0.001 ^c	T1T2T3≠T4 ^l
IDB-users	86	2.96±2.95	61	3.31±3.10	70	1.64±2.21	20	12.80±11.30	<0.001 ^c	T1T2≠T3≠T4 ^l
p-value ^d		0.204		0.033		0.779		0.680		

a: It includes percentages with no decimals, for categories: No;Less-1/week;1/3 days;1/2 days;1/day;More. I.e., at T1 (1 week), the percentages were, respectively: 10% (no brush), 6% (less frequency than 1/week), etc. Last period refers to the immediately previous period, i.e., between 1 week and 1 month for T2

b: Chi square with continuity correction or bilateral Fisher exact test (SPSS)

c: Recommendation to relatives [T1-T4] or prescriptions to patients [4]

d: Student t-test (SPSS)

e: Friedman test (SPSS)

f: Cochran test (SPSS)

g: ANOVA test with REGRESS procedure in SUDAAN 7.0 to make use of all data (patients with or without repeated measures)

h: LOGISTIC procedure in SUDAAN 7.0

i: Paired comparisons are calculated only if Global p-value is <0.05. The symbol "≠" means p<0.05. For example, for the first line, "T1≠T2T3≠T4" means that the "Use (% of all categories) of IDB (last period)" is significantly different (p<0.05, after Bonferroni's correction for 6 comparison, i.e., an uncorrected p-value of 0.0085) between 1 week and rest or time-point, but is not different between 1 month and 3 months, and so on

j: Wilcoxon test for paired samples (SPSS)

k: McNemar test (SPSS)

l: t-test with DESCRIPT procedure in SUDAAN 7.0

m: t-test for paired samples (SPSS)

n: chi-square with CROSSTAB procedure in SUDAAN 7.0.

*Not analyzed because the number of data is too low.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204564.t002>

between the users vs. non-users groups, except at 1 month (T1), where the rate is 1.66 times higher for the users group.

At 1 year, the data are significantly different. The percentage of recommendation increased by 200%, with an average number of patients of 11.5 ± 15.3 per student. The focus of the students was on application in clinical practice with homogenization of prescriptions depending on whether they personally used IDBs ($p = 0.680$).

Perceived bleeding and clinical bleeding

The interdental brushing reduced interdental bleeding at one week compared with tooth brushing alone at baseline. A reduction of observed bleeding of 48.6% during the first week was observed in the study population (mean change from 40.5 ± 25.1 at T0 (data not shown) vs. 19.7 ± 17.7 to T1, $p < 0.001$). The effects for the 1-month and 3-month time points do not significantly differ, with a stabilization of the bleeding per student around 20% (Table 3).

Almost all the subjects, at any point in the study, perceived bleeding. The perception of the amount of bleeding increased with time (1.78 (T1) and 2.39 (T4)). This result is correlated with the percentage of the number of sites bleeding (T1 = T2 = T3 vs. T4: 33.9 ± 25.5 ; $p < 0.001$).

Table 3. Bleeding in dental students (n = 96).

Variable	1 week [T1]		1 month [T2]		3 months [T3]		1 year [T4]		Global p-value	Paired comparisons ^f
	n	value	n	value	n	value	n	value		
Perceived bleeding, valid total n (% Yes)										
All	96	(96.9)	96	(79.2)	96	(85.4)	89	(94.4)	<0.001 ^c	T1T4≠T2T3 ^g
IDB-non-users	10	(70.0)	35	(82.9)	26	(100)	70	(95.7)	<0.001 ^c	T2≠T3 ^g
IDB-users	86	(100)	61	(77.0)	70	(80.0)	19	(89.5)	<0.001 ^c	T1≠T2T3 ^g
p-value ^a		<0.001		0.679		0.010		0.289		
Perceived bleeding reduction, mean±sd										
(Likert scale 1 = many times to 4 = never)										
All	89	1.78±0.89	75	2.23±1.09	75	2.13±0.96	71	2.39±1.09	<0.001 ^d	T1≠T2T3T4 ^h
IDB-non-users	5	3.40±0.89	25	3.04±1.06	18	2.67±0.77	56	2.61±1.11	0.085 ^d	*
IDB-users	84	1.68±0.79	50	1.82±0.85	57	1.96±0.96	15	1.60±0.51	0.116 ^d	*
p-value ^b		<0.001		<0.001		0.006		0.001		
Bleeding (% of sites), mean±sd										
All	96	19.7±17.7	96	23.4±21.6	96	21.7±24.6	96	33.9±25.5	<0.001 ^e	T1T2T3≠T4 ⁱ
IDB-non-users	10	31.9±22.3	35	37.1±25.2	26	39.5±27.7	76	38.0±25.0	0.809 ^d	*
IDB-users	86	18.3±16.7	61	15.6±14.5	70	15.1±19.8	20	18.5±21.5	0.580 ^d	*
p-value ^b		0.020		<0.001		<0.001		0.002		

a: Chi square with continuity correction or bilateral Fisher exact test (SPSS)

b: Student t-test (SPSS)

c: LOGISTIC procedure in SUDAAN 7.0 to make use of all data (patients with or without repeated measures)

d: ANOVA test with REGRESS procedure in SUDAAN 7.0

e: Friedman test (SPSS)

f: Paired comparisons are calculated only if Global p-value is <0.05. The symbol "≠" means $p < 0.05$. For example, for the first line, "T1T4≠T2T3" means that the "Perceived bleeding % Yes" is significantly different ($p < 0.05$, after Bonferroni's correction for 6 comparison, i.e., an uncorrected p-value of 0.0085) between 1 week and 1 month, compared to 3 months and 1 year

g: chi-square with CROSSTAB procedure in SUDAAN 7.0

h: t-test with DESCRIPT procedure in SUDAAN 7.0

i: t-test for paired samples (SPSS).

*Not analyzed because the number of data is too low.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204564.t003>

The median students' scores of the perceived bleeding reduction on a 4-point Likert scale (1 = many times to 4 = never) were statistically significant according to the recall period (Table 3).

Need, perception and change in student interdental bleeding over time

The prevalence of interdental sites with bleeding significantly decreased in one week to over 3 months before increasing significantly after one year. IDB-users and IDB-non-users have significantly different trends, regardless of the period under study. In all cases, the use of IDBs is accompanied by a significantly greater reduction the score acquired in the first week (18.3 ± 16.7). IDB-non-users have a similar bleeding index between periods ($p = 0.809$), with a bleeding ratio that is approximately 2 times greater than the users group.

Perceived bleeding changes significantly depending on the periods of recall. T2 and T3 require more time for the students to declare a lower perception of bleeding, which is still high (79.2 vs. 85.4; $p > 0.05$). However, the perception of bleeding increases during the period from T3-T4 to a level similar to that observed on the initial date T1 (94.4 vs. 96.9; $p > 0.05$). The perception of bleeding is similar between the 2 groups, except at 1 week, which is when 100% of users reported bleeding ($p < 0.001$).

Perceived bleeding reduction on a Likert scale from 1 to 4 favors IDB-users, with a median score that fluctuates approximately 2.8 vs. 1.7 for the non-users group ($p < 0.006$). Both groups had a slight decrease in bleeding perception at the end of the study, and there was a significant difference between the user vs. non-user groups (2.61 ± 1.11 vs. 1.60 ± 0.51 ; $p < 0.001$).

The "Use of IDBs" is associated to the perception of the effectiveness of IDBs at all periods. Those using IDBs perceived the brushes as more effective in terms of the perception of bleeding reduction (at all periods analyzed, better perception of reduction of bleeding in users of brushes) as well as in terms of the objective reduction in bleeding (reduction of bleeding is higher in users) (Table 4).

Discussion

To the best of our knowledge, this study is the first to report on an objective assessment of prophylaxis interdental biofilm interventions in a dental education setting. It also evaluated the consistency of the module in terms of its effectiveness on knowledge and attitudes relevant to the clinical practice of students as well as the content validity of the information. The major teaching objective of the IIOPEP was to promote the daily use of calibrated interdental brushes to disturb biofilms from adolescents to seniors without periodontal diseases using an assimilated technique. Our goal is also to make students aware that the daily use of IDBs has the same clinical value and logic as the use of a toothbrush.

After a highly satisfactory acceptance, a marked decrease of IDB users was observed among students in the aftermath of the curriculum until the 12th month (89.6% to 20.8%). In parallel, an inverse trend was observed for the percentage of student interdental bleeding sites, with marked differences between IDB users and non-users. Conversely, the percentage of students who recommended or prescribed IDB dramatically increased at the 12th month, with a percentage exceeding 90%.

Practical and clinical significance of the findings

Why is there a steady decrease of IDB use?. The persistence of students in IDB use at 3 months could be estimated as moderate. If the initial acceptance by students was considered satisfactory and the duration as moderate, a specific effort must be undertaken for IDB adherence. The initial acceptance of the procedure by the students clearly indicates that there were

Table 4. Models^a (linear regression) for quantitative variables in dental students (n = 96).

	n	Factors				Adjusted R ²
		IDB use ^b β±se	Female β±se	Tobacco β±se	Baseline bleeding β±se	
Acceptability of IDB						
1 week	86	-0.50±0.36	-0.16±0.19	-0.11±0.23	-0.01±0.00	0.08
1 month ^c	61	-0.67±0.18*	-0.16±0.18	-0.22±0.22	-0.01±0.00*	0.19
3 months ^c	70	-0.86±0.21*	0.00±0.19	-0.26±0.22	0.00±0.00	0.18
1 year ^c	20	-0.64±0.26*	-0.13±0.21	0.05±0.25	-0.01±0.00	0.09
Traum.(sensib. etc) of IDB						
1 week	86	-0.71±0.42	0.17±0.22	-0.26±0.27	-0.00±0.00	0.08
1 month ^c	61	-0.89±0.21*	0.18±0.20	-0.41±0.25	-0.01±0.00	0.21
3 months ^c	70	-0.90±0.21*	0.14±0.19	-0.37±0.22	-0.00±0.00	0.22
1 year ^c	20	-0.61±0.27*	-0.16±0.21	-0.06±0.25	0.00±0.00	0.13
Perceived efficacy of IDB						
1 week	86	-0.55±0.28*	0.26±0.15	0.00±0.18	0.00±0.00	0.12
1 month ^c	61	-0.37±0.15*	0.29±0.15*	-0.07±0.18	0.00±0.00	0.14
3 months ^c	70	-0.56±0.26*	0.25±0.23	-0.04±0.27	0.00±0.00	0.08
1 year ^c	19	-0.15±0.20	-0.07±0.16	-0.06±0.18	0.00±0.00	0.11
# people recomm. for IDB^d						
1 week	96	1.71±1.02	-0.52±0.62	1.08±0.74	-0.01±0.01	0.10
1 month ^c	96	1.52±0.63*	-0.55±0.61	1.27±0.73	-0.01±0.01	0.13
3 months ^c	96	0.20±0.54	0.68±0.48	0.87±0.56	-0.01±0.01	0.09
1 year ^c	96	1.66±4.06	-4.05±3.24	5.07±3.84	0.12±0.06	0.08
Perceived bleeding reduction						
1 week	96	-1.53±0.38*	-0.15±0.18	-0.12±0.21	0.00±0.00	0.28
1 month ^c	96	-1.24±0.23*	-0.06±0.22	-0.54±0.27*	0.00±0.00	0.37
3 months ^c	96	-0.70±0.27*	0.02±0.23	-0.08±0.28	0.00±0.00	0.11
1 year ^c	89	-0.89±0.32*	0.36±0.25	-0.12±0.30	0.00±0.01	0.20
Bleeding (% of sites)						
1 week	96	-14.98±5.68*	-2.23±3.45	-3.73±4.09	0.26±0.07*	0.22
1 month ^c	96	-21.12±3.93*	0.02±3.83	-2.64±4.59	0.27±0.07*	0.35
3 months ^c	96	-24.98±5.05*	1.32±4.49	0.82±5.27	0.25±0.09*	0.34
1 year ^c	96	-12.87±5.89*	7.21±4.70	2.15±5.57	0.43±0.09*	0.30

*p<0.05.

a: All potential predictor variables are forced into the models. In no case, the correlation between variables was higher than 0.75, indicating no collinearity effects.

b: IDB use at each time period expressed in the line.

c: Conclusions from these models should be taken with care due to missing values.

d: Recommendation to relatives (T1-T4) or prescriptions to patients (T4).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204564.t004>

two distinct groups at the 1st control (7 days), users (89.6%) and non-users (10.4%), without identifying the factors that optimize the commitment of undergraduate students to interdental oral prophylaxis learning.

After a high acceptance rate (89.6%) at the 7th day, the significant decrease observed over time could be explained by a limited perceived need of IDB use in this young and healthy student population. Young people, even in dental medicine, could be less sensitized to personal health problems and self-prevention. The absence of recalls during the last 9 months of follow-up could have contributed to the interruption of use. In addition, the program may have been

primarily perceived solely as an encouragement to prescribe IDB to patients rather than for self-use. The reasons for student non-use primarily suggested a decrease in motivation to use IDB at the 12th month. Furthermore, the accessibility, ability to procure calibrated IDBs during the training and assessment year, is perceived as globally satisfactory. The brushes were made available free of charge from T0 to T3 as part of the module; then, in the next year study's time-course, students must finance the purchase of the brushes and obtain them via the traditional distribution networks (Internet, Pharmacy, or Student association). The variations of distributions of the different likert-scales should be explored to identify potential sub-groups of students encountering specific barriers to use.

Recommendation of IDB to relatives or prescription to patients. Conversely, the percentage of students who recommended or prescribed IDB dramatically increased at the 12th month. This increase suggests that this goal of the curriculum was satisfactorily achieved, with no difference according to student self-use. This achievement could be explained by the fact that 4th year students of dental medicine are able to prescribe IDB to patients.

Strengths and limitations

What does the curriculum add? Prescription of IDBs to adults with a healthy periodontium is generally not integrated into the clinical curriculum of the students. Novel content can introduce a surprising or unusual experience, creating a discrepancy in the mind of the student, which can result in short-term arousal of interest to resolve the discrepancy [13]. Similarly, introducing a new concept that demands daily personal investment by students, while challenging at least a 15-year history of exclusive tooth brushing practices, can be considered an "aggressive measure". The option chosen in the IIOPEP was to give the students the opportunity to increase the perception of their competence on all behavioral aspects as early as possible in the dental curriculum. Content based on individual clinical practices should be relevant and useful to the student in daily life [20].

The training emphasis on oral health education with interdental cleaning for the oral health care provider, as well as on the system that governs the practice approach that supports the preventive approach in managing chronic oral disease, can play a major role in facilitating improvement [4]. Healthy young adults who are training to be future oral health professionals must perform the interventions that they will recommend to their future patients as part of oral prophylaxis [21]. Introducing this module into the curriculum will have a large clinical effectiveness on preventive strategies because students who have acquired knowledge and clinical practice on this topic will be able to efficiently manage the discrepancies in the interdental biofilm of their future patients.

Another pivotal and original aspect of our approach was the long-term assessment of the curricular effect on the self-behavior and practice of the students, which suggested the need to implement corrective actions.

Motivation of the students. Because none of the students had previous experience with IDBs, their response to the training reflected their ability to learn and apply the content. However, student motivation is not an isolated concept [22]. Motivation in the classroom is a function of the following five components: the student, teacher, content, method/process, and environment. Aspects of any of these five components could contribute to and/or hinder motivation [20,23]. For example, it is crucial for the team of teachers to be seen as approachable and willing to engage with students both in class and on a one-on-one basis [24]. In our evaluation, the "teacher" component was not considered.

Pedagogy. Our method of teaching, based on the principle of reversed pedagogy, is not considered in this study as an adjustment variable. The format used here provided more

opportunities for students to engage in critical thinking, independently facilitate their own learning, and effectively interact with and learn from their peers [25].

Factual knowledge is a prerequisite for effective problem solving. However, 'in real professional practice, factual knowledge is mostly not a goal itself, but only a single aspect of solving professional problems'. Miller describes four levels of assessment: knows, knows how, shows how (competence), and does (performance) [26]. The use of multiple assessment instruments enhances both validity and reliability of results [27]. The students also perceive more satisfaction and motivation with the use of multiple assessment instruments than with the use of a single instrument [28]. Suitability of the assessment instrument(s) can be determined by relating the objectives or outcomes assessed to the different levels of Miller's pyramid [29].

Our research in dental education presents extensive training in instructional methods, performance assessment, learning theory and topics in oral prophylaxis education. When clinical problem solving is the level of competence that is required in our specific curriculum, problem-based learning is used as the main method of teaching. The purpose of our course was demonstrated by the time allocated to each topic in teaching; and the level of thinking and competence/performance encouraged by the course objectives. For example, in our prophylaxis module, the curriculum expects the students to solve or prevent clinical problems related to interdental biofilm disorders, which they meet at first contact level.

This publication serves as a reference for dental schools wishing to implement a similar model in their teaching. One of the major difficulties, except in regard to theory, is to provide students clinical skills that are standardized and reproducible. This curriculum should introduce an innovative method to help maintain clinically healthy adults in good oral health, prevent periodontal disease and reduce the risk of systemic diseases. It answers the classic question in medical education: How to transform cutting-edge technologies scientifically proven into clinical competence and action.

The generalization of the study findings is extended by the recommendation of the implementation of an integrated program in oral prophylaxis including brushing technique skills and the clinical skills of daily using interdental brushes in healthcare delivery. This last point is innovative. Our study shows that this training protocol has the capacity, with certain reservations identified, to impact the behavior and actions of future dentists. Educate the next generation of dentists reasoning not in terms of knowledge but in terms of skills and performance, which will need to be fluent in these transformative technology, is essential in the current context of oral health as a major contributor to the global burden of disease and the focus on individual actions to support their health by the people. They will be well skilled and motivated practitioners to educate their patients for oral prophylaxis, prophylaxis they apply to themselves, and to ensure that all patients are able to perform optimal plaque removal.

At least, through these results and this publication, we hope to inform on the fundamental role of advanced prophylaxis in precision medicine and to integrate in their research opportunities this component likely to disturb the interdental microbiota and significantly reduce virulent pathogens as well as gingival bleeding.

Main limitation. Our study lacked a control group. There is minimal scientific evidence on patient behavior, patient communication, patient education and methods to support patients in developing effective oral self-care habits [30]. Students are more likely to be intrinsically motivated if they can develop a sense of competence within their education [31,32]. Little attention has been given to exploring whether students' own competency assessments can be used to predict their clinical performance [33]. The fourth-year clinical phase of the dental program depends on performance in the third-year clinical courses. Therefore, there is a memory effect of the pre-clinical training with a positive projection on new patients, which is independent of the student's individual care of his own oral interdental hygiene.

A further limitation derived from the design of this study is, when interpreting regression analysis, is that they refer to relations between variables, but one should be cautious regarding causality conclusions. One point to emphasize is the lack of qualitatively-driven input from the students, based on their experiences in this study. The assessment of teaching for all the subjects of the faculty is carried out by an independent organization with students and teachers for which the results are globalized. The only objective criterion in our possession was a request from 2nd year students to advance this training by one year in order to benefit from it as soon as possible.

Implications

Our study has implications. We have highlighted a dramatic decrease of IDB use in a well-educated population of dental students. Thus, worse results could be expected in the general population in similar age groups.

How to encourage IDB self-use. First, a more adapted temporality of recalls should be considered. Repeated and individualized oral hygiene instructions are important components of preventive programs [34]. Although the cohort of students who had fast enrollment at 1 week had relatively stable behaviors at 1 month and 3 months, long-term persistence in terms of use of interdental prophylaxis remains an issue. Corrective actions should be implemented to optimize the precision, content and delay of recall. The selection of an appropriate **recall interval** is a multifaceted clinical decision that is difficult, if not impossible, to mechanistically evaluate [35]. Evidence for a specific recall interval for all patients in oral prophylaxis is weak [36]. Regarding oral hygiene, no published randomized controlled trials were found on this subject.

Understanding the reasons of non-use by students. The corrective measures of the individual, considering specific management of non-acceptance, should be put in place. Communication should be tailored to the needs of the users through diagnosis and risk profiling [37]. Qualitative studies are also needed to better understand the reasons of non-adherence.

Benefit of IDB use. Daily use of IDB can significantly reduce interproximal bleeding with an overall preventive fraction of 46% at one week and 72% at 3 months [11]. There is a need to communicate the critical importance of gingival bleeding as an early sign of disease to the students [38]. In our study, the motivations are clearly related to the awareness of the effectiveness of brushes and the perception of bleeding reduction. Oral hygiene-related self-efficacy influences oral hygiene behavior and has the potential to predict oral hygiene outcomes of patients [39]. Motivation and needs are interrelated because the motivation necessary to change a behavior often results when a need is unmet or not satisfied.

A wider dissemination of the curriculum is also desirable, notably to dentists and pharmacists, to better disseminate the preventive message.

Conclusions

The newly developed and applied curriculum has a positive effect on the interdental hygiene practices of the dental students using IDBs. After the curriculum, more students recommend IDBs to more people despite the fact that only a small number of students continuously use interproximal devices. Motivation to use IDBs is related to the perception of the effectiveness of brushes and the perception of bleeding reduction. Introducing this module into the dental curriculum for pre-clinical students will have a large clinical effectiveness in preventive strategies because the knowledge, skills and clinical practice will enable students to efficiently manage the interdental biofilms of their future patients. At this stage of our experience, we

recommend the use of the module on interdental hygiene practices in the oral health curriculum of dental faculties.

Supporting information

S1 Fig. Interdental spaces, colorimetric probe and interdental brushes.

(PDF)

S1 Material. Regulation, french health procedure code.

(DOCX)

S2 Material. Translated core questionnaire session 1, 2, 3, 4.

(DOCX)

S3 Material. Database.

(XLSM)

Acknowledgments

The authors convey their sincere thanks to Dr. Sedelmayer, the originator of the Educational System—Individually Trained Oral Prophylaxis “ITOP”, for his valuable advice in the development of the module.

Author Contributions

Conceptualization: Denis Bourgeois, Florence Carrouel.

Formal analysis: Juan Carlos Llodra, Manuel Bravo, Stéphane Viennot.

Investigation: Denis Bourgeois, Ina Saliassi, Florence Carrouel.

Methodology: Claude Dussart, Delphine Tardivo, Bruno Foti.

Project administration: Laurent Laforest.

Writing – original draft: Denis Bourgeois, Florence Carrouel.

References

1. Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabé E, Flaxman A, Naghavi M, Lopez A, et al. Global burden of oral conditions in 1990–2010: a systematic analysis. *J Dent Res*. 2013; 92: 592–597. <https://doi.org/10.1177/0022034513490168> PMID: 23720570
2. Petersen PE, Ogawa H. The global burden of periodontal disease: towards integration with chronic disease prevention and control. *Periodontol 2000*. 2012; 60:15–39. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2011.00425.x> PMID: 22909104
3. Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol*. 2012; 27:409–419. <https://doi.org/10.1111/j.2041-1014.2012.00663.x> PMID: 23134607
4. Carrouel F, Llodra JC, Viennot S, Santamaria J, Bravo M, Bourgeois D. Access to Interdental Brushing in Periodontal Healthy Young Adults: A Cross-Sectional Study. *PLOS ONE*. 2016; 11:e0155467. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155467> PMID: 27192409
5. Carrouel F, Viennot S, Santamaria J, Veber P, Bourgeois D. Quantitative molecular detection of 19 major pathogens in the interdental biofilm of periodontally healthy young adults. *Front Microbiol*. 2016; 7: 840. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00840> PMID: 27313576
6. Kilian M, Chapple ILC, Hannig M, Marsh PD, Meuric V, Pedersen AML et al. The oral microbiome—an update for oral healthcare professionals. *Br Dent J*. 2016; 221: 657–666. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.865> PMID: 27857087
7. Slot DE, Dörfer CE, Van der Weijden GA. The efficacy of interdental brushes on plaque and parameters of periodontal inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hygiene*. 2008; 6: 253–264.

8. Chapple ILC, Van der Weijden F, Doerfer C, Herrera D, Shapira L, Polak D, et al. Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis. *J Clin Periodontol*. 2015; 42 Suppl 16:S71–76.
9. Kotsakis GA, Lian Q, Ioannou AL, Michalowicz BS, John M, Chu H. A network meta-analysis of interproximal oral hygiene methods in the reduction of clinical indices of inflammation. *J Periodontol*. 2018; 89: 558–570. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0368> PMID: 29520910
10. Poklepovic T, Worthington HV, Johnson TM, Sambunjak D, Imai P, Clarkson JE, et al. Interdental brushing for the prevention and control of periodontal diseases and dental caries in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;CD009857.
11. Bourgeois D, Saliassi I, Llodra JC, Bravo M, Viennot S, Carrouel F. Efficacy of interdental calibrated brushes on bleeding reduction in adults: a 3-month randomized controlled clinical trial. *Eur J Oral Sci*. 2016; 124: 566–571. <https://doi.org/10.1111/eos.12302> PMID: 27681016
12. Sambunjak D, Nickerson JW, Poklepovic T, Johnson TM, Imai P, Tugwell P et al. Flossing for the management of periodontal diseases and dental caries in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011; CD008829.
13. Sung J, Gluch JI. An Assessment of Global Oral Health Education in U.S. Dental Schools. *J Dent Educ*. 2017; 81:127–134. PMID: 28148602
14. Bandura A. Self-efficacy. In: Ramachaudran VS, editors. *Encyclopedia of human behavior*. New York: Academic Press; 1994. Vol 4 pp. 71–81.
15. Gabbay DM, Rodrigues OT, Russo A. Revision, Acceptability and Context: Theoretical and Algorithmic Aspects; 2010, pp. 255.
16. Katz J, Fashler SR, Wicks C, Pagé MG, Roosen KM, Kleiman V, et al. Sensitivity to Pain Traumatization Scale: development, validation, and preliminary findings. *J Pain Res*. 2017; 10:1297–1316. <https://doi.org/10.2147/JPR.S134133> PMID: 28615962
17. Caton JG, Polson AM. The interdental bleeding index: a simplified procedure for monitoring gingival health. *Compend Contin Educ Dent*. 1985; 6: 88–92. PMID: 3871687
18. Hofer D, Sahrman P, Attin T, Schmidlin PR. Comparison of marginal bleeding using a periodontal probe or an interdental brush as indicators of gingivitis. *Int J Dent Hyg*. 2011; 9: 211–215. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2010.00483.x> PMID: 21356022
19. Shah BV, Barnwell BG, Bieler GS. SUDAAN user's manual (release 7.0). Research Triangle Park, NC: Research Triangle Institute, 1996.
20. Williams KC, Williams CC. Five key ingredients for improving student motivation. *Res High Educ J*. 2011; 12:1.
21. Sim I, Gorman P, Greenes RA, Haynes RB, Kaplan B, Lehmann H, et al. Clinical decision support systems for the practice of evidence-based medicine. *J Am Med Inform Assoc*. 2001; 8:527–534. PMID: 11687560
22. Zepke N, Butler P, Leach L. Institutional research and improving the quality of student engagement. *Qual High Educ*. 2012; 18:329–347.
23. Keegan B, Schoen-Phelan B. Monitoring Student Engagement and Improving Performance. Published Online First: 2015. <http://arrow.dit.ie/cgi/viewcontent.cgi?article=1177&context=scschcomcon> (accessed 11 Jul 2017).
24. Case J. Alienation and engagement: exploring students' experiences of studying engineering. *Teach High Educ*. 2007; 12:119–133.
25. Moraros J, Islam A, Yu S, Banow R, Schindelka B. Flipping for success: evaluating the effectiveness of a novel teaching approach in a graduate level setting. *BMC Med Educ*. 2015; 15:27. <https://doi.org/10.1186/s12909-015-0317-2> PMID: 25884508
26. Miller GE. The assessment of clinical skills/competence/performance. *Acad Med*. 1990; 65(9):S63–S67.
27. Van der Vleuten C. The assessment of professional competence: developments, research and practical implications. *Adv Health Sci Educ*. 1996; 1:41–67.
28. Scale F, Chapman J, Davey C. The influence of assessments on the students motivation to learn in a therapy degree course. *Med Educ*. 2000; 34:614–621. PMID: 10964208
29. Khan KS, Coomarasamy A. A hierarchy of effective teaching and learning to acquire competence in evidence-based medicine. *BMC Med Educ*. 2006; 6:59. <https://doi.org/10.1186/1472-6920-6-59> PMID: 17173690
30. Chow W, 周穎儀. Factors affecting provision of oral health education on interdental cleaning by dentists and hygienists in Hong Kong/y Chow Wing Yi, Winnie, BDS. *HKU Theses Online HKUTO* Published Online First: 2014. <https://hub.hku.hk/handle/10722/221750> (accessed 11 Jul 2017).

31. Russell B, Slater G. Factors that encourage student engagement: Insights from a case study of "first time" students in a New Zealand university. *J Univ Teach Learn Pract*. 2011; 8:1–15.
32. Xuereb S. Academic resourcefulness, coping strategies and doubting in university undergraduates. *J Furth High Educ*. 2015; 39:205–222.
33. Carr SE, Celenza A, Puddey IB, Puddey IB, Lake F. Relationships between academic performance of medical students and their workplace performance as junior doctors. *BMC Med Educ*. 2014; 14:157. <https://doi.org/10.1186/1472-6920-14-157> PMID: 25073426
34. Tonetti MS, Eickholz P, Loos BG, Papapanou P, van der Velden U, Armitage G, et al. Principles in prevention of periodontal diseases: Consensus report of group 1 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *J Clin Periodontol*. 2015; 42 Suppl 16:S5–11.
35. National Collaborating Centre for Acute Care (UK). *Dental Recall: Recall Interval Between Routine Dental Examinations*. London: National Collaborating Centre for Acute Care (UK) 2004. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54542/> (accessed 11 Jul 2017).
36. Farooqi OA, Wehler CJ, Gibson G, Jurasic MM, Jones JA. Appropriate Recall Interval for Periodontal Maintenance: A Systematic Review. *J Evid Based Dent Pract*. 2015; 15:171–181. <https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2015.10.001> PMID: 26698003
37. Tonetti MS, Chapple ILC, Jepsen S, Sanz M. Primary and secondary prevention of periodontal and peri-implant diseases: Introduction to, and objectives of the 11th European Workshop on Periodontology consensus conference. *J Clin Periodontol*. 2015; 42 Suppl 16:S1–4.
38. Carasol M, Llodra JC, Fernández-Meseguer A, Bravo M, Garcia-Margallo MT, Calvo-Bonacho E, et al. Periodontal conditions among employed adults in Spain. *J Clin Periodontol*. 2016; 43:548–556. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12558> PMID: 27027396
39. Woelber JP, Bienes H, Fabry G, Silbernagel W, Giesler M, Tennert C. Oral hygiene-related self-efficacy as a predictor of oral hygiene behaviour: a prospective cohort study. *J Clin Periodontol*. 2015; 42:142–149. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12348> PMID: 25472523

DISCUSSION

Eu égard aux objectifs de l'étude, à savoir l'évaluation de l'impact de l'utilisation de BIDs chez des jeunes adultes sujets sur l'inflammation et le saignement gingival, l'évaluation de mesures complémentaires liée à l'utilisation de principes actifs chimiques pour la désorganisation du biofilm, ainsi que l'évaluation de recommandations de bonnes pratiques pour l'usage de BIDs en prophylaxie individuelle dans le cadre des études dentaires, notre recherche a consisté à réaliser trois essais originaux.

À notre connaissance, la présente étude sur **l'efficacité des BIDs calibrées sur les saignements interproximaux chez les adultes parodontalement sains** est le premier essai clinique randomisé basé sur la déclaration CONSORT (562).

L'objectif de notre étude était d'examiner si les BIDs calibrées sont efficaces pour réduire la fréquence des saignements interproximaux lorsqu'elles sont associées à un brossage de dents régulier. Une limitation potentielle de cette étude était l'absence d'un groupe utilisant du fil dentaire ou d'autres BIDs non calibrées. Dans la littérature, la qualité de la seule étude comparant le brossage de dents avec un brossage interdentaire et le brossage de dents seul est considérée comme faible (11,563). Un des problèmes majeurs pour l'utilisation des BIDs était qu'il n'existait pas de méthode scientifique convenue pour les choisir (345). La technique dite de référence est la méthode subjective empirique utilisée au quotidien. Cette technique consiste à tester les différents BIDs par ordre croissant de diamètre. Dans une étude récente, Bourgeois et *al.* ont démontré l'apport de l'utilisation d'une sonde colorimétrique calibré afin de déterminer le diamètre de la BIDs (345). Cette nouvelle technique permettant d'accroître la concordance entre le choix empirique de BIDs de différents diamètres et l'étalon de référence que représente la sonde colorimétrique calibrée (345). Nous avons donc utilisé cette technique dans notre étude afin d'optimiser le choix de BIDs adapté à l'EI et ainsi optimiser l'action mécanique.

Cette étude contrôlée randomisée fournit des informations sur l'efficacité de l'intervention dans des conditions optimales car nous avons choisi des critères d'éligibilité stricts, des sujets compliant, une surveillance maximale du respect du protocole d'étude par le praticien et des visites de suivi formelles (564).

En ce qui concerne la méthode d'échantillonnage, plusieurs points sont importants à discuter. Tout d'abord, l'analyse a été effectuée sur tous les sites interdentaires à l'aide du programme SUDAAN, qui permet d'ajuster les valeurs p et les erreurs types en raison de l'agrégation (plusieurs sites dans la bouche). Deuxièmement, pour obtenir une randomisation correcte dans les deux groupes, une sélection équilibrée a été utilisée en termes de sexe et de saignement de base, comme décrit dans la section Matériel et méthodes. Par conséquent, la

répartition a été effectuée sans aucun biais. Les saignements interdentaires suite au passage des BIDs ont été utilisés comme variable dépendante. Selon LORENZ *et al.*, il ne fait aucun doute que les indices contenant une composante de saignement peuvent être utilisés avec succès dans les essais cliniques (565). Cependant, la reproductibilité du diagnostic des saignements a été largement discutée dans la littérature (566). La force appliquée à la BID, l'angle d'insertion et l'expérience de l'examineur sont cités comme des facteurs d'erreur de diagnostic. L'indice de saignement peut également être influencé par la valeur initiale d'hygiène buccale des participants (567). C'est pourquoi les participants ont été stratifiés en fonction des niveaux de saignement de base afin d'assurer une répartition égale.

La validité interne de l'étude a été garantie par un processus de calibrage. Les deux examinateurs qui ont participé à la collecte des données ont été préalablement formés dans le cadre d'un atelier de calibrage. Ces mêmes examinateurs avaient participé à une étude précédente en utilisant un protocole similaire. Pendant toute la durée de l'étude, les examinateurs ont procédé aux examens cliniques à l'aveugle. Aucun des participants n'a abandonné l'étude dans l'un ou l'autre groupe, ce qui est certainement dû aux caractéristiques spécifiques de l'échantillon.

Les effets du brossage interdentaire sur les scores de saignement ont été évalués. Une discussion intéressante porte sur l'association entre les saignements et la nécessité de soins parodontaux à moyen et long terme. La gingivite est une affection réversible associée à des biofilms bactériens, elle se résorbe généralement sur le plan clinique dans un délai d'environ une semaine après le rétablissement des procédures d'hygiène buccale (568). On pourrait facilement soutenir que l'apparition naturelle d'une inflammation gingivale décrit une affection dont les caractéristiques sont normalement réparties dans la population (151). La réduction de la gingivite dans la population générale entraîne plus qu'une simple amélioration clinique suite à la réduction des saignements gingivaux. Ainsi, il existe des preuves irréfutables que la gingivite est liée à la parodontite, et l'élimination de la gingivite entraînera une réduction de la perte d'attache dans la majorité de la population (569).

L'utilisation quotidienne du fil dentaire est peu fréquente chez les patients car elle requiert un certain degré de dextérité et de motivation (302), alors que les patients préfèrent les BIDs car elles sont plus faciles à utiliser (570). En outre, par rapport au fil dentaire, les BIDs sont considérées comme plus efficaces pour l'élimination de la plaque dentaire car les poils remplissent l'embrasure et sont capables de nettoyer les zones invaginées à la surface des dents et des racines (341). En outre, le fil dentaire n'atteint pas les concavités anatomiques des surfaces proximales des prémolaires et des molaires, ce qui rend l'effort d'utilisation du fil incomplet (355).

Nos conclusions suggèrent un impact positif de l'utilisation de la BID dans la réduction des saignements interproximaux des jeunes participants en bonne santé parodontale. Dès la première semaine, la réduction observée était de 47% par rapport au contrôle. A 3 mois, la réduction des saignements était de 71%. Aucun effet secondaire indésirable lié à l'utilisation de BIDs n'a été relevé sur 3 mois. Ces résultats doivent être confirmés sur une plus longue période et l'intervention doit être comparée, dans le cadre d'essais cliniques, à d'autres méthodes de brossage interdentaire telles que le fil dentaire, les bâtonnets dentaires de différentes sortes.

Les résultats de l'étude apportent la preuve de l'efficacité d'un programme de réduction des saignements par l'utilisation quotidienne de BIDs chez les jeunes adultes. Le taux de participation aux séances était élevé car les participants étaient issus de la faculté d'odontologie. Si ces résultats peuvent soutenir la faisabilité d'une approche de la population pour promouvoir la santé dentaire par des programmes d'entraînement au brossage interdentaire, il est encore nécessaire d'évaluer l'efficacité de la procédure dans la population générale.

La deuxième étude clinique a comparé l'efficacité d'un dentifrice naturel contenant un extrait de feuille de *Carica papaya* à un dentifrice contenant un complexe tri-enzymatique disponible dans le commerce pour réduire les saignements gingivaux interdentaires. Comme les bains de bouche sont généralement utilisés conjointement avec une technique de nettoyage mécanique, les effets du dentifrice *CPLE* utilisé seul ou avec un bain de bouche *CPLE* par rapport à un bain de bouche antimicrobien à base d'huiles essentielles en combinaison avec un dentifrice tri-enzymatique ont également été évalués.

À notre connaissance, il s'agit du premier essai clinique sur les effets de l'application d'extraits naturels par rapport à des dentifrices contenant des enzymes contre le processus inflammatoire interdentaire. Notre étude révèle que le dentifrice *CPLE* avec ou sans bain de bouche et le dentifrice tri-enzymatique avec ou sans bain de bouche aux huiles essentielles ont réduit de manière significative l'inflammation interdentaire à quatre semaines. De plus, aucune différence significative n'a été observée entre le dentifrice *CPLE* et le dentifrice tri-enzymatique, qu'ils soient ou non combinés avec le bain de bouche aux huiles essentielles. Une diminution spectaculaire des saignements gingivaux interdentaires est apparue au cours de la période de quatre semaines dans tous les groupes. Chez les sujets présentant plus de 70 % de saignements interdentaires, l'utilisation combinée du dentifrice *CPLE*, à la fois comme dentifrice et bain de bouche, a eu un impact plus important sur la réduction des saignements que l'utilisation du dentifrice *CPLE* seul.

En outre, les deux dentifrices testés ont réduit de manière significative l'inflammation interdentaire, mais par des actions différentes. Le dentifrice contenant des enzymes a stimulé les

défenses salivaires naturelles. La cascade d'enzymes conduit à la production d'hypothiocyanite et de peroxyde d'hydrogène, ce qui pourrait entraîner une augmentation des niveaux d'oxygène et une inhibition de la croissance des bactéries anaérobies. Ceci favorise un changement dans la communauté bactérienne, entraînant une augmentation des bactéries associées à la santé des gencives et une diminution concomitante de celles associées aux maladies parodontales, telles que *Treponema spp* (571). L'ajout d'un bain de bouche en complément du dentifrice n'a eu aucun effet notable sur les saignements interdentaires que ce soit chez les sujets à faible ou à haut risque de MP. Bien qu'aucune conclusion formelle n'ait été possible étant donné les différences non significatives, les résultats ont eu tendance à être meilleurs avec l'utilisation du dentifrice tri-enzymatique seul plutôt qu'associé avec le bain de bouche aux huiles essentielles car les composants de ces deux produits peuvent interagir (572).

Les mécanismes d'action du dentifrice *CPLE* dans le processus de réduction des saignements interdentaires n'ont pas encore été clairement identifiés. Les différentes parties de cette plante sont riches en composés spécifiques. Par exemple, la papaïne, une enzyme de la papaye, est principalement récoltée dans le latex du fruit, car elle ne s'accumule pas à des niveaux suffisants dans les autres parties (573). En outre, les solvants d'extraction peuvent être plus ou moins concentrés dans certains composés. Les solvants polaires, tels que l'eau, concentrent les molécules les plus polaires, tandis que les solvants très apolaires, tels que le dichlorométhane, concentrent les molécules apolaires (574). Les effets enzymatiques sont peu probables car l'extraction aqueuse par décoction comporte un chauffage, qui déplierait ce type de molécule. Les effets vasculaires n'ont pas été documentés dans la feuille de papaye à notre connaissance. Des études antérieures ont découvert plusieurs activités des feuilles de *Carica papaya* liées à quelques métabolites identifiés tels que les acides aminés, les acides gras, les sucres et les acides organiques (546,547). Par conséquent, les activités observées sont probablement liées aux terpènes, dont on connaît l'activité antibactérienne (551) et antifongique (575). Une autre possibilité est la grande famille des composés phénoliques qui peuvent avoir une activité antioxydante (554–556,576), une activité antitumorale (557,558) ou une activité immunomodulatrice et antithrombocytopénique (549). De même, les effets biologiques des métabolites secondaires des flavonoïdes présents dans les feuilles de papaye sont évidents. L'action anti-inflammatoire (anti-TNF-alpha) du dentifrice *CPLE* pourrait expliquer la réduction globale de l'inflammation gingivale et donc la réduction des saignements interdentaires. L'activité anti-inflammatoire décrite par Erlund *et al.* est liée à la quercétine, l'hésperidine et la naringénine présentes dans les feuilles (559). Le mécanisme anti-inflammatoire de la quercétine induit l'activation de ERK (Extracellular signal-Regulated Kinase), de JNK (c-Jun NH2-terminal kinase), de c-Jun et du NF- κ B (Nuclear Factor κ B), ou induit une augmentation de l'activité de

PPAR γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ) (559). En outre, une activité antimicrobienne a également été signalée, notamment 3 espèces de *Candida* et des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (560,561,577). La dernière famille de métabolites identifiés sont les alcaloïdes, qui ont des activités cytotoxiques (549,558,578,579), en particulier avec certaines lignées cellulaires. La littérature révèle également des activités antimicrobiennes (580), notamment antifongiques (552,581,582), antiparasitaires (583–585), antibactériennes (551,586–588) et antivirales (588,589). Enfin, une action anti-inflammatoire a été attribuée aux alcaloïdes de la papaye (590,591).

Certaines limites de cette étude doivent être reconnues. La stratification des analyses du saignement interdentaire de base peut avoir affecté la comparabilité initialement obtenue entre les groupes après la randomisation. Néanmoins, les groupes ne présentaient pas de différences statistiques au départ par rapport au résultat, en particulier chez les sujets présentant un risque de saignement interdentaire plus élevé au départ.

L'adhésion réelle des sujets aux thérapies attribuées était inconnue. Néanmoins, une diminution dramatiquement significative des saignements au niveau des sites interdentaires a été observée dans tous les groupes, ce qui suggère un niveau d'adhésion global correct. Il s'agissait d'une étude en simple aveugle, ce qui aurait pu avoir un impact sur certaines des comparaisons entre les groupes. Néanmoins, nous pensons que nos résultats n'ont été que peu affectés par ce biais, car ils ont été recueillis par des enquêteurs formés qui n'avaient pas connaissance de l'exposition des sujets. D'autres enquêtes, notamment des études d'observation, seront éventuellement nécessaires pour confirmer nos conclusions dans des situations réelles.

Nos résultats ont des implications cliniques. Le dentifrice et le bain de bouche *CPLE* constituent une alternative efficace au dentifrice tri-enzymatique sans SLS, avec ou sans bain de bouche aux huiles essentielles, lorsqu'ils sont utilisés en complément d'un soin bucco-dentaire mécanique. Les données suggèrent que le dentifrice *CPLE* présente des avantages et une efficacité similaire à ceux du dentifrice tri-enzymatique, seul ou associé à un bain de bouche à base d'huiles essentielles en ce qui concerne les saignements interdentaires. En outre, nos résultats indiquent que le bénéfice optimal du dentifrice *CPLE* dans la réduction des saignements interdentaires se produit lorsqu'il est utilisé à la fois comme dentifrice et bain de bouche. Compte tenu des préoccupations actuelles concernant la sécurité de nombreux types de dentifrices commerciaux, le dentifrice *CPLE* pourrait constituer une alternative naturelle intéressante pour traiter les personnes sensibles aux saignements interdentaires, en particulier à un stade avancé de saignements gingivaux (>70 %). Néanmoins, nos conclusions doivent être confirmées dans une population moins spécifique. D'autres comparaisons avec les dentifrices classiques et avec d'autres résultats de parodontites sont

également souhaitables. Nos résultats indiquent que le dentifrice / bain de bouche *CPLE* utilisé seul est sûr. Toutefois, un produit naturel ne signifie pas en soi l'absence de tout effet indésirable. La balance bénéfices-risques de l'utilisation du dentifrice *CPLE* devrait être étudiée de manière plus approfondie. De même, le rapport coût-efficacité de l'utilisation du dentifrice *CPLE* ne doit pas être négligé. Des recherches plus approfondies devraient être menées, notamment sur les indications de l'utilisation et du maintien à long terme d'un microbiote buccal sain ainsi que sur les patients ayant des besoins particuliers.

Enfin, nous concluons que le *CPLE* est efficace, par rapport à un dentifrice tri-enzymatique sans SLS, pour réduire les saignements et les inflammations gingivales et pourrait constituer une alternative valable aux dentifrices commerciaux classiques. Cet effet s'est maintenu avec une tendance continue de réduction observée pour les mesures de saignements tissulaires. L'ajout d'un bain de bouche à base d'huiles essentielles au dentifrice tri-enzymatique sans SLS n'a montré aucun avantage clinique en termes de réduction des saignements interdentaires.

À notre connaissance, **notre troisième étude est la première à rendre compte d'une évaluation objective des interventions prophylactiques sur le biofilm interdentaire dans un contexte d'enseignement dentaire.** Elle a également évalué la cohérence du module en termes d'efficacité sur les connaissances et les attitudes pertinentes pour la pratique clinique des étudiants ainsi que la validité du contenu de l'information. Le principal objectif pédagogique était de promouvoir l'utilisation quotidienne de BIDs calibrées pour perturber le biofilm interdentaire des adolescents et des adultes sans parodontopathie en utilisant une technique assimilée. Notre but était également de faire prendre conscience aux étudiants que l'utilisation quotidienne des BIDs a la même valeur clinique et la même logique que l'utilisation d'une brosse à dents.

Nous avons mis en évidence une diminution dans le temps de l'utilisation de la BID au sein d'une population d'étudiants dentaires bien éduqués. On pourrait donc s'attendre à des résultats encore plus faibles dans la population générale et ce, pour les mêmes groupes d'âge. Après une acceptation très satisfaisante, une diminution marquée de l'usage des BIDs a été observée chez les étudiants à la suite du programme d'études jusqu'au 12^{ème} mois, de 89,6 % dans un premier temps à 20,8 %. Parallèlement, une tendance inverse a été observée pour le pourcentage de sites de saignement interdentaire chez les étudiants, avec des différences marquées entre les utilisateurs et les non-utilisateurs de BIDs. À l'inverse, le pourcentage d'étudiants ayant recommandé ou prescrit une BID a augmenté de façon spectaculaire au 12^{ème} mois, avec un pourcentage dépassant 90%.

On peut estimer que la persistance de l'utilisation de la BID par les étudiants à 3 mois est modérée. Si l'acceptation initiale par les étudiants était considérée comme satisfaisante et la durée

comme modérée, un effort spécifique doit être entrepris pour l'adhésion à l'utilisation de BIDs. L'acceptation initiale de la procédure par les étudiants indique clairement qu'il existe deux groupes distincts au 1^{er} contrôle (7 jours), les utilisateurs (89,6 %) et les non-utilisateurs (10,4 %), sans identifier les facteurs qui optimisent l'adhésion des étudiants de premier cycle à l'apprentissage de la prophylaxie bucco-dentaire interdentaire.

Après un taux d'acceptation élevé (89,6 %) au 7^{ème} jour, la diminution impressionnante observée au fil du temps pourrait s'expliquer par un besoin limité perçu de l'utilisation de BIDs chez cette jeune population en bonne santé. Les jeunes, même étudiants en odontologie, pourraient être moins sensibilisés aux problèmes de santé personnels et à l'auto-prévention. L'absence de rappels au cours des 9 derniers mois de suivi pourrait avoir contribué à l'interruption de la consommation. En outre, le programme pourrait avoir été perçu principalement comme un encouragement à prescrire les BIDs aux patients plutôt qu'à l'auto-utilisation. Les raisons de la non-utilisation par les étudiants suggèrent principalement une diminution de la motivation à utiliser les BIDs au 12^{ème} mois.

À l'inverse, le pourcentage d'étudiants qui recommandent ou prescrivent les BIDs a augmenté de façon spectaculaire au 12^{ème} mois. Cela suggère que cet objectif du programme d'études a été atteint de manière satisfaisante, sans différence que l'étudiant l'applique pour lui-même ou non. Cela pourrait s'expliquer par la possibilité pour les étudiants de prescrire la BID aux patients lorsqu'ils sont admis en 4^{ème} année d'odontologie.

La prescription de BIDs à des adultes en bonne santé parodontale n'est généralement pas intégrée dans le cursus clinique de l'étudiant. Un nouveau contenu pourrait introduire une expérience surprenante ou inhabituelle, créant une divergence dans l'esprit de l'étudiant, ce qui peut entraîner un intérêt à court terme pour résoudre cette divergence (592). De même, l'introduction d'un nouveau concept qui exige un investissement personnel quotidien, tout en remettant en question un passé d'au moins quinze ans de pratiques exclusives de brossage de dents, peut être considérée comme une "mesure agressive". L'option choisie a été de donner aux étudiants la possibilité d'accroître la perception de leur compétence sur tous les aspects comportementaux le plus tôt possible dans le cursus dentaire. Le contenu basé sur les pratiques cliniques individuelles doit être pertinent et utile à l'étudiant dans la vie quotidienne.

L'accent de la formation sur l'éducation à la santé bucco-dentaire avec le nettoyage interdentaire pour le praticien jouerait un rôle majeur pour faciliter l'amélioration. Les étudiants doivent effectuer les interventions qu'ils recommanderont à leurs futurs patients dans le cadre de la prophylaxie bucco-dentaire (593). L'introduction de ce module dans le cursus aura une grande

efficacité clinique sur les stratégies de prévention car les étudiants qui ont acquis des connaissances et une pratique clinique sur ce sujet pourront gérer efficacement la désorganisation du biofilm interdentaire chez leurs futurs patients.

Une autre originalité essentielle de notre approche a été l'évaluation à long terme de l'effet du programme d'études sur le comportement et la pratique des étudiants, qui a suggéré la nécessité de mettre en œuvre des actions correctives.

Concernant la motivation des étudiants, comme aucun de ces étudiants n'avait d'expérience préalable avec les BID, leur réaction à la formation a reflété leur capacité à apprendre et à appliquer le contenu. Cependant, la motivation des étudiants n'est pas un concept isolé (594). La motivation lors d'un enseignement est fonction des cinq éléments suivants : l'élève, l'enseignant, le contenu, la méthode/processus et l'environnement. Certains aspects de ces cinq éléments peuvent contribuer à la motivation et/ou l'entraver (595). Par exemple, il est essentiel que l'équipe d'enseignants soit considérée comme accessible et prête à s'engager avec les élèves lors de l'enseignement en classe et en tête-à-tête (596). Dans notre évaluation, la composante "enseignant" n'a pas été prise en compte.

Concernant la pédagogie, notre méthode d'enseignement, basée sur le principe de la pédagogie inversée, n'est pas considérée dans cette étude comme une variable d'ajustement. Le format utilisé ici offre aux étudiants davantage de possibilités de s'engager dans une réflexion critique, de faciliter leur propre apprentissage de manière indépendante, et d'interagir et d'apprendre efficacement avec leurs pairs (597). Il y a peu de preuves scientifiques sur le comportement des patients, la communication avec les patients, l'éducation des patients et les méthodes pour aider les patients à développer des habitudes d'auto-soins bucco-dentaires efficaces (598). Les étudiants sont plus susceptibles d'être intrinsèquement motivés s'ils peuvent développer un sentiment de compétence dans le cadre de leur éducation (599,600). Peu d'attention a été accordée à la question de savoir si les propres évaluations des compétences des étudiants peuvent être utilisées pour prédire leurs performances cliniques (601). La phase clinique de quatrième année du programme dentaire dépend des résultats obtenus dans les cours cliniques de troisième année. Il y a donc un effet mémoire de la formation préclinique avec une projection positive sur les nouveaux patients, qui est indépendant des soins individuels de l'étudiant concernant sa propre hygiène bucco-dentaire.

Afin d'encourager l'auto-utilisation des BIDs plusieurs solutions sont envisageables. Premièrement, une temporalité plus adaptée des rappels devrait être envisagée. Des instructions répétées et individualisées en matière d'hygiène buccale sont des éléments importants des programmes de prévention (602). Bien que la cohorte d'étudiants qui a adhéré rapidement à une semaine ait eu des comportements relativement stables à un mois et à trois mois, la persistance à long terme de l'utilisation de la prophylaxie interdentaire reste un problème. Des mesures

correctives devraient être envisagées pour optimiser la précision, le contenu et le délai de rappel. La sélection d'un intervalle de rappel approprié est une décision clinique à multiples facettes qu'il est difficile, voire impossible, d'évaluer mécaniquement (603). Les preuves d'un intervalle de rappel spécifique pour tous les patients sous prophylaxie orale sont faibles (604). En matière d'hygiène buccale, aucun essai contrôlé randomisé n'a été publié sur ce sujet. Ensuite, il convient de mieux comprendre les raisons de la non-utilisation par les étudiants. Il convient de mettre en place des mesures correctives en tenant compte de la gestion spécifique de la non-acceptation. La communication doit être adaptée aux besoins des utilisateurs par le biais d'un diagnostic et d'un profilage des risques (605). Des études qualitatives devraient également être nécessaires pour mieux comprendre les raisons de la non-adhésion. Enfin, il faut communiquer sur les avantages cliniques de l'utilisation des BIDs. L'utilisation quotidienne de BIDs calibrées peut réduire de manière significative les saignements interproximaux avec une fraction préventive globale de 46% à une semaine à 72% à 3 mois (562). Il est nécessaire d'expliquer aux étudiants l'importance cruciale des saignements gingivaux comme signe précoce de la MP (606). Dans notre étude, les motivations sont clairement liées à la perception de l'efficacité des brosses et à la perception de la réduction des saignements. L'auto-efficacité liée à l'hygiène buccale influence le comportement en matière d'hygiène buccale et peut permettre de prédire les résultats des patients en matière d'hygiène buccale (607). La motivation et les besoins sont liés car la motivation nécessaire pour changer un comportement résulte souvent du fait qu'un besoin n'est pas satisfait. Une diffusion plus large du programme est également souhaitable, notamment auprès des dentistes et des pharmaciens afin de mieux diffuser le message de prévention.

En conclusion, le nouveau module du programme d'études développé et appliqué a un effet positif sur les pratiques d'hygiène interdentaire de l'étudiant en médecine dentaire qui utilise les brossettes. La motivation à utiliser les BIDs est clairement liée à la perception de l'efficacité des brosses et à la perception de la réduction des saignements. L'introduction de ce module dans le programme d'études dentaires pour les étudiants précliniques aura une grande efficacité clinique dans les stratégies de prévention car les connaissances et la pratique clinique permettront aux étudiants de gérer efficacement les biofilms interdentaires de leurs futurs patients. À ce stade de notre expérience, nous recommandons l'enseignement du module sur les pratiques d'hygiène interdentaire dans le programme de santé bucco-dentaire des facultés dentaires.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La prophylaxie individuelle est la pierre angulaire de tous les fondements liés à la santé. Sans éducation, sans promotion de la santé, sans littératie, sans une prise de conscience de la personne du « pourquoi » investir dans sa propre santé, l'impact ne pourra être que néfaste pour lui-même, ses proches et la société.

La prophylaxie professionnelle est complémentaire de la prophylaxie individuelle. Il ne faut pas se tromper de cibles, même si les systèmes de santé de la plupart des pays industrialisés ont développé une orientation de l'activité ciblée sur la prise en charge du malade, sur le soin et la réhabilitation.

La normalité doit être la santé, sous-entendu la bonne santé qui va jusqu'à englober la qualité de vie et le bien-être. Or, dans beaucoup de situations, la norme dans nos sociétés est associée à la fatalité de la maladie, comme par exemple la santé mentale, l'obésité-diabète, les maladies cardio-vasculaires, les maladies parodontales.

Ce travail de thèse s'inscrit dans cette logique de maintenir l'individu en bonne santé, à travers la mise à disposition de méthodes et de matériels d'hygiène nécessaires à sa prise en charge individuelle au quotidien de sa propre santé orale. L'évaluation de l'impact de technologies innovantes en prophylaxie orale individuelle sur la prévention de l'inflammation interdentaire et de méthodes d'enseignement nécessaires à leurs mises en application et visant à garantir la motivation des individus est le sujet de ces recherches. Plusieurs enseignements sont à retenir.

D'abord, une norme d'hygiène individuelle ciblée sur les espaces interdentaires doit universellement émerger. La désorganisation mécanique du biofilm interdentaire doit être réalisée quotidiennement. Le slogan à mettre en avant est : « les connaissances scientifiques mettent en évidence les limites du brossage dentaire des adultes et des adolescents, la recommandation d'associer un nettoyage quotidien des espaces interdentaires est essentielle ». L'usage de brosse à dents et de BIDs calibrées doit être le message relayé aux étudiants, aux patients, à la population.

Ensuite, la désorganisation mécanique du biofilm reste la recommandation absolue en termes d'efficacité par rapport à des options chimiques. Brosses à dents souples, denses et BIDs avec une technique adaptée doivent dans la quasi-totalité des situations répondre à la problématique et aux objectifs de la prophylaxie individuelle. Les compléments chimiques d'hygiène, bains de bouche et dentifrices, peuvent répondre à des objectifs secondaires tels que halitose, hypersensibilité, « blanchiment », etc., mais jouent un rôle mineur dans la désorganisation du biofilm, spécialement interdentaire. La recommandation qui émerge de nos travaux est de tendre vers des dentifrices et/ou bains de bouche contenant des extraits naturels utilisant notamment les puissants flavonoïdes antioxydants de la feuille de *Carica papaya*. Il s'agit d'une alternative efficace,

mais qui reste complémentaire dans la lutte contre l'inflammation et la préservation d'un microbiote symbiotique.

Enfin, ces recommandations doivent s'accompagner de délivrances de méthodes de motivation et d'enseignements pour la mise en place de ces pratiques. Les meilleurs outils du monde n'ont de sens que s'ils sont correctement utilisés. Les besoins, donc les conséquences en matière d'éducation à l'hygiène sont immenses. Il faut transmettre le savoir et mettre en pratique. Nous parlons ici d'enseignements de pratiques dans sa noble dimension, ils nécessitent investissement, compétences et répétitions. Tendre vers l'excellence est l'objectif. Notre travail s'est centré sur l'évaluation des recommandations de méthodes pédagogiques qui peuvent au-delà des enseignements universitaires trouver un prolongement au sein des chirurgiens-dentistes et des populations *via* des actions de promotion de la santé orale.

Les perspectives qui découlent de nos recherches ne doivent pas être considérées comme des défis, mais plutôt comme des stratégies à mettre en place pour favoriser le déploiement de nouvelles connaissances en prophylaxie individuelle dentaire. Le principal objectif va être de transmettre les acquis de ce travail à la communauté de chercheurs et d'universitaires. La priorité est d'inclure la prophylaxie individuelle et ses méthodes associées dans les cursus universitaires. Les étudiants sont d'abord, pour eux-mêmes, leurs familles et leurs futurs patients, les acteurs clés pour opérer rapidement un changement des mentalités et habitudes en prophylaxie individuelle. Le second objectif va être de réfléchir, comme nos travaux l'ont souligné, à la mise en application de ces méthodes ou de méthodes dérivées, à des groupes de populations spécifiques comme peuvent l'être les diabétiques, les patients avec une pathologie cardio-vasculaire, des troubles respiratoires. Des populations à risque du fait de complications vasculaires associées nécessitent l'identification et l'évaluation de produits de nature chimique qui s'inscriront en parfaite complémentarité des produits de prophylaxie individuelle que représentent la brosse à dents et les BIDs calibrées.

ANNEXE : ARTICLE 4

Respect des procédures de référence du protocole de stérilisation des instruments critiques pour la prévention de la transmission iatrogène de la maladie de Creutzfeldt-Jakob dans la pratique dentaire en France, 2017

L'article « Observance of Sterilization Protocol Guideline Procedures of Critical Instruments for Preventing Iatrogenic Transmission of Creutzfeldt-Jakob Disease in Dental Practice in France, 2017 » a été publié le 25 avril 2018 dans la revue *International Journal of Environmental Research and Public Health*.

L'objectif de cette étude était d'évaluer, conformément aux directives de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le respect des procédures de stérilisation pour prévenir la transmission iatrogène de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, y compris des instruments réutilisables en conditions réelles de soins dans les cabinets dentaires français.

Un échantillon de cabinets dentaires a été sélectionné en Rhône-Alpes. Les données ont été collectées par un auto-questionnaire en 2016. Le questionnaire comprenait des questions sur trente-trois pratiques de stérilisation classées en 4 groupes : (1) Nettoyage avant stérilisation des instruments réutilisables ; (2) Vérification biologique des cycles de stérilisation - Surveillance des procédures de stérilisation à la vapeur ; (3) Performance de l'autoclave et connaissance des praticiens de l'utilisation de l'autoclave ; (4) Surveillance et documentation des procédures de stérilisation - Suivi et traçage de l'instrumentation. La sélection des trente-trois éléments de pratique a été basée sur les précautions standard adoptées par l'OMS « Health Service Executive Standards and Recommended Practices for Dental Services in a Local Decontamination Unit (LDU) », HSE, 2012 appliquées par la législation française *via* le Ministère de la Santé. Tous les chirurgiens-dentistes de la région Rhône-Alpes étaient éligibles à l'étude, à l'exception de ceux qui pratiquaient exclusivement sans assistant(e) dentaire (AD) (40%), avec un minimum d'un(e) AD par cabinet dentaire, à l'exception de ceux qui pratiquaient comme orthodontiste (<1%). Les AD ont été invité(e)s à participer par courrier électronique, cela comprenait la procédure pour remplir et renvoyer le questionnaire. Le taux de réponse positive était de 56%. L'échantillon final comprenait à l'origine 179 AD sélectionné(e)s. La participation était volontaire. Un(e) seul(e) AD par cabinet dentaire a répondu. L'enquête a été menée en 2017 sous forme de questionnaire auto-administré en ligne de manière anonyme. Le nombre de fauteuils dentaires par cabinet allait de 1 à 9, 2 étant la valeur médiane (Q25% –Q75% = 2–4). Le nombre maximum de dentistes par cabinet était de 10, tandis que la valeur médiane n'était que de 2 (Q25% –Q75% = 1,5–3).

Le niveau d'adhésion aux directives de stérilisation variait sensiblement entre les cabinets dentaires selon les différentes procédures, de 20,7% à 82,6% (pourcentage médian : 61,6%, Q25% –Q75% = 44,2% –71,1%). Pour le premier groupe de pratiques de stérilisation parmi les six

indicateurs, la proportion de cabinets dentaires opérant conformément aux lignes directrices variait de 26,3% (V4 - Les instruments sont séchés manuellement et soigneusement à l'aide d'un chiffon non tissé à usage unique et / ou d'air comprimé filtré) à 78,8% (V2 - Tous les dispositifs médicaux autoclavables sont autoclavés), et le pourcentage médian était de 58,1%. Seulement 23,4% d'entre eux étaient conformes pour plus de 80% des indicateurs (5 ou 6/6). Pour le deuxième groupe un seul indicateur sur 9 dans ce groupe a dépassé 60% pour une mise en œuvre correcte de la procédure. Le taux de réussite pour les autres variait de 20,7% pour V13 (il existe un document dans lequel tous les événements affectant l'autoclave sont notés : entretien, maintenance, pannes, etc.) à 62,9% pour V11 (le stérilisateur de flux est conforme à la norme EN 13060) avec un pourcentage médian de 50,9%. Seulement 6,6% d'entre eux ont adhéré aux directives pour plus de 80% des indicateurs. Parlant du troisième groupe, le respect des recommandations variait de 57,7% (V23 - Résultat du dernier test de pénétration de vapeur (appareil Helix)) à 79,4% (V22 - Absence d'humidité dans les sacs et l'intégrité de l'emballage) des cabinets dentaires (valeur médiane 69,2%). Le cycle du prion a été correctement effectué par 68,2% des cabinets. Dans l'ensemble, 46,6% des pratiques ont réussi avec succès plus de 80% des procédures de groupe. En ce qui concerne le quatrième groupe de pratiques de stérilisation, la mise en œuvre correcte des différentes procédures variait sensiblement de 43,0% (V27 - Suivi mensuel de la stérilisation à l'aide d'indicateurs biologiques) à 67,1% (V28 - Surveillance de la stérilisation à l'aide d'indicateurs de débit). La valeur médiane était de 58,2%. Globalement, 38,6% des cabinets dentaires ont atteint le seuil de 80% d'indicateurs correctement réalisés.

Notre étude a des implications à la fois en termes de recherche et de santé publique, étant donné le risque de contamination par une infection par la maladie de Creutzfeldt-Jakob. Nos résultats soulignent la nécessité de renforcer la formation des dentistes et des assistants dentaires vers une meilleure mise en œuvre des procédures de stérilisation des instruments. Pour une meilleure efficacité, une étape préliminaire critique devrait être une enquête approfondie sur les raisons pour lesquelles les différentes procédures recommandées sont mal exécutées par les cabinets dentaires. Des études qualitatives pourraient contribuer à identifier ces raisons et notamment les différents obstacles rencontrés par les cabinets dentaires. L'identification de la cause des dysfonctionnements devrait permettre la mise en place nécessaire de mesures correctives et préventives.



Article

Observance of Sterilization Protocol Guideline Procedures of Critical Instruments for Preventing Iatrogenic Transmission of Creutzfeldt-Jakob Disease in Dental Practice in France, 2017

Denis Bourgeois ¹, Claude Dussart ¹, Ina Saliassi ¹, Laurent Laforest ², Paul Tramini ³ and Florence Carrouel ^{1,*}

¹ Laboratory “Systemic Health Care”, EA4129, University Lyon, 69008 Lyon, France; denis.bourgeois@univ-lyon1.fr (D.B.); claude.dussart@univ-lyon1.fr (C.D.); inasaliassi@yahoo.com (I.S.)

² Department of Public Health, Faculty of Dental Medicine, University of Lyon, 69008 Lyon, France; laurent.laforest@univ-lyon1.fr

³ Department of Public Health, Faculty of Dental Medicine, University of Montpellier, 34090 Montpellier, France; paul.tramini@orange.fr

* Correspondence: florence.carrouel@univ-lyon1.fr; Tel.: +33-4-78-78-57-44

Received: 18 March 2018; Accepted: 14 April 2018; Published: 25 April 2018



Abstract: Effective sterilization of reusable instruments contaminated by Creutzfeldt–Jakob disease in dental care is a crucial issue for public health. The present cross-sectional study investigated how the recommended procedures for sterilization were implemented by French dental practices in real-world settings. A sample of dental practices was selected in the French Rhône-Alpes region. Data were collected by a self-questionnaire in 2016. Sterilization procedures ($n = 33$) were classified into 4 groups: (1) Pre-sterilization cleaning of reusable instruments; (2) Biological verification of sterilization cycles—Monitoring steam sterilization procedures; (3) Autoclave performance and practitioner knowledge of autoclave use; (4) Monitoring and documentation of sterilization procedures—Tracking and tracing the instrumentation. Answers were provided per procedure, along with the global implementation of procedures within a group (over 80% correctly performed). Then it was verified how adherence to procedure groups varied with the size of the dental practice and the proportion of dental assistants within the team. Among the 179 questionnaires available for the analyses, adherence to the recommended procedures of sterilization noticeably varied between practices, from 20.7% to 82.6%. The median percentages of procedures correctly implemented per practice were 58.1%, 50.9%, 69.2% and 58.2%, in Groups 1, 2, 3 and 4, respectively (corresponding percentages for performing over 80% of the procedures in the group: 23.4%, 6.6%, 46.6% and 38.6%). Dental practices ≥ 3 dental units performed significantly better ($>80\%$) procedures of Groups 2 and 4 ($p = 0.01$ and $p = 0.002$, respectively), while no other significant associations emerged. As a rule, practices complied poorly with the recommended procedures, despite partially improved results in bigger practices. Specific training regarding sterilization procedures and a better understanding of the reasons leading to their non-compliance are needed.

Keywords: dental assistants; dentists; sterilization; dental instruments; cross infection; infection control; transmissible diseases; Creutzfeldt-Jakob disease

1. Introduction

In addition to traditional infectious diseases not only from the human immunodeficiency virus (HIV), but also from Gram-negative bacteria and Gram-positive bacteria, fungi, mycobacteria, tuberculosis and hepatitis B and C, preventing the risk of Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) transmission is critical. Indeed, CJD is a fatal neurodegenerative disease that affects about one per million people per year [1,2]. The expected number of individuals suffering from the disease in 2020 is estimated to be between 80,000 and 136,000, according to different discordant sources and depending on the duration of incubation periods used [3]. Prions of CJD can be transmitted by various sources, including bovine spongiform encephalopathy, or iatrogenic routes such as growth hormones [4] or blood transfusions [5], or even dental care [6].

Though the risk of transmission during dental care is considered low, it cannot be overlooked, either [7,8]. The iatrogenic risk of a secondary infection related to an endodontic treatment when effective prion-inactivation procedures are not followed has been estimated to be between 3.4 and 13 cases per million treatments [9]. In oral health, the WHO regards human dental pulp as a “low-infectivity tissue” for prion diseases, given the presence of peripheral nerves [10], and the proximity of the nerves that make up the human dental pulp, with the central nervous system being a high-infectivity tissue [11,12]. These organisms can be transmitted in dental settings through direct contact with blood, oral fluids, or other patient materials, and indirect contact with contaminated objects (e.g., instruments, equipment, or environmental surfaces) [3]. Even if the risk is considered to be low, it is essential to observe good cleaning and sterilization practices as a means of preventing the iatrogenic transmission of prion proteins [13,14].

Given the high resistance of prions, conventional sterilization processes are inefficient in oral medicine [11]. Prions can be inactivated in a type B CLASS steam autoclave by standard EN 13060 as defined in the European Standard for Small Team Sterilisers at a temperature of 270 °F (134 °C) at 21 psi for 18 min [15–18]. The other cycles or types of autoclave do not make it possible to ensure the inactivation of the prions. By following the cleaning and sterilization recommendations for critical or semi-critical instruments, the iatrogenic risk of a secondary infection was practically zero [19].

Compliance with infection control recommendations and guidelines provides a safe working environment for dental health care personnel (DHCP) and their patients, to prevent or reduce the potential for infection transmission from patient to DHCP, from DHCP to patient, and from patient to patient [20–22]. Effective sterilization of instruments is crucial for prevention of transmission of communicable diseases, as well as delivery of quality dental care [23,24].

Changes in the guidelines in dental practices have evolved over time. The emergence of new data has resulted in the revision of the guideline standards with respect to the level of infectivity in tissues, the magnitude of the risk of infection for patients, and the definition of invasive procedures at risk of prion transmission, efficient protective processes against prions, processes of managing medical devices and instruments, and the conditions of their confinement and/or destruction. Although correct adherence to sterilization guidelines remains a high-priority challenge in terms of public health, poor compliance with standard practices has previously been documented [25,26]. No study specifically focusing on the successive steps of the sterilization of reusable instruments for preventing iatrogenic transmission of CJD in dental practice has been described in the literature.

The aim of this study was to evaluate, in accordance with the WHO guidelines, the observance of sterilization procedures for preventing iatrogenic transmission of Creutzfeldt-Jakob disease, including of reusable instruments in actual conditions of care in French dental practices.

2. Materials and Methods

2.1. Sample

The Rhône-Alpes region comprises 6.3 million inhabitants—9.8% of the total French population—with 67% residing in urban areas. 3765 general dental practitioners (GDP) work in

private practice, with very few working as employees (2%). Nearly two-thirds of practitioners (60.4%) practice their profession with other dentists, with only one-third reporting that they work alone. Dental practices with an average of at most one full-time equivalent (FTE) employee job represent more than half of the firms. More than a quarter had an average FTE of two and the remainder—almost a quarter—more than two. However, there are few practices with a total of more than five FTEs. As for the dentists' employees, their staff is divided into receptionists, assistants, and dental assistants (DAs). Among dental assistant jobs, 58% of jobs are full-time and the rest are part-time (7860). Dental assistants perform sterilization under the responsibility of the GDP.

All private GDPs of all GPD members of the regional professional organization in the Rhône-Alpes region were eligible for the study, except those who exclusively practiced without DAs (40%), with a minimum of one DA per dental office, except those who exclusively practiced as orthodontists (<1%). The recruitment procedure and details about dental offices' selection were based on the quota method: number of GDPs, number of DAs, number of dental units. The initial sample originally included 320, selected randomly.

DAs were invited to participate by email, which included the procedure for completing and returning the questionnaire. The positive response rate was 56%. The final sample originally also included 179 selected DAs. The DAs were invited to participate in the study by email via a link to the survey. All community-based DAs working in private practice were eligible for the study.

The respondents were assured that participation was voluntary. A single DA from each dental practice replied. The survey was conducted in 2017 as an anonymous online self-administered questionnaire. Implicit consent was assumed when a DA returned a completed questionnaire. Any data about the DAs who declined participation were collected. The questionnaires did not contain any identification data about respondents, and all collected data remained confidential throughout the study. The Regional Ethics Committee approved the study and it does not have any ethical issue or need for ethical approval code.

2.2. Development of the Questionnaire

The questionnaire included questions about thirty-three sterilization practices, distributed into four subscales of procedures: Group 1, Pre-sterilization cleaning of reusable instruments; Group 2, Biological verification of sterilization cycles—Monitoring steam sterilization procedures; Group 3, Autoclave performance and practitioner knowledge of autoclave use; Group 4, Monitoring and documentation of sterilization procedure—Tracking and tracing of the instrumentation.

The selection of the thirty-three practice items was based on the standard precautions adopted by the World Health Organization's (WHO) "Health Service Executive Standards and Recommended Practices for Dental Services in a Local Decontamination Unit (LDU)", HSE, 2012 (rev. edn 2014) applied by legislation in France via the French Ministry of Health [10,27,28].

Additional variables describing the dental practice as described above—number of dental units, number of dentists, number of DAs—were recorded.

The final version of the questionnaire was made up of 29 items. The questionnaire was also evaluated through a convenience sample from dental assistant students ($N = 39$). Content validity was determined by expert consensus, as well as exploratory and confirmatory factor analysis. The total scale demonstrated very good internal consistency (Cronbach's alpha: 0.71). Reproducibility was also very good, as the kappa coefficient was higher than 0.72 for the majority of items (range: 0.63 to 0.97). The survey took a mean of 17.4 min (± 4.3) to administer.

2.3. Interviews

The survey was conducted as an anonymous online self-administered questionnaire sent to each dental practice and was filled out by one of the assistants of the practice. Data were collected from the questionnaires described above. A single questionnaire was filled out per practice (statistical unit) by one of the assistants.

2.4. Variables

2.4.1. Criteria Studied

The process of sterilization of critical instruments for preventing iatrogenic transmission is divided into 3 steps: packaging, processing with a sterilizing agent, and verification of process efficacy.

2.4.2. Variables Generated from Indicators

The conformity to the guidelines was determined for each indicator. For binary variables, a positive answer was expected. When a procedure was described by the frequency of implementation, adherence to the guidelines was considered only when systematically performed (“always”). Percentages were computed after excluding the missing data and the “Not Applicable” category. The “No idea” category was coded as “not in compliance with the guidelines” as DAs are supposed to be aware of all sterilization procedures.

2.4.3. Global Descriptive Indicators

For each group, the sum of indicators was computed in conformity with the guidelines. A dental practice was considered as satisfactorily implementing a given group of procedures when over 80% of them were performed in accordance with the guidelines.

2.5. Analyses

The dental office was the statistical unit of the analyses. First, the descriptive characteristics of the dental practices (number of dental units, dentists and DAs) and the distributions of the 29 indicators were presented in each group. Then, the four global descriptive indicators were studied according to the number of dental units (−2 vs. 3+), sum of dentists + DAs in the practices (2–3; 4–5; 6+) and the DA/dentist ratio (<1; parity; >1).

Adherence to guidelines by practices was focused on their global adherence to the procedures of each group. Global adherence was based on the percentage of procedures correctly performed in each of the procedure groups. It was assumed that the “global adherence” to a given group procedure was “satisfactory” when over 80% of the procedures from the group were performed correctly. Thus, 4 global indicators were dichotomized into over 80% vs. lower than 80%, and these indicators were derived for each procedure group.

Interrelations between the different binary global indicators were then investigated, using pairwise comparisons, with chi-square tests (Fisher exact tests when validity criteria were not met). The level of agreement complemented these statistical tests. The interpretation of kappa coefficients was based on Cohen’s classification: ≤ 0 , no agreement; 0.01–0.20, poor; 0.21–0.40, fair; 0.41–0.60, moderate; 0.61–0.80, substantial; and 0.81–1.00, almost perfect agreement [29].

3. Results

3.1. Characteristics of Dental Practices

A total of 179 practices from the Rhône-Alpes region in France were included in the analyses. The number of dental units per practice ranged from 1 to 9, with 2 as the median value (Q25%–Q75% = 2–4). The maximum number of dentists per practice was 10, while the median value was only 2 (Q25%–Q75% = 1.5–3). The corresponding results for the number of assistants were 10, 2 and (Q25%–Q75% = 1–3). When considering the ratio of assistants to dentists, 53.1% of practices presented a parity in the number of dentists and assistants, 23.5% had more dentists than assistants, and vice-versa, for an equal proportion.

3.2. Conformity of Sterilization-Related Procedures

The adherence level to sterilization guidelines noticeably varied between dental practices according to the different procedures, from 20.7% to 82.6% (median percentage: 61.6%, Q25%–Q75% = 44.2%–71.1%).

- Group 1: Pre-sterilization cleaning of reusable instruments

Among the six indicators, the proportion of dental practices operating in accordance with the guidelines ranged from 26.3% (V4) to 78.8% (V2), and the median percentage was 58.1%. Only 23.4% of them were in conformity for over 80% of the indicators (5 or 6/6) (Table 1).

Table 1. Descriptive analysis: Conformity with sterilization-related procedures (Group 1) ($N = 179$).

Practice Items	N	%	% Conform to the Guidelines
V1 All medical devices are packaged in welded bags			75.42
Yes	135	75.42	
No	44	24.58	
V2 All autoclavable medical devices are autoclaved			78.77
Always	141	78.77	
Often	16	8.94	
Sometimes	10	5.59	
Seldom	10	5.59	
Never	2	1.12	
V3 All detachable instruments (turbines, etc.) are removed after each treatment, and processed separately			35.20
Always	63	35.20	
Often	19	10.61	
Sometimes	21	11.73	
Seldom	61	34.08	
Never	15	8.38	
V4 Instruments are dried manually and carefully, using a single-use non-woven cloth and/or filtered compressed air			26.25
Always	47	26.25	
Often	7	3.91	
Sometimes	9	5.03	
Seldom	80	44.69	
Never	11	6.15	
Not applicable	25	13.97	
V5 All pre-sterilization stages recommended by the manufacturer are followed			58.10
Always	104	58.10	
Often	15	8.38	
Sometimes	1	0.56	
Seldom	5	2.79	
Never	54	30.17	
V6 Inoperable custom-made devices are disposed of as healthcare waste			43.58
Yes	78	43.58	
No	8	4.47	
No idea	93	51.96	
Sum of procedures in accordance with Guidelines ($N = 154$)			
0	10	6.49	
1	20	12.99	
2	22	14.29	
3	32	20.78	
4	34	22.08	
5	21	13.64	
6	15	9.74	

Over 80% compliant behaviors: 23,38 (100%: 9.74)

- Group 2: Biological verification of sterilization cycles—Monitoring steam sterilization procedures

Only one indicator out of 9 in this group exceeded 60% for correct implementation of the procedure. The success rate for the others varied from 20.7% for V13 to 62.9% for V11 (median percentage 50.9%). Only 6.6% of them adhered to the guidelines for over 80% of the indicators (Table 2).

Table 2. Descriptive analysis: Biological verification of sterilization cycles—Monitoring steam sterilization procedure (Group 2) ($N = 179$).

Practice Items	N	%	% Conform to the Guidelines
V7 Update of device journal			41.90
Yes	75	41.90	
No	104	58.10	
V8 Autoclaves are suitable for reprocessing critical medical devices			43.58
Yes	78	43.58	
No	6	3.35	
No idea	95	53.07	
V9 Repeat reprocessing protocol is used in the event of failure			52.51
Always	94	52.51	
Often	9	5.03	
Sometimes	5	2.79	
Seldom	9	5.03	
Never	37	20.67	
No idea	25	13.97	
V10 Compliance of load release protocol			49.41
Always	84	49.41	
Often	10	5.88	
Sometimes	5	2.94	
Seldom	5	2.94	
Never	16	9.41	
No idea	45	26.47	
Not applicable	5	2.94	
V11 The steam sterilizer complies with standard EN 13060			62.94
Yes	107	62.94	
No idea	63	37.06	
V12 The personnel tasked with processing medical devices receives specific training, updated regularly			36.87
Yes	66	36.87	
No idea	113	63.13	
V13 There is a document in which all the events affecting the autoclave are noted (servicing, maintenance, breakdowns, etc.)			20.67
Yes	37	20.67	
No	142	79.33	
V14 Information provided by the manufacturers mention that rotary instrument holders (turbines, contra-angles and handpieces) are ready to be pre-disinfected, cleaned and sterilized			53.50
Always	84	53.50	
Often	14	8.92	
Sometimes	2	1.27	
Seldom	3	1.91	
Never	5	3.18	
No idea	41	26.11	
V15 After-sales service for the sterilizer is performed			53.25
Yes	82	53.25	
No	17	11.04	
No idea	55	35.71	

Table 2. Cont.

Practice Items	N	%	% Conform to the Guidelines
Sum of procedures in accordance with the Guidelines (N = 135)			Over 80%: 6.67 (100%: 0.74)
0	7	5.19	
1	7	5.19	
2	19	14.07	
3	13	9.63	
4	18	13.33	
5	25	18.52	
6	15	11.11	
7	22	16.30	
8	8	5.93	
9	1	0.74	

● Group 3: Autoclave performance and practitioner knowledge of autoclave use

Adherence to the recommendations ranged from 57.7% (V23) to 79.4% (V22) of dental practices (median value 69.2%). The prion cycle was properly performed by 68.2% of practices. Overall, 46.6% of practices successfully performed over 80% of the group procedures. 37.1% declared that they do not know how to comply with the norm EN 13060 type B; they only had an autoclave able to sterilize types of load such as dynamic instrumentation, handpieces, surgical suction cannulas, counter angles, surgical instruments and endo cannula instruments (Table 3).

Table 3. Descriptive analysis: Autoclave performance and practitioner knowledge of autoclave use (Group 3) (N = 179).

Practice Items	N	%	% Conform to the Guidelines
V16 Compliant implementation of prion cycle			68.21
Yes	118	68.21	
No	55	31.79	
V17 Handling, loading, monitoring			76.30
Always	132	76.30	
Often	30	17.34	
Sometimes	4	2.31	
Seldom	2	1.16	
Never	2	1.16	
No idea	2	1.16	
Not applicable	1	0.58	
V18 When loading the steam sterilizer, the manufacturer's recommendations are followed, or failing this, the bagged devices positioned are standing on edge, with paper touching paper and plastic touching plastic, without touching the walls, and not too tightly together			66.04
Always	105	66.04	
Often	23	14.47	
Sometimes	6	3.77	
Seldom	9	5.66	
Never	2	1.26	
No idea	7	4.40	
Not applicable	7	4.40	
V19 Temperature and duration of sterilization tray			70.32
Always	109	70.32	
Often	9	5.81	
Sometimes	1	0.65	
Seldom	5	3.23	
Never	17	10.97	
No idea	9	5.81	
Not applicable	9	5.81	

Table 3. Cont.

Practice Items	N	%	% Conform to the Guidelines
V20 Compliant result obtained for physicochemical integrator packaged inside bags and placed within the load			65.16
Always	101	65.16	
Often	6	3.87	
Sometimes	4	2.58	
Seldom	3	1.94	
Never	19	12.26	
No idea	9	5.81	
Not applicable	13	8.39	
V21 Result obtained for all flow indicators appearing on bags			68.39
Always	106	68.39	
Often	7	4.52	
Sometimes	3	1.94	
Seldom	2	1.29	
Never	18	11.61	
No idea	10	6.45	
Not applicable	9	5.81	
V22 Absence of moisture in bags and packaging integrity			79.35
Always	123	79.35	
Often	9	5.81	
Sometimes	3	1.94	
Seldom	1	0.65	
Never	7	4.52	
No idea	6	3.87	
Not applicable	6	3.87	
V23 Result of the last steam penetration test (Helix device)			57.69
Always	90	57.69	
Often	11	7.05	
Sometimes	7	4.49	
Seldom	9	5.77	
Never	22	14.10	
No idea	8	5.13	
Not applicable	9	5.77	
Sum of procedures in accordance with the Guidelines (N = 131)			Over 80%: 46.57 (100%: 22.14)
0	1	0.76	
1	4	3.05	
2	1	0.76	
3	10	7.63	
4	14	10.69	
5	20	15.27	
6	20	15.27	
7	32	24.43	
8	29	22.14	

- Group 4: Monitoring and documentation of sterilization procedure—Tracking and tracing the instrumentation

The correct implementation of the different procedures noticeably varied from 43.0% (V27) to 67.1% (V28). The median value was 58.2%. Overall, 38.6% of the dental practices reached the 80% threshold of indicators correctly performed (Table 4).

Table 4. Descriptive analysis: Monitoring and documentation of sterilization procedure—Tracking and tracing the instrumentation (Group 4) (N = 179).

Practice Items	N	%	% Conform to the Guidelines
V24 Quality of verification ensuring successful completion of cycle			51.96
Yes	92	51.96	
No	57	31.28	
No idea	30	16.76	
V25 Information required for traceability is entered in the I.T. system			58.23
Yes	92	58.23	
No	52	32.91	
No idea	14	8.86	
V26 I.T. system connects the medical device to the patient			45.86
Yes	72	45.86	
No	59	37.58	
No idea	26	16.56	
V27 Monthly monitoring of sterilization using biological indicators			43.05
Yes	65	43.05	
No	45	29.80	
No idea	41	27.15	
V28 Monitoring of sterilization using flow indicators			67.11
Yes	102	67.11	
No	21	13.82	
No idea	29	19.08	
V29 Monitoring of sterilization using integrators			63.58
Yes	96	63.58	
No	22	14.57	
No idea	33	21.85	
Sum of procedures in accordance with the Guidelines (N = 140)			Over 80% compliant behaviors: 38.57 (100%: 22.86)
0	15	10.71	
1	11	7.86	
2	19	13.57	
3	23	16.43	
4	18	12.86	
5	22	15.71	
6	32	22.86	

3.3. Stratified Global Indicators According to the Size of Dental Practices and the Relative Percentages of DAs in the Team

The percentage of global implementation of Group 4 procedures (>80%) was twice as high in dental practices with 3 or more dental units compared to the smaller ones ($p = 0.002$). Global adherence to Group 3 procedures was also better when the team included over 6 caregivers, although a U-shaped relationship appeared, with a nearly significant difference. Success of Group 2 procedures' global implementation was higher in the case of 3+ dental units, although caution is required, given the low percentages in this group. Other associations did not reach significance level, notably with DA/dentist ratio. Likewise, all associations were non-significant for Groups 1 and 3 (Table 5).

Table 5. Global adherence (>80%) to the four procedure groups ⁽¹⁾ according to the characteristics of dental practices.

Global Indicators		>80% of Compliant Procedures in Group 1, N = 154		>80% of Compliant Procedures in Group 2, N = 135		>80% of Compliant Procedures in Group 3, N = 129		>80% of Compliant Procedures in Group 4, N = 140	
		%	<i>p</i> -Value ⁽²⁾	%	<i>p</i> -Value ⁽²⁾	%	<i>p</i> -Value ⁽²⁾	%	<i>p</i> -Value ⁽²⁾
# of caregivers (dentists + dental assistants)	2–3	27.3		2.3		58.3		37.8	
	4–5	17.3		7.7		33.3		25.0	
	6+	25.9	0.44	9.6	0.34 *	49.1	0.07	49.1	0.05
	Total	23.4		6.6		46.6		38.6	
# of dental units	1–2	21.9		1.4		43.1		25.8	
	3+	25.0	0.65	12.3	0.01 *	50.0	0.42	51.4	0.002
	Total	23.4		6.6		46.6		38.6	
Ratio # of dental assistants/ # of dentists	<1	16.2		6.9		45.2		32.3	
	Parity	22.6		5.7		50.0		39.1	
	>1	33.3	0.23	8.3	0.87 *	47.1	0.98	43.2	0.63
	Total	23.4		6.6		46.6		38.6	

⁽¹⁾ Group 1: Pre-sterilization cleaning of reusable instruments; Group 2: Biological verification of sterilization cycles—Monitoring steam sterilization procedures; Group 3: Autoclave performance and practitioner knowledge of autoclave use; Group 4: Monitoring and documentation of sterilization procedure—Tracking and tracing the instrumentation; ⁽²⁾ Chi-square test or Fisher test in case of asterisk (*); #: Number in case of bookmark.

3.4. Interrelations between Stratified Global Indicators

● Pairwise comparisons

Significant pairwise associations were noted between global adherence to Group 4 procedures with the successful implementation of all other groups of procedures. There was, proportionally, a 2.5- and 2-fold increase in the successful implementation of Group 4 procedures when Group 3 and Group 4 procedures were properly followed, respectively. Corresponding levels of agreement were considered as “fair” for Group 3 procedures with virtually 75% of concordant practices and “poor” with Group 1 procedures. A significant association emerged between global adherence to Group 2 and Group 3, with a “poor” level of agreement. Conversely, Groups 1, 2 and 3 did not present any significant statistical pairwise associations with one another, while corresponding levels of agreement were all classified as “poor” (Table 6).

Nevertheless, the levels of agreement were only classified as “fair”, while the percentage of concordant practices regarding global adherence towards both groups approached 75% (Table 6). Global adherence to Group 4 procedures also correlated with good results for Group 1 procedures, though less markedly (Table 6). The significant association between correctly implementing Group 2 and Group 4 procedures must be cautiously interpreted, given the low proportion of dental practices globally implementing Group 2 procedures with success (Table 6). Conversely, the quality of autoclave use (Group 3) did not yield any significant association with global correct implementation of pre-sterilization cleaning (Group 1), with a poor level of agreement between both domains. Both groups of procedures were clearly distinguished in the multi-criteria analysis. There was no association with global adherence to biological verifications of cycles and monitoring steam procedures (Group 2), either. Likewise, other pairwise between-group comparisons (1 vs. 2 and 2 vs. 3) were not significant, either (Table 6).

Table 6. Pairwise statistical relationships and levels of agreement between global adherence to procedures (>80%) in the different groups ⁽¹⁾.

Global Indicators		>80% of Compliant Procedures Group 2			>80% of Compliant Procedures Group 3			>80% of Compliant Procedures Group 4		
		%	<i>p</i> -Value ⁽²⁾	Kappa ⁽³⁾ % Agreement	%	<i>p</i> -Value ⁽²⁾	Kappa ⁽³⁾ % Agreement	%	<i>p</i> -Value ⁽²⁾	Kappa ⁽³⁾ % Agreement
>80% of compliant procedures Group 1	>80%	10.7	0.17 * (<i>n</i> = 111)	κ = 0.096 74.8 Poor	62.5	0.22 (<i>n</i> = 112)	κ = 0.19 60.7 Poor	60.0	0.003 (<i>n</i> = 117)	κ = 0.26 67.5 Fair
	≤80%	3.6			40.0			29.9		
	Total	5.4			46.4			37.6		
>80% of compliant procedures Group 2	>80%				66.7	0.30 * (<i>n</i> = 117)	κ = 0.06 55.6 Poor	77.8	0.03 * (<i>n</i> = 127)	κ = 0.13 63.8 Poor
	≤80%				45.4			37.3		
	Total				47.0			40.2		
>80% of compliant procedures Group 3	>80%							62.1	<0.0001 (<i>n</i> = 121)	κ = 0.37 68.6 Fair
	≤80%							25.4		
	Total							43.0		

⁽¹⁾ Group 1: Pre-sterilization cleaning of reusable instruments; Group 2: Biological verification of sterilization cycles—Monitoring steam sterilization procedures; Group 3: Autoclave performance and practitioner knowledge of autoclave use; Group 4: Monitoring and documentation of sterilization procedure—Tracking and tracing of the instrumentation; ⁽²⁾ Chi-square test or Fisher test in case of asterisk (*); ⁽³⁾ Classification of level of agreement based on Cohen’s classification of Kappa values: ≤ 0 as indicating no agreement and 0.01–0.20 as none to slight, 0.21–0.40 as fair, 0.41–0.60 as moderate, 0.61–0.80 as substantial, and 0.81–1.00 as almost perfect agreement.

4. Discussion

Prions, the infectious agent of CJD, differ from other infectious agents as their infectivity can entail conformational modifications of normal prions [30]. They may not be inactivated by means of routine surgical instrument sterilization procedures [31]. As a consequence, the sterilization of prions requires the denaturation of the protein, resulting in an inactivation of pathological prions, which lose their ability to induce an abnormal folding of normal prions [32]. The high resistance of prions to standard sterilization methods warrants special procedures in the reprocessing of surgical instruments [33].

Despite the emergence of recent studies, evidence remains limited on the quality of implementation of sterilization procedures in dental practices [26]. This is one of the few recent surveys conducted on this topic in French dental practices and specifically focused on sterilization processes of instruments. As a rule, the overall adherence level to procedures was unsatisfactory for most of the 179 dental practices. The percentages of practices correctly performing over 80% of the procedures ranged from 6.6% to 45.7% in the four groups.

Some differences were noted between procedure groups. While all procedures in Group 3 were properly implemented by over 60% of practices, virtually none were in Group 2, which presented the highest failure rate regarding adherence to the guidelines. Despite these differences, our findings suggest that adherence to the different sterilization procedures remains globally inadequate in the majority of dental practices. The best global implementation of procedure groups did not reach the 50% threshold (46.6% in Group 3). Our worrisome results align with those of preceding studies [34–36].

This unsatisfactory situation could possibly be explained by several factors. Firstly, an inadequate knowledge or understanding of some detailed procedures should not be overlooked. Surprisingly, the “No idea” reply did not appear frequently in our results. Other reasons could be a lack of motivation or practical organizational issues, difficulty in complying with or understanding the guidelines [37,38], practical organizational issues, or merely lack of time [39].

Non-employer practitioners report that they cannot be used for financial reasons. For dentists who have employed receptionists, 21% say they entrust their receptionists with performing sterilization. These tasks are not the legal responsibility of a receptionist. (Non-employer practitioners report that they find it impossible to employ appropriate staff for financial reasons. Consequently, 21% of employers of receptionists state that they entrust the latter with the task of sterilization. However, this task is not part of a receptionist’s legal job duties). In France, the personnel qualified to work in the dental office are mainly aide assistants and dental assistants. Receptionists and secretaries, as their name indicates, are strictly assigned to administrative and reception tasks and are therefore not authorized to provide medical assistance with regard to sterilization, preparation of equipment and assistance.

Interestingly, some factors influencing adherence level to sterilization procedures have been identified, such as the number of daily patients, dentist age and/or gender [40], and the level of information received by dental caregivers on iatrogenic infectious risk [39,41], but further evidence is needed.

As a rule, correct performance of global indicators did not significantly vary with the dental practice-related factors studied, except for Group 4, wherein results were significantly better in practices with 3 or more dental units. A significant impact of the size also emerged for Group 2, though interpretation requires caution due to the low percentage of success (6.6%). Better adherence to sterilization procedures in larger practices has been described [42]. Bigger practices could be endowed with more resources in terms of space and available staff. Surprisingly, an impact of size of practices was not seen in Groups 1 and 4. Additionally, the DA/dentist ratio seemed to have a more limited influence. Overall, these data suggest that improvement in adherence to procedures is desirable for most dental practices, even among those of bigger size.

Some limitations should be borne in mind. Regions in France have considerable discretionary power over infrastructural spending, e.g., education, health, universities and research, and assistance to business owners. This has meant that the heads of wealthy regions such as Rhône-Alpes can be

high-profile positions. This is a restrictive criterion in our study that must be noted. In our study, a single DA of the practice completed the questionnaire on behalf of the whole team. Thus, we have no guarantee that identical replies would have been provided by any other DAs in practices with 2 or more DAs. We specifically focused on the indicators of sterilization for reusable instruments. The reusable critical instruments classified as being at high risk of infection primarily include invasive instrumentation (sensors, ... curette), and must be sterilized and kept sterile between each use. Other components of prevention, such as the presence of a dedicated area for the instrument cleaning, disinfections of surfaces, systematic hand washing, changing gloves after each patient, management of waste disposal, and water lines were not covered by the present study [43,44]. As our data originate from self-administered questionnaires, their validity may not be optimal, with a possible overestimation of adherence due to desirability bias, namely failure to report inadequate implementation of procedures. Our study sample, given the limited response rate, was not representative of the overall dental practices in France. Indeed, all of those enrolled in our study were endowed with one DA or more, whereas nearly half of dental practices have none at the national level. For these reasons, the actual adherence rate can reasonably be assumed to be even more alarming in a more representative sample or in French dental practices overall.

The present study bears implications both in terms of research and public health, given the risk of CJD infection contamination. Our findings underscore the need to strengthen the education of dentists and DAs toward improved implementation of procedures regarding sterilization of instruments. For better efficiency, a critical preliminary step should be the comprehensive investigation of the reasons why the different recommended procedures are inadequately performed by dental practices. Qualitative studies could contribute to identify these reasons, and particularly the different barriers encountered by dental practices. Before implementing any educational campaign, in view of choosing the optimal approach, it should be verified to which extent non-adherence to the different groups of procedures are intercorrelated with one another. It is crucial for all dental students to be up to date on current guidelines, equipment, and techniques for proper infection control. The gap found in our study between current scientific knowledge of the management of sterilization and their implementation in dental practices must challenge us. Identifying the cause of malfunctions should allow the necessary implementation of corrective and preventive measures.

However, education limited to a single session may not be sufficient to bring about any perennial change in daily behaviors. It does appear that an implementation strategy is required to encourage the implementation of the decontamination guidance [38]. Long-term regular training sessions could be useful, particularly in the case of deficient knowledge and/or awareness or motivation. Better adherence levels to sterilization procedures were consistently found when practices underwent continuous education [45,46], notably on prion contamination risk [47]. More generally, regular assessments of the quality of implementation of the different sterilization procedures are highly desirable at the national or regional level to monitor these public health issues on a regular basis.

5. Conclusions

In conclusion, the practitioner is obligated to provide results regarding sterilization. The practitioner, and no one else, is responsible for health safety and for infectious risks in his dental office. He is responsible for permanently establishing proof of his actions. These standard recommendations—simple, basic—may reduce the risk of CJD infections during care, but they must be impeccable in their implementation. Following the discovery of the tasks not being carried out according to the guidelines in force, it is urgent to anticipate and propose alternative measures, compulsory or not, for the near future.

Acknowledgments: The authors appreciate the valuable help of Garzuel, Hornet Company, Switzerland, for his technical advice.

Author Contributions: Denis Bourgeois and Florence Carrouel conceived the study, participated in its design, and helped to draft the manuscript. Claude Dussart and Ina Saliassi performed the research and helped to draft the manuscript. Laurent Laforest, Paul Tramini helped to perform the statistical analysis and to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Brandel, J.-P.; Peckeu, L.; Haik, S. The French surveillance network of Creutzfeldt–Jakob disease. Epidemiological data in France and worldwide. *Transfus. Clin. Biol.* **2013**, *20*, 395–397. [CrossRef] [PubMed]
2. EUROJCJD. European Creutzfeldt–Jakob Disease Surveillance Network: EUROJCJD Surveillance Data. Available online: <http://www.eurocjd.ed.ac.uk/surveillance%20data%201.html> (accessed on 25 February 2018).
3. Douet, J.Y.; Lacroux, C.; Aron, N.; Head, M.W.; Lukan, S.; Tillier, C.; Huor, A.; Cassard, H.; Arnold, M.; Beringue, V.; et al. Distribution and Quantitative Estimates of Variant Creutzfeldt–Jakob Disease Prions in Tissues of Clinical and Asymptomatic Patients. *Emerg. Infect. Dis.* **2017**, *23*, 946–956. [CrossRef] [PubMed]
4. Soundarya, S.; Usha, V.; Balaji, B. Prion Diseases of Human: A Review. *Int. J. Oral Maxillofac. Pathol.* **2013**, *4*, 43–49.
5. Llewelyn, C.A.; Hewitt, P.E.; Knight, R.S.; Amar, K.; Cousens, S.; Mackenzie, J. Possible transmission of variant Creutzfeldt–Jakob disease by blood transfusion. *Lancet* **2004**, *363*, 417–421. [PubMed]
6. De Pedro-Cuesta, J.; Glatzel, M.; Almazán, J.; Stoeck, K.; Mellina, V.; Puopolo, M.; Pocchiari, M.; Zerr, I.; Kretschmar, H.A.; Brandel, J.P.; et al. Human transmissible spongiform encephalopathies in eleven countries: Diagnostic pattern across time, 1993–2002. *BMC Public Health* **2006**, *6*, 278.
7. Sushma, B.; Gugwad, S.; Pavaskar, R.; Malik, S.A. Prions in dentistry: A need to be concerned and known. *J. Oral Maxillofac. Pathol.* **2016**, *20*, 111–114. [CrossRef] [PubMed]
8. Blanquet-Grossard, F.; Sazdovitch, V.; Jean, A.; Deslys, J.P.; Dormont, D.; Hauw, J.J.; Marion, D.; Brown, P.; Cesbron, J.Y. Prion protein is not detectable in dental pulp from patients with Creutzfeldt–Jakob disease. *J. Dent. Res.* **2000**, *79*, 700. [CrossRef] [PubMed]
9. Bourvis, N.; Boelle, P.Y.; Cesbran, J.Y.; Valleron, A.J. Risk assessment of transmission of sporadic Creutzfeldt–Jakob disease in endodontic practice in absence of adequate prion inactivation. *PLoS ONE* **2007**, *2*, e1330. [CrossRef]
10. World Health Organization. WHO Guidelines on Tissue Infectivity Distribution in TSEs. Available online: <http://www.who.int/bloodproducts/tse/WHO%20TSE%20Guidelines%20FINAL-22%20JuneupdatedNL.pdf> (accessed on 25 December 2016).
11. Jayanthi, P.; Thomas, P.; Bindhu, P.; Krishnapillai, R. Prion diseases in humans: Oral and dental implications. *N. Am. J. Med. Sci.* **2013**, *5*, 399–403. [CrossRef] [PubMed]
12. Spongiform Encephalopathy Advisory Committee (SEAC). SEAC Position Statement vCJD and Endodontic Dentistry. Available online: <http://www.vegsource.com/talk/madcow/messages/1000682.html> (accessed on 25 December 2016).
13. Walker, J.T.; Dickinson, J.; Sutton, J.M.; Raven, N.D.; Marsh, P.D. Cleanability of dental instruments—Implications of residual protein and risks from CJD. *Br. Dent. J.* **2007**, *203*, 395–401. [CrossRef] [PubMed]
14. Porter, S.R. Prion disease: Possible implications for oral health care. *J. Am. Dent. Assoc.* **2003**, *134*, 1486–1491. [PubMed]
15. World Health Organization. *WHO Infection Control Guidelines for Transmissible Spongiform Encephalopathies: Report of a WHO Consultation, Geneva, Switzerland, 23–26 March 1999*; WHO Communicable Disease Surveillance and Control: Geneva, Switzerland, 2000.
16. Guide to the European Union (Prevention of Sharps Injuries in the Healthcare Sector) Regulations, 2014, HAS. Available online: http://www.hsa.ie/eng/Publications_and_Forms/Publications/Healthcare_Sector/Sharps_Regulations_Guidelines_2014.pdf (accessed on 18 December 2016).
17. Sutton, J.M.; Dickinson, J.; Walker, J.T.; Raven, N.D. Methods to minimize the risks of Creutzfeldt–Jakob disease transmission by surgical procedures: Where to set the standard? *Clin. Infect.* **2006**, *43*, 757–764. [CrossRef]

18. Dental Council of Ireland. Code of Practice Relating to Infection Control in Dentistry: Infection, Prevention and Control Dublin, Ireland, April 2015. Available online: <http://www.dentalcouncil.ie/files/IPC%20Code%20-%20Final%20-%2020150402.pdf> (accessed on 25 February 2018).
19. Rutala, W.A.; Weber, D.J.; Society for Healthcare Epidemiology of America. Guideline for disinfection and sterilization of prion-contaminated medical instruments. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **2010**, *31*, 107–117. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Centers for Disease Control and Prevention. *Summary of Infection Prevention Practices in Dental Settings: Basic Expectations for Safe Care*; U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Division of Oral Health: Atlanta, GA, USA, 2016. Available online: <https://www.cdc.gov/oralhealth/infectioncontrol/pdf/safe-care.pdf> (accessed on 25 February 2018).
21. Kohn, W.G.; Collins, A.S.; Cleveland, J.L.; Harte, J.A.; Eklund, K.J.; Malwitz, D.M.; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for infection control in dental health-care settings—2003. *MMWR Recomm. Rep.* **2003**, *52*, 1–61. [[PubMed](#)]
22. Jakubovics, N.; Greenwood, M.; Meechan, J.G. General medicine and surgery for dental practitioners: Part 4. Infections and infection control. *Br. Dent. J.* **2014**, *217*, 73–77. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Saccucci, M.; Ierardo, G.; Protano, C.; Vitali, M.; Polimeni, A. How to manage the biological risk in a dental clinic: Current and future perspectives. *Minerva Stomatol.* **2017**, *66*, 232–239. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Sebastiani, F.R.; Dym, H.; Kirpalani, T. Infection Control in the Dental Office. *Dent. Clin. N. Am.* **2017**, *61*, 435–457. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Cleveland, J.L.; Bonito, A.J.; Corley, T.J.; Foster, M.; Barker, L.; Gordon Brown, G.; Lenfestey, N.; Lux, L. Advancing infection control in dental care settings: Factors associated with dentists' implementation of guidelines from the Centers for Disease Control and Prevention. *J. Am. Dent. Assoc.* **2012**, *143*, 1127–1138. [[PubMed](#)]
26. Gordon, B.L.; Burke, F.J.; Bagg, J.; Marlborough, H.S.; McHugh, E.S. Systematic review of adherence to infection control guidelines in dentistry. *J. Dent.* **2001**, *29*, 509–516. [[PubMed](#)]
27. Health Service Executive Standards and Recommended Practices for Dental Services in a Local Decontamination Unit (LDU), HSE, 2012. Available online: <https://www.hse.ie/eng/about/who/qid/quality-and-patient-safety-documents/standardsdentalldu.html> (accessed on 25 February 2018).
28. Guide de Prévention des Infections Liées aux Soins en Chirurgie Dentaire et en Stomatologie; Ministère de la Santé et des Solidarités, France, Direction Générale de la Santé: Paris, France, 2006. Available online: http://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/Guide_de_prevention_des_infections_liees_aux_soins_en_chirurgie_dentaire_et_en_stomatologie.pdf (accessed on 25 February 2018).
29. Cohen, J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ. Psychol. Measur.* **1960**, *20*, 37–47.
30. Das, A.S.; Zou, W.-Q. Prions: Beyond a Single Protein. *Clin. Microbiol. Rev.* **2016**, *29*, 633–658. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Rutala, W.A.; Weber, D.J. Disinfection and sterilization in health care facilities: What clinicians need to know. *Clin. Infect. Dis.* **2004**, *39*, 702–709. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Peretz, D.; Supattapone, S.; Giles, K.; Vergara, J.; Freyman, Y.; Lessard, P.; Safar, J.G.; Glidden, D.V.; McCulloch, C.; Nguyen, H.O.; et al. Inactivation of Prions by Acidic Sodium Dodecyl Sulfate. *J. Virol.* **2006**, *80*, 322–331. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Sakudo, A.; Ano, Y.; Onodora, T.; Nitta, K.; Shintani, H.; Ikuta, K.; Tanaka, Y. Fundamentals of prions and their inactivation (review). *Int. J. Mol. Med.* **2011**, *27*, 483–489. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Bonetti, D.; Young, L.; Black, I.; Cassie, H.; Ramsay, C.R.; Clarkson, J. Can't do it, won't do it! Developing a theoretically framed intervention to encourage better decontamination practice in Scottish dental practices. *Implement. Sci.* **2009**, *4*, 31. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Mutters, N.T.; Hägele, U.; Hagenfeld, D.; Hellwig, E.; Frank, U. Compliance with infection control practices in an university hospital dental clinic. *GMS Hyg. Infect. Control* **2014**. [[CrossRef](#)]
36. Su, J.; Deng, X.-H.; Sun, Z. A 10-year survey of compliance with recommended procedures for infection control by dentists in Beijing. *Int. Dent. J.* **2012**, *62*, 148–153. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Bonetti, D.; Clarkson, J.; Ramsay, C.; Young, L.; Cassie, H.; Black, I. Tailored action planning improves decontamination practice when providers are hugely variant in implementing guidance recommendations. *Eur. Health Psychol.* **2016**, *18*, 811.

38. Cheng, H.-C.; Su, C.-Y.; Huang, C.-F.; Chuang, C.-Y. Changes in compliance with recommended infection control practices and affecting factors among dentists in Taiwan. *J. Dent. Educ.* **2012**, *76*, 1684–1690. [[PubMed](#)]
39. Newlands, R.; Duncan, E.M.; Prior, M.; Elouafkaoui, P.; Elders, A.; Young, L.; Clarkson, J.E.; Ramsay, C.R.; Translation Research in a Dental Setting (TRiaDS) Research Methodology Group. Barriers and facilitators of evidence-based management of patients with bacterial infections among general dental practitioners: A theory-informed interview study. *Implement. Sci.* **2016**, *11*, 11. [[PubMed](#)]
40. Brêda-Albuquerque, F.; de Farias, A.B.; de Prado, M.G.; Orestes-Cardoso, S. Influence of clinicians' socio-demographic, professional and educational variables on their compliance with preventive measures against hepatitis B and C. *Oral Health Prev. Dent.* **2008**, *6*, 349–354. [[PubMed](#)]
41. Oosthuysen, J.; Potgieter, E.; Blignaut, E. Compliance with infection control recommendations in South African dental practices: A review of studies published between 1990 and 2007. *Int. Dent. J.* **2010**, *60*, 181–189. [[PubMed](#)]
42. McCarthy, G.M.; Koval, J.J.; MacDonald, J.K. Compliance with recommended infection control procedures among Canadian dentists: Results of a national survey. *Am. J. Infect. Control* **1999**, *27*, 377–384. [[PubMed](#)]
43. Bagg, J.; Smith, A.J.; Hurrell, D.; McHugh, S.; Irvine, G. Pre-sterilization cleaning of re-usable instruments in general dental practice. *Br. Dent. J.* **2007**, *202*, E22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Smith, A.J.; Bagg, J.; Hurrell, D.; McHugh, S. Sterilization of re-usable instruments in general dental practice. *Br. Dent. J.* **2007**, *203*, E16. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Kelsch, N.; Davis, C.A.; Essex, G.; Laughter, L.; Rowe, D.J. Effects of mandatory continuing education related to infection control on the infection control practices of dental hygienists. *Am. J. Infect. Control* **2017**, *45*, 926–928. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Moon, S.J.; Lee, K.J.; Han, S.Y. Effects of Infection Control Training on Dental Hygienists' Health Beliefs and Practices of Infection Control. *J. Dent. Hyg. Sci.* **2017**, *17*, 226–232.
47. Kee, Y.L.; Dhanraj, M. Prion Disease and Its Implication for Dentistry. *J. Pharm. Sci. Res.* **2016**, *8*, 1233–1236. [[CrossRef](#)]



© 2018 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Kuboniwa M, Lamont RJ. Subgingival biofilm formation. *Periodontol 2000*. févr 2010;52(1):38-52.
2. Wang Y, Zhou Y, Xiao X, Zheng J, Zhou H. Metaproteomics: A strategy to study the taxonomy and functionality of the gut microbiota. *J Proteomics*. 17 mars 2020;103737.
3. Minty M, Canceil T, Serino M, Burcelin R, Tercé F, Blasco-Baque V. Oral microbiota-induced periodontitis: a new risk factor of metabolic diseases. *Rev Endocr Metab Disord*. 2019;20(4):449-59.
4. Kilian M, Chapple ILC, Hannig M, Marsh PD, Meuric V, Pedersen AML, et al. The oral microbiome - an update for oral healthcare professionals. *Br Dent J*. 18 nov 2016;221(10):657-66.
5. Devine DA, Marsh PD, Meade J. Modulation of host responses by oral commensal bacteria. *J Oral Microbiol*. 2015;7:26941.
6. Dentino A, Lee S, Mailhot J, Hefti AF. Principles of periodontology. *Periodontol 2000*. févr 2013;61(1):16-53.
7. Carrouel F, Viennot S, Santamaria J, Veber P, Bourgeois D. Quantitative Molecular Detection of 19 Major Pathogens in the Interdental Biofilm of Periodontally Healthy Young Adults. *Front Microbiol*. 2016;7:840.
8. Oral health: prevention is key. *Lancet Lond Engl*. 3 janv 2009;373(9657):1.
9. Ferreira R, Michel RC, Greggi SLA, Resende MLR de, Sant'Ana ACP, Damante CA, et al. Prevention and Periodontal Treatment in Down Syndrome Patients: A Systematic Review. *PloS One*. 2016;11(6):e0158339.
10. Berchier CE, Slot DE, Haps S, Van der Weijden GA. The efficacy of dental floss in addition to a toothbrush on plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg*. nov 2008;6(4):265-79.
11. Poklepovic T, Worthington HV, Johnson TM, Sambunjak D, Imai P, Clarkson JE, et al. Interdental brushing for the prevention and control of periodontal diseases and dental caries in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 18 déc 2013;(12):CD009857.
12. Rasines G. The use of interdental brushes along with toothbrushing removes most plaque. *Evid Based Dent*. 2009;10(3):74.
13. Van der Weijden FA, Slot DE. Efficacy of homecare regimens for mechanical plaque removal in managing gingivitis a meta review. *J Clin Periodontol*. avr 2015;42 Suppl 16:S77-91.
14. Valkenburg C, Van der Weijden F, Slot DE. Is plaque regrowth inhibited by dentifrice?: A systematic review and meta-analysis with trial sequential analysis. *Int J Dent Hyg*. févr 2019;17(1):27-38.
15. Demarco FF, Meireles SS, Masotti AS. Over-the-counter whitening agents: a concise review. *Braz Oral Res*. 2009;23 Suppl 1:64-70.
16. Enioutina EY, Salis ER, Job KM, Gubarev MI, Krepkova LV, Sherwin CMT. Herbal Medicines: challenges in the modern world. Part 5. status and current directions of complementary and alternative herbal medicine worldwide. *Expert Rev Clin Pharmacol*. mars 2017;10(3):327-38.
17. Pereira EMR, da Silva JLDC, Silva FF, De Luca MP, Ferreira EFE, Lorentz TCM, et al. Clinical Evidence of the Efficacy of a Mouthwash Containing Propolis for the Control of Plaque and Gingivitis: A Phase II Study. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM*. 2011;2011:750249.
18. Varma SR, Sherif H, Serafi A, Fanas SA, Desai V, Abuhijleh E, et al. The Antiplaque Efficacy of Two Herbal-Based Toothpastes: A Clinical Intervention. *J Int Soc Prev Community Dent*. févr 2018;8(1):21-7.
19. Geidel A, Krüger M, Schrödl W, Jentsch H. Control of Plaque and Gingivitis by an Herbal Toothpaste - A Randomised Controlled Study. *Oral Health Prev Dent*. 2017;15(5):407-13.
20. Niazi FH, Kamran MA, Naseem M, AlShahrani I, Fraz TR, Hosein M. Anti-plaque Efficacy of Herbal Mouthwashes Compared to Synthetic Mouthwashes in Patients Undergoing Orthodontic Treatment: A Randomised Controlled Trial. *Oral Health Prev Dent*. 2018;16(5):409-16.
21. Takei HH. The interdental space. *Dent Clin North Am*. avr 1980;24(2):169-76.
22. Black G. Anatomie descriptive des dents humaines. 2e édition. Hachette; 174 p. (Medicine).
23. Cho H-S, Jang H-S, Kim D-K, Park J-C, Kim H-J, Choi S-H, et al. The effects of interproximal distance between roots on the existence of interdental papillae according to the distance from the contact point to the alveolar crest. *J Periodontol*. oct 2006;77(10):1651-7.
24. Montevicchi M, Checchi V, Piana L, Checchi L. Variables Affecting the Gingival Embrasure Space in Aesthetically Important Regions: Differences between Central and Lateral Papillae. *Open Dent J*. 2011;5:126-35.
25. Lindhe J, Karring T, Araujo M. The anatomy of periodontal tissues. In: *Clinical periodontology and implant dentistry*. 5^e éd. Oxford, UK: Blackwell Publishing; 2008. p. 6.
26. Mutha R, Mutha P, Dani N. papillary reconstruction: a case report. *J Periodontol Implant Dent*. 2015;7(1):33-4.
27. Cohen B. Morphological factors in the pathogenesis of periodontal disease. *Br Dent J*. 1959;107:31-9.
28. Sharma AA, Park JH. Esthetic considerations in interdental papilla: remediation and regeneration. *J Esthet Restor Dent*. 2010;22(1):18-28.
29. Wu Y, Tu Y, Huang S, Chan C. The influence of the distance from the contact point to the crest of bone on the presence of the interproximal dental papilla. *Chang Gung Med J*. 2003;26(11):822-8.
30. Chow YC, Eber RM, Tsao Y-P, Shotwell JL, Wang H-L. Factors associated with the appearance of gingival papillae. *J Clin Periodontol*. 2010;37(8):719-27.
31. Baab DA, Oberg PA, Holloway GA. Gingival blood flow measured with a laser Doppler flowmeter. *J*

- Periodontal Res. 1986;21(1):73-85.
32. Schroeder HE, Listgarten MA. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontol* 2000. 1997;13:91-120.
 33. Blatz MB, Hürzeler MB, Strub JR. Reconstruction of the lost interproximal papilla--presentation of surgical and nonsurgical approaches. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1999;19(4):395-406.
 34. Wolf F, Rateitschak E, Rateitschak K. *Parodontologie*. Paris: Masson; 2005. 532 p.
 35. Sharma AA, Park JH. Esthetic considerations in interdental papilla: remediation and regeneration. *J Esthet Restor Dent Off Publ Am Acad Esthet Dent Al*. févr 2010;22(1):18-28.
 36. Charon J, Mouton C. Cas cliniques. *Parodontie médicale*. CdP. 2003. 407 p.
 37. Gonzalez MKS, Almeida ALPF, Gregghi SLA, Pegoraro LF, Mondelli J, Moreno T. Interdental papillary house: a new concept and guide for clinicians. *Int J Periodontics Restorative Dent*. déc 2011;31(6):e87-93.
 38. Deepalakshmi D, Ahathya R, Raja S, Kumar A. Surgical reconstruction of lost interdental papilla a case report. *Perio*. 2007;4:34-7.
 39. Foulger TE, Tredwin CJ, Gill DS, Moles DR. The influence of varying maxillary incisal edge embrasure space and interproximal contact area dimensions on perceived smile aesthetics. *Br Dent J*. 14 août 2010;209(3):E4.
 40. Tarnow DP, Magner AW, Fletcher P. The effect of the distance from the contact point to the crest of bone on the presence or absence of the interproximal dental papilla. *J Periodontol*. déc 1992;63(12):995-6.
 41. Stappert CFJ, Tarnow DP, Tan JH-P, Chu SJ. Proximal contact areas of the maxillary anterior dentition. *Int J Periodontics Restorative Dent*. oct 2010;30(5):471-7.
 42. Sghaireen MG, Al-Zarea BK, Al-Shorman HM, Al-Omiri MK. Clinical measurement of the height of the interproximal contact area in maxillary anterior teeth. *Int J Health Sci*. nov 2013;7(3):325-30.
 43. Kolte AP, Kolte RA, Bawankar P. Proximal contact areas of maxillary anterior teeth and their influence on interdental papilla. *Saudi Dent J*. oct 2018;30(4):324-9.
 44. Takei H, Yamada H, Hau T. Maxillary anterior esthetics. Preservation of the interdental papilla. *Dent Clin North Am*. avr 1989;33(2):263-73.
 45. Nordland WP, Tarnow DP. A classification system for loss of papillary height. *J Periodontol*. oct 1998;69(10):1124-6.
 46. Cardaropoli D, Re S, Corrente G. The Papilla Presence Index (PPI): a new system to assess interproximal papillary levels. *Int J Periodontics Restorative Dent*. oct 2004;24(5):488-92.
 47. Apoorva M, Raghava V, Narayan S, Yadalam U. Inter dental papilla management: a review. *Int J Curr Res*. 2018;10(1):64650-3.
 48. Seibert J., Lindhe J. *Esthetics and periodontal therapy: textbook of clinical periodontology*. 2nd ed. Copenhagen; 1989.
 49. Bennani V, Baudouin C, Touati B. *Esthétique et profil d'émergence en implantologie*. In Paris, France: CdP; 2000. p. 116.
 50. Kolte A, Kolte R, Bodhare G. Association between the central papilla and embrasure crown morphology in different gingival biotypes - a cross-sectional study. *Int J Esthet Dent*. 2016;11(4):550-63.
 51. Kao RT, Fagan MC, Conte GJ. Thick vs. thin gingival biotypes: a key determinant in treatment planning for dental implants. *J Calif Dent Assoc*. 2008;36(3):193-8.
 52. Kois JC. Predictable single tooth peri-implant esthetics: five diagnostic keys. *Compend Contin Educ Dent*. 2001;22(3):199-206; quiz 208.
 53. Pontoriero R, Carnevale G. Surgical crown lengthening: a 12-month clinical wound healing study. *J Periodontol*. 2001;72(7):841-8.
 54. Evans CDJ, Chen ST. Esthetic outcomes of immediate implant placements. *Clin Oral Implants Res*. 2008;19(1):73-80.
 55. Romeo E, Lops D, Rossi A, Storelli S, Rozza R, Chiapasco M. Surgical and prosthetic management of interproximal region with single-implant restorations: 1-year prospective study. *J Periodontol*. 2008;79(6):1048-55.
 56. Rafiee RM, Melamed S, Chao J. Predicting black triangles. Part II: interdental width. *J West Soc Periodontol Periodontal Abstr*. 2012;60(1):3-5.
 57. Singh VP, Uppoor AS, Nayak DG, Shah D. Black triangle dilemma and its management in esthetic dentistry. *Dent Res J*. mai 2013;10(3):296-301.
 58. Ahmad I. Anterior dental aesthetics: gingival perspective. *Br Dent J*. 27 août 2005;199(4):195-202.
 59. Olsson M, Lindhe J. Periodontal characteristics in individuals with varying form of the upper central incisors. *J Clin Periodontol*. janv 1991;18(1):78-82.
 60. Olsson M, Lindhe J, Marinello CP. On the relationship between crown form and clinical features of the gingiva in adolescents. *J Clin Periodontol*. sept 1993;20(8):570-7.
 61. Van der Velden U. Effect of age on the periodontium. *J Clin Periodontol*. 1984;11(5):281-94.
 62. Chang L. The association between embrasure morphology and central papilla recession: a noninvasive assessment method. *Chang Gung Med J*. 2007;30(5):445-52.

63. Ko-Kimura N, Kimura-Hayashi M, Yamaguchi M, Ikeda T, Meguro D, Kanekawa M, et al. Some factors associated with open gingival embrasures following orthodontic treatment. *Aust Orthod J.* avr 2003;19(1):19-24.
64. Chang L-C. Assessment of parameters affecting the presence of the central papilla using a non-invasive radiographic method. *J Periodontol.* avr 2008;79(4):603-9.
65. Schroeder HE, Listgarten MA. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontol* 2000. févr 1997;13:91-120.
66. Darveau RP. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nat Rev Microbiol.* juill 2010;8(7):481-90.
67. Groeger SE, Meyle J. Epithelial barrier and oral bacterial infection. *Periodontol* 2000. oct 2015;69(1):46-67.
68. Mestecky J. Saliva as a manifestation of the common mucosal immune system. *Ann N Y Acad Sci.* 20 sept 1993;694:184-94.
69. Cafiero C, Matarasso S. Predictive, preventive, personalised and participatory periodontology: 'the 5Ps age' has already started. *EPMA J.* 14 juin 2013;4(1):16.
70. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell.* 16 mars 2012;148(6):1258-70.
71. Ledeburg J, Mccray A. 'Ome sweet 'omics—a genealogical treasury of words. *Scientist.* 15:8-10.
72. Abusleme L, Dupuy AK, Dutzan N, Silva N, Burleson JA, Strausbaugh LD, et al. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *ISME J.* mai 2013;7(5):1016-25.
73. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu W-H, et al. The human oral microbiome. *J Bacteriol.* oct 2010;192(19):5002-17.
74. Zarco MF, Vess TJ, Ginsburg GS. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral Dis.* mars 2012;18(2):109-20.
75. Segata N, Haake SK, Mannon P, Lemon KP, Waldron L, Gevers D, et al. Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biol.* 14 juin 2012;13(6):R42.
76. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res.* mars 2013;69(1):137-43.
77. Li K, Bihan M, Methé BA. Analyses of the stability and core taxonomic memberships of the human microbiome. *PloS One.* 2013;8(5):e63139.
78. Marsh PD, Devine DA. How is the development of dental biofilms influenced by the host? *J Clin Periodontol.* mars 2011;38 Suppl 11:28-35.
79. Bowen WH, Burne RA, Wu H, Koo H. Oral Biofilms: Pathogens, Matrix, and Polymicrobial Interactions in Microenvironments. *Trends Microbiol.* 2018;26(3):229-42.
80. Segata N, Boernigen D, Tickle TL, Morgan XC, Garrett WS, Huttenhower C. Computational meta'omics for microbial community studies. *Mol Syst Biol.* 14 mai 2013;9:666.
81. Chen T, Yu W-H, Izard J, Baranova OV, Lakshmanan A, Dewhirst FE. The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. *Database J Biol Databases Curation.* 6 juill 2010;2010:baq013.
82. Palmer RJ. Composition and development of oral bacterial communities. *Periodontol* 2000. févr 2014;64(1):20-39.
83. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 13 juin 2012;486(7402):207-14.
84. Costalonga M, Herzberg MC. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. *Immunol Lett.* déc 2014;162(2 Pt A):22-38.
85. Liu B, Faller LL, Klitgord N, Mazumdar V, Ghodsi M, Sommer DD, et al. Deep sequencing of the oral microbiome reveals signatures of periodontal disease. *PloS One.* 2012;7(6):e37919.
86. Arweiler NB, Netuschil L. The Oral Microbiota. *Adv Exp Med Biol.* 2016;902:45-60.
87. Duran-Pinedo AE, Frias-Lopez J. Beyond microbial community composition: functional activities of the oral microbiome in health and disease. *Microbes Infect.* juill 2015;17(7):505-16.
88. Mark Welch JL, Rossetti BJ, Rieken CW, Dewhirst FE, Borisy GG. Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 9 févr 2016;113(6):E791-800.
89. Kolenbrander PE, Palmer RJ, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat Rev Microbiol.* juill 2010;8(7):471-80.
90. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol.* 2018;16(12):745-59.
91. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev.* avr 2002;15(2):167-93.
92. Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:7-15.
93. Flemming H-C, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol.* sept 2010;8(9):623-33.

94. Persat A, Nadell CD, Kim MK, Ingremeau F, Siryaporn A, Drescher K, et al. The mechanical world of bacteria. *Cell*. 21 mai 2015;161(5):988-97.
95. Flemming H-C, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol*. 11 2016;14(9):563-75.
96. Xiao J, Klein MI, Falsetta ML, Lu B, Delahunty CM, Yates JR, et al. The exopolysaccharide matrix modulates the interaction between 3D architecture and virulence of a mixed-species oral biofilm. *PLoS Pathog*. 2012;8(4):e1002623.
97. Liu Y, Kamesh AC, Xiao Y, Sun V, Hayes M, Daniell H, et al. Topical delivery of low-cost protein drug candidates made in chloroplasts for biofilm disruption and uptake by oral epithelial cells. *Biomaterials*. 2016;105:156-66.
98. Høiby N, Ciofu O, Johansen HK, Song Z, Moser C, Jensen PØ, et al. The clinical impact of bacterial biofilms. *Int J Oral Sci*. avr 2011;3(2):55-65.
99. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000*. 2005;38:135-87.
100. Mahajan A, Singh B, Kashyap D, Kumar A, Mahajan P. Interspecies communication and periodontal disease. *ScientificWorldJournal*. 2013;2013:765434.
101. Fuqua WC, Winans SC, Greenberg EP. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *J Bacteriol*. janv 1994;176(2):269-75.
102. Solano C, Echeverez M, Lasa I. Biofilm dispersion and quorum sensing. *Curr Opin Microbiol*. avr 2014;18:96-104.
103. Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW, Greenberg EP. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*. 10 avr 1998;280(5361):295-8.
104. Huang R, Li M, Gregory RL. Bacterial interactions in dental biofilm. *Virulence*. oct 2011;2(5):435-44.
105. Marsh PD, Zaura E. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *J Clin Periodontol*. mars 2017;44 Suppl 18:S12-22.
106. McNab R, Ford SK, El-Sabaeny A, Barbieri B, Cook GS, Lamont RJ. LuxS-based signaling in *Streptococcus gordonii*: autoinducer 2 controls carbohydrate metabolism and biofilm formation with *Porphyromonas gingivalis*. *J Bacteriol*. janv 2003;185(1):274-84.
107. Jang Y-J, Sim J, Jun H-K, Choi B-K. Differential effect of autoinducer 2 of *Fusobacterium nucleatum* on oral streptococci. *Arch Oral Biol*. nov 2013;58(11):1594-602.
108. Roberts AP, Kreth J. The impact of horizontal gene transfer on the adaptive ability of the human oral microbiome. *Front Cell Infect Microbiol*. 2014;4:124.
109. Lindsay JA. *Staphylococcus aureus* genomics and the impact of horizontal gene transfer. *Int J Med Microbiol IJMM*. mars 2014;304(2):103-9.
110. Olsen I, Tribble GD, Fiehn N-E, Wang B-Y. Bacterial sex in dental plaque. *J Oral Microbiol*. 2013;5.
111. Sukumar S, Roberts AP, Martin FE, Adler CJ. Metagenomic Insights into Transferable Antibiotic Resistance in Oral Bacteria. *J Dent Res*. 2016;95(9):969-76.
112. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annu Rev Microbiol*. 2000;54:49-79.
113. Kuang X, Chen V, Xu X. Novel Approaches to the Control of Oral Microbial Biofilms. *BioMed Res Int*. 2018;2018:6498932.
114. Otto M. Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity. *Annu Rev Med*. 2013;64:175-88.
115. Carpenter GH. The secretion, components, and properties of saliva. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2013;4:267-76.
116. Siqueira WL, Custodio W, McDonald EE. New insights into the composition and functions of the acquired enamel pellicle. *J Dent Res*. déc 2012;91(12):1110-8.
117. Rüdiger SG, Carlén A, Meurman JH, Kari K, Olsson J. Dental biofilms at healthy and inflamed gingival margins. *J Clin Periodontol*. juin 2002;29(6):524-30.
118. Brandtzaeg P. Secretory immunity with special reference to the oral cavity. *J Oral Microbiol*. 2013;5.
119. Offner GD, Troxler RF. Heterogeneity of high-molecular-weight human salivary mucins. *Adv Dent Res*. déc 2000;14:69-75.
120. Leito JTD, Ligtenberg AJM, Nazmi K, de Blicke-Hogervorst JMA, Veerman ECI, Nieuw Amerongen AV. A common binding motif for various bacteria of the bacteria-binding peptide SRCRP2 of DMBT1/gp-340/salivary agglutinin. *Biol Chem*. sept 2008;389(9):1193-200.
121. Murakami J, Terao Y, Morisaki I, Hamada S, Kawabata S. Group A streptococcus adheres to pharyngeal epithelial cells with salivary proline-rich proteins via GrpE chaperone protein. *J Biol Chem*. 22 juin 2012;287(26):22266-75.
122. Hojo K, Nagaoka S, Ohshima T, Maeda N. Bacterial interactions in dental biofilm development. *J Dent Res*. nov 2009;88(11):982-90.
123. Sharma A, Angulo-Bejarano PI, Soria S. Biofilms: Development and molecular interaction of microbiome in

the human oral cavity. In 2019. p. 61-75.

124. Guillhen C, Charbonnel N, Parisot N, Gueguen N, Iltis A, Forestier C, et al. Transcriptional profiling of *Klebsiella pneumoniae* defines signatures for planktonic, sessile and biofilm-dispersed cells. *BMC Genomics*. 15 mars 2016;17:237.
125. Wang R, Khan BA, Cheung GYC, Bach T-HL, Jameson-Lee M, Kong K-F, et al. Staphylococcus epidermidis surfactant peptides promote biofilm maturation and dissemination of biofilm-associated infection in mice. *J Clin Invest*. janv 2011;121(1):238-48.
126. Marks LR, Davidson BA, Knight PR, Hakansson AP. Interkingdom signaling induces *Streptococcus pneumoniae* biofilm dispersion and transition from asymptomatic colonization to disease. *mBio*. 23 juill 2013;4(4).
127. Carrouel F, Viennot S, Santamaria J, Veber P, Bourgeois D. Quantitative Molecular Detection of 19 Major Pathogens in the Interdental Biofilm of Periodontally Healthy Young Adults. *Front Microbiol* [Internet]. 2 juin 2016 [cité 28 févr 2019];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4889612/>
128. Camelo-Castillo AJ, Mira A, Pico A, Nibali L, Henderson B, Donos N, et al. Subgingival microbiota in health compared to periodontitis and the influence of smoking. *Front Microbiol*. 2015;6:119.
129. Settem RP, El-Hassan AT, Honma K, Stafford GP, Sharma A. *Fusobacterium nucleatum* and *Tannerella forsythia* induce synergistic alveolar bone loss in a mouse periodontitis model. *Infect Immun*. juill 2012;80(7):2436-43.
130. Krisanaprakornkit S, Kimball JR, Weinberg A, Darveau RP, Bainbridge BW, Dale BA. Inducible expression of human beta-defensin 2 by *Fusobacterium nucleatum* in oral epithelial cells: multiple signaling pathways and role of commensal bacteria in innate immunity and the epithelial barrier. *Infect Immun*. mai 2000;68(5):2907-15.
131. Ji S, Kim Y, Min B-M, Han SH, Choi Y. Innate immune responses of gingival epithelial cells to nonperiodontopathic and periodontopathic bacteria. *J Periodontol Res*. déc 2007;42(6):503-10.
132. Bartold PM, Van Dyke TE. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontol 2000*. juin 2013;62(1):203-17.
133. Theilade E. The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. nov 1986;13(10):905-11.
134. Rosier BT, De Jager M, Zaura E, Krom BP. Historical and contemporary hypotheses on the development of oral diseases: are we there yet? *Front Cell Infect Microbiol*. 2014;4:92.
135. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. févr 1998;25(2):134-44.
136. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res*. juill 1994;8(2):263-71.
137. Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiol Read Engl*. févr 2003;149(Pt 2):279-94.
138. Meyle J, Chapple I. Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000*. oct 2015;69(1):7-17.
139. Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet*. 13 mars 2012;13(4):260-70.
140. Idris A, Hasnain SZ, Huat LZ, Koh D. Human diseases, immunity and the oral microbiota—Insights gained from metagenomic studies. *Oral Sci Int*. 2017;14(2):27-32.
141. Jiao Y, Hasegawa M, Inohara N. The Role of Oral Pathobionts in Dysbiosis during Periodontitis Development. *J Dent Res*. juin 2014;93(6):539-46.
142. Griffen AL, Beall CJ, Campbell JH, Firestone ND, Kumar PS, Yang ZK, et al. Distinct and complex bacterial profiles in human periodontitis and health revealed by 16S pyrosequencing. *ISME J*. juin 2012;6(6):1176-85.
143. Darveau RP. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nat Rev Microbiol*. juill 2010;8(7):481-90.
144. Chow J, Tang H, Mazmanian SK. Pathobionts of the gastrointestinal microbiota and inflammatory disease. *Curr Opin Immunol*. août 2011;23(4):473-80.
145. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, Hashim A, Jotwani R, Eskan MA, et al. Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. *Cell Host Microbe*. 17 nov 2011;10(5):497-506.
146. Maekawa T, Krauss JL, Abe T, Jotwani R, Triantafilou M, Triantafilou K, et al. *Porphyromonas gingivalis* manipulates complement and TLR signaling to uncouple bacterial clearance from inflammation and promote dysbiosis. *Cell Host Microbe*. 11 juin 2014;15(6):768-78.
147. Van Dyke TE. Cellular and molecular susceptibility determinants for periodontitis. *Periodontol 2000*. 2007;45:10-3.
148. Armitage GC. AAP centennial commentary: theme 3: Evolution and application of classification systems for periodontal diseases--a retrospective commentary*. *J Periodontol*. mars 2014;85(3):369-71.
149. Page RC, Sturdivant EC. Noninflammatory destructive periodontal disease (NDPD). *Periodontol 2000*. 2002;30:24-39.
150. Lang NP, Joss A, Orsanic T, Gusberti FA, Siegrist BE. Bleeding on probing. A predictor for the progression

- of periodontal disease? *J Clin Periodontol.* juill 1986;13(6):590-6.
151. Mariotti A, Hefti AF. Defining periodontal health. *BMC Oral Health.* 2015;15 Suppl 1:S6.
 152. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000.* févr 2014;64(1):57-80.
 153. Di Benedetto A, Gigante I, Colucci S, Grano M. Periodontal disease: linking the primary inflammation to bone loss. *Clin Dev Immunol.* 2013;2013:503754.
 154. Hayashi C, Gudino CV, Gibson FC, Genco CA. Review: Pathogen-induced inflammation at sites distant from oral infection: bacterial persistence and induction of cell-specific innate immune inflammatory pathways. *Mol Oral Microbiol.* oct 2010;25(5):305-16.
 155. Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res.* déc 2010;89(12):1349-63.
 156. Bouchard P. *Parodontologie & dentisterie implantaire : Volume 1, Médecine parodontale.* Lavoisier MSP. Vol. 1. Lavoisier MSP; 2014. 720 p.
 157. Bouchard P, Carra MC, Boillot A, Mora F, Rangé H. Risk factors in periodontology: a conceptual framework. *J Clin Periodontol.* 2017;44(2):125-31.
 158. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol.* 2018;45 Suppl 20:S68-77.
 159. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol.* 2018;89 Suppl 1:S159-72.
 160. Hernández M, Dutzan N, García-Sesnich J, Abusleme L, Dezerega A, Silva N, et al. Host-pathogen interactions in progressive chronic periodontitis. *J Dent Res.* oct 2011;90(10):1164-70.
 161. Kebschull M, Demmer RT, Grün B, Guarnieri P, Pavlidis P, Papapanou PN. Gingival tissue transcriptomes identify distinct periodontitis phenotypes. *J Dent Res.* mai 2014;93(5):459-68.
 162. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global Burden of Severe Tooth Loss: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Dent Res.* juill 2014;93(7 Suppl):20S-28S.
 163. Chapple IL, Gilbert AD. *Understanding Periodontal Diseases: Assessment and Diagnostic Procedures in Practice.* Quintessence; 2002. 160 p.
 164. Arora M, Weuve J, Schwartz J, Wright RO. Association of environmental cadmium exposure with periodontal disease in U.S. adults. *Environ Health Perspect.* mai 2009;117(5):739-44.
 165. Armitage GC. Clinical evaluation of periodontal diseases. *Periodontol 2000.* févr 1995;7:39-53.
 166. Lang NP, Bartold PM. Periodontal health. *J Periodontol.* 2018;89 Suppl 1:S9-16.
 167. Carrouel F, Viennot S, Santamaria J, Veber P, Bourgeois D. Quantitative Molecular Detection of 19 Major Pathogens in the Interdental Biofilm of Periodontally Healthy Young Adults. *Front Microbiol.* 2016;7:840.
 168. Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease. *Aust Dent J.* sept 2009;54 Suppl 1:S11-26.
 169. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol.* 2018;45 Suppl 20:S1-8.
 170. Mattout C, Houvenaeghel B, Rachlin G, Mattout P. Nouvelle classification des conditions saines et pathologiques des tissus parodontaux et pe-ri-implantaires. *J Parodontol.* 2018;10.
 171. Kinane DF, Peterson M, Stathopoulou PG. Environmental and other modifying factors of the periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2006;40:107-19.
 172. Kornman KS. Contemporary approaches for identifying individual risk for periodontitis. *Periodontol 2000.* 2018;78(1):12-29.
 173. Lang NP, Tonetti MS. Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). *Oral Health Prev Dent.* 2003;1(1):7-16.
 174. Parameter on periodontal maintenance. American Academy of Periodontology. *J Periodontol.* mai 2000;71(5 Suppl):849-50.
 175. Hegde R, Awan KH. Effects of periodontal disease on systemic health. *Dis--Mon DM.* juin 2019;65(6):185-92.
 176. Bourgeois D, Inquimbent C, Ottolenghi L, Carrouel F. Periodontal Pathogens as Risk Factors of Cardiovascular Diseases, Diabetes, Rheumatoid Arthritis, Cancer, and Chronic Obstructive Pulmonary Disease-Is There Cause for Consideration? *Microorganisms.* 9 oct 2019;7(10).
 177. Dalal SR, Chang EB. The microbial basis of inflammatory bowel diseases. *J Clin Invest.* oct 2014;124(10):4190-6.
 178. Bansal M, Khatri M, Taneja V. Potential role of periodontal infection in respiratory diseases - a review. *J Med Life.* 15 sept 2013;6(3):244-8.
 179. Nosho K, Sukawa Y, Adachi Y, Ito M, Mitsuhashi K, Kurihara H, et al. Association of *Fusobacterium nucleatum* with immunity and molecular alterations in colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 14 janv

- 2016;22(2):557-66.
180. Flynn KJ, Baxter NT, Schloss PD. Metabolic and Community Synergy of Oral Bacteria in Colorectal Cancer. *mSphere*. juin 2016;1(3).
 181. Yao Q-W, Zhou D-S, Peng H-J, Ji P, Liu D-S. Association of periodontal disease with oral cancer: a meta-analysis. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. juill 2014;35(7):7073-7.
 182. Michaud DS, Fu Z, Shi J, Chung M. Periodontal Disease, Tooth Loss, and Cancer Risk. *Epidemiol Rev*. 01 2017;39(1):49-58.
 183. du Teil Espina M, Gabarrini G, Harmsen HJM, Westra J, van Winkelhoff AJ, van Dijk JM. Talk to your gut: the oral-gut microbiome axis and its immunomodulatory role in the etiology of rheumatoid arthritis. *FEMS Microbiol Rev*. 01 2019;43(1):1-18.
 184. Funaki S, Tokutomi F, Wada-Takahashi S, Yoshino F, Yoshida A, Machata Y, et al. Porphyromonas gingivalis infection modifies oral microcirculation and aortic vascular function in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHRSP). *Microb Pathog*. mars 2016;92:36-42.
 185. Poplawska-Kita A, Siewko K, Szpak P, Król B, Telejko B, Klimiuk PA, et al. Association between type 1 diabetes and periodontal health. *Adv Med Sci*. mars 2014;59(1):126-31.
 186. Stanko P, Izakovicova Holla L. Bidirectional association between diabetes mellitus and inflammatory periodontal disease. A review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czechoslov*. 2014;158(1):35-8.
 187. Bagavant H, Dunkleberger ML, Wolska N, Sroka M, Rasmussen A, Adrianto I, et al. Antibodies to periodontogenic bacteria are associated with higher disease activity in lupus patients. *Clin Exp Rheumatol*. févr 2019;37(1):106-11.
 188. Kinney JW, Bemiller SM, Murtishaw AS, Leisgang AM, Salazar AM, Lamb BT. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement N Y N*. 2018;4:575-90.
 189. Cestari JAF, Fabri GMC, Kalil J, Nitrini R, Jacob-Filho W, de Siqueira JTT, et al. Oral Infections and Cytokine Levels in Patients with Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment Compared with Controls. *J Alzheimers Dis JAD*. 19 2016;52(4):1479-85.
 190. Kane SF. The effects of oral health on systemic health. *Gen Dent*. déc 2017;65(6):30-4.
 191. Cantekin K, Arslan D, Delikan E. Presence and distribution of dental enamel defects, recurrent aphthous lesions and dental caries in children with celiac disease. *Pak J Med Sci*. 2015;31(3):606-9.
 192. Bui FQ, Almeida-da-Silva CLC, Huynh B, Trinh A, Liu J, Woodward J, et al. Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomed J*. 2019;42(1):27-35.
 193. Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. Systemic diseases caused by oral infection. *Clin Microbiol Rev*. oct 2000;13(4):547-58.
 194. Loesche WJ. Association of the oral flora with important medical diseases. *Curr Opin Periodontol*. 1997;4:21-8.
 195. Heimdahl A, Hall G, Hedberg M, Sandberg H, Söder PO, Tunér K, et al. Detection and quantitation by lysis-filtration of bacteremia after different oral surgical procedures. *J Clin Microbiol*. oct 1990;28(10):2205-9.
 196. Hernichel-Gorbach E, Kornman KS, Holt SC, Nichols F, Meador H, Kung JT, et al. Host responses in patients with generalized refractory periodontitis. *J Periodontol*. janv 1994;65(1):8-16.
 197. Atarashi K, Suda W, Luo C, Kawaguchi T, Motoo I, Narushima S, et al. Ectopic colonization of oral bacteria in the intestine drives TH1 cell induction and inflammation. *Science*. 20 2017;358(6361):359-65.
 198. Hatton GB, Madla CM, Rabbie SC, Basit AW. All disease begins in the gut: Influence of gastrointestinal disorders and surgery on oral drug performance. *Int J Pharm*. 5 sept 2018;548(1):408-22.
 199. Abed J, Emgård JEM, Zamir G, Faroja M, Almogy G, Grenov A, et al. Fap2 Mediates Fusobacterium nucleatum Colorectal Adenocarcinoma Enrichment by Binding to Tumor-Expressed Gal-GalNAc. *Cell Host Microbe*. 10 août 2016;20(2):215-25.
 200. Clemente JC, Manasson J, Scher JU. The role of the gut microbiome in systemic inflammatory disease. *BMJ*. 08 2018;360:j5145.
 201. Pickard JM, Zeng MY, Caruso R, Núñez G. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunol Rev*. sept 2017;279(1):70-89.
 202. Wang M, Krauss JL, Domon H, Hosur KB, Liang S, Magotti P, et al. Microbial hijacking of complement-toll-like receptor crosstalk. *Sci Signal*. 16 févr 2010;3(109):ra11.
 203. Takeuchi H, Hirano T, Whitmore SE, Morisaki I, Amano A, Lamont RJ. The serine phosphatase SerB of Porphyromonas gingivalis suppresses IL-8 production by dephosphorylation of NF- κ B RelA/p65. *PLoS Pathog*. 2013;9(4):e1003326.
 204. Scannapieco FA, Mylotte JM. Relationships between periodontal disease and bacterial pneumonia. *J Periodontol*. oct 1996;67(10 Suppl):1114-22.
 205. Woods DE, Straus DC, Johanson WG, Bass JA. Role of fibronectin in the prevention of adherence of Pseudomonas aeruginosa to buccal cells. *J Infect Dis*. juin 1981;143(6):784-90.
 206. Wilson M, Reddi K, Henderson B. Cytokine-inducing components of periodontopathogenic bacteria. *J Periodontal Res*. août 1996;31(6):393-407.

207. Zhang Y, Wang X, Li H, Ni C, Du Z, Yan F. Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother.* mars 2018;99:883-93.
208. Ho JT, Chan GC, Li JC. Systemic effects of gut microbiota and its relationship with disease and modulation. *BMC Immunol* [Internet]. 26 mars 2015 [cité 5 nov 2019];16. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4404277/>
209. Forkosh E, Ilan Y. The heart-gut axis: new target for atherosclerosis and congestive heart failure therapy. *Open Heart* [Internet]. 1 avr 2019 [cité 5 nov 2019];6(1). Disponible sur: <https://openheart.bmj.com/content/6/1/e000993>
210. Pragman AA, Lyu T, Baller JA, Gould TJ, Kelly RF, Reilly CS, et al. The lung tissue microbiota of mild and moderate chronic obstructive pulmonary disease. *Microbiome* [Internet]. 9 janv 2018 [cité 5 nov 2019];6. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5759273/>
211. Eriksson K, Fei G, Lundmark A, Benchimol D, Lee L, Hu YOO, et al. Periodontal Health and Oral Microbiota in Patients with Rheumatoid Arthritis. *J Clin Med* [Internet]. 8 mai 2019 [cité 29 oct 2019];8(5). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6572048/>
212. Balan P, Chong YS, Umashankar S, Swarup S, Loke WM, Lopez V, et al. Keystone Species in Pregnancy Gingivitis: A Snapshot of Oral Microbiome During Pregnancy and Postpartum Period. *Front Microbiol.* 2018;9:2360.
213. Aguayo S, Schuh CMAP, Vicente B, Aguayo LG. Association between Alzheimer's Disease and Oral and Gut Microbiota: Are Pore Forming Proteins the Missing Link? *J Alzheimers Dis JAD.* 2018;65(1):29-46.
214. Adolph M, Darnaud C, Thomas F, Pannier B, Danchin N, Batty GD, et al. Oral health in relation to all-cause mortality: the IPC cohort study. *Sci Rep.* 15 2017;7:44604.
215. Bahekar AA, Singh S, Saha S, Molnar J, Arora R. The prevalence and incidence of coronary heart disease is significantly increased in periodontitis: a meta-analysis. *Am Heart J.* nov 2007;154(5):830-7.
216. Pussinen PJ, Jousilahti P, Alfthan G, Palosuo T, Asikainen S, Salomaa V. Antibodies to periodontal pathogens are associated with coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1 juill 2003;23(7):1250-4.
217. Haraszthy VI, Zambon JJ, Trevisan M, Zeid M, Genco RJ. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol.* oct 2000;71(10):1554-60.
218. Nakano K, Inaba H, Nomura R, Nemoto H, Takeda M, Yoshioka H, et al. Detection of cariogenic *Streptococcus mutans* in extirpated heart valve and atheromatous plaque specimens. *J Clin Microbiol.* sept 2006;44(9):3313-7.
219. Slocum C, Coats SR, Hua N, Kramer C, Papadopoulos G, Weinberg EO, et al. Distinct lipid a moieties contribute to pathogen-induced site-specific vascular inflammation. *PLoS Pathog.* juill 2014;10(7):e1004215.
220. Herzberg MC, Meyer MW. Effects of oral flora on platelets: possible consequences in cardiovascular disease. *J Periodontol.* oct 1996;67(10 Suppl):1138-42.
221. Sharma A, Novak EK, Sojar HT, Swank RT, Kuramitsu HK, Genco RJ. *Porphyromonas gingivalis* platelet aggregation activity: outer membrane vesicles are potent activators of murine platelets. *Oral Microbiol Immunol.* déc 2000;15(6):393-6.
222. Hajishengallis G, Wang M, Bagby GJ, Nelson S. Importance of TLR2 in early innate immune response to acute pulmonary infection with *Porphyromonas gingivalis* in mice. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 sept 2008;181(6):4141-9.
223. Heo S-M, Sung RS, Scannapieco FA, Haase EM. Genetic relationships between *Candida albicans* strains isolated from dental plaque, trachea, and bronchoalveolar lavage fluid from mechanically ventilated intensive care unit patients. *J Oral Microbiol.* 2011;3.
224. Gomes-Filho IS, de Oliveira TFL, da Cruz SS, Passos-Soares J de S, Trindade SC, Oliveira MT, et al. Influence of periodontitis in the development of nosocomial pneumonia: a case control study. *J Periodontol.* mai 2014;85(5):e82-90.
225. Porto AN, Borges AH, Rocatto G, Matos FZ, Borba AM, Pedro FLM, et al. Periodontal and Microbiological Profile of Intensive Care Unit Inpatients. *J Contemp Dent Pract.* 1 oct 2016;17(10):807-14.
226. Centor RM, Atkinson TP, Ratliff AE, Xiao L, Crabb DM, Estrada CA, et al. The clinical presentation of *Fusobacterium*-positive and streptococcal-positive pharyngitis in a university health clinic: a cross-sectional study. *Ann Intern Med.* 17 févr 2015;162(4):241-7.
227. Roulis E, Polkinghorne A, Timms P. *Chlamydia pneumoniae*: modern insights into an ancient pathogen. *Trends Microbiol.* mars 2013;21(3):120-8.
228. Yamaguchi H, Oshio I, Osaki T, Kurata S, Yamamoto Y, Kamiya S. Development of diabetes in non-obese diabetic mice promotes *Chlamydia pneumoniae* dissemination from lung to peripheral blood. *Int J Exp Pathol.* avr 2006;87(2):121-9.
229. Campbell LA, Rosenfeld ME. Infection and Atherosclerosis Development. *Arch Med Res.* juill 2015;46(5):339-50.
230. Agarwal R, Baid R. Periodontitis and diabetes: A bidirectional, cyclical relationship - A brief review. *Acta Medica Int.* 1 juill 2017;4(2):46.
231. Nishimura F, Iwamoto Y, Mineshiba J, Shimizu A, Soga Y, Murayama Y. Periodontal disease and diabetes mellitus: the role of tumor necrosis factor-alpha in a 2-way relationship. *J Periodontol.* janv 2003;74(1):97-102.

232. Yki-Järvinen H, Sammalkorpi K, Koivisto VA, Nikkilä EA. Severity, duration, and mechanisms of insulin resistance during acute infections. *J Clin Endocrinol Metab.* août 1989;69(2):317-23.
233. Fernández-Real J-M, López-Bermejo A, Vendrell J, Ferri M-J, Recasens M, Ricart W. Burden of infection and insulin resistance in healthy middle-aged men. *Diabetes Care.* mai 2006;29(5):1058-64.
234. Sugiyama S, Takahashi S-S, Tokutomi F-A, Yoshida A, Kobayashi K, Yoshino F, et al. Gingival vascular functions are altered in type 2 diabetes mellitus model and/or periodontitis model. *J Clin Biochem Nutr.* sept 2012;51(2):108-13.
235. Teeuw WJ, Gerdes VEA, Loos BG. Effect of periodontal treatment on glycemie control of diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care.* févr 2010;33(2):421-7.
236. Preshaw PM, Bissett SM. Periodontitis and diabetes. *Br Dent J.* oct 2019;227(7):577-84.
237. Llambés F, Arias-Herrera S, Caffesse R. Relationship between diabetes and periodontal infection. *World J Diabetes.* 10 juill 2015;6(7):927-35.
238. Negrato CA, Tarzia O, Jovanović L, Chinellato LEM. Periodontal disease and diabetes mellitus. *J Appl Oral Sci Rev FOB.* févr 2013;21(1):1-12.
239. Xavier ACV, Silva IN, Costa F de O, Corrêa DS. [Periodontal status in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* avr 2009;53(3):348-54.
240. Wen B-W, Tsai C-S, Lin C-L, Chang Y-J, Lee C-F, Hsu C-H, et al. Cancer risk among gingivitis and periodontitis patients: a nationwide cohort study. *QJM Mon J Assoc Physicians.* avr 2014;107(4):283-90.
241. Inaba H, Sugita H, Kuboniwa M, Iwai S, Hamada M, Noda T, et al. Porphyromonas gingivalis promotes invasion of oral squamous cell carcinoma through induction of proMMP9 and its activation. *Cell Microbiol.* janv 2014;16(1):131-45.
242. Gao S, Li S, Ma Z, Liang S, Shan T, Zhang M, et al. Presence of Porphyromonas gingivalis in esophagus and its association with the clinicopathological characteristics and survival in patients with esophageal cancer. *Infect Agent Cancer.* 2016;11:3.
243. Binder Gallimidi A, Fischman S, Revach B, Bulvik R, Maliutina A, Rubinstein AM, et al. Periodontal pathogens Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum promote tumor progression in an oral-specific chemical carcinogenesis model. *Oncotarget.* 8 sept 2015;6(26):22613-23.
244. Ha NH, Woo BH, Kim DJ, Ha ES, Choi JI, Kim SJ, et al. Prolonged and repetitive exposure to Porphyromonas gingivalis increases aggressiveness of oral cancer cells by promoting acquisition of cancer stem cell properties. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med.* déc 2015;36(12):9947-60.
245. Fukugaiti MH, Ignacio A, Fernandes MR, Ribeiro Júnior U, Nakano V, Avila-Campos MJ. High occurrence of Fusobacterium nucleatum and Clostridium difficile in the intestinal microbiota of colorectal carcinoma patients. *Braz J Microbiol Publ Braz Soc Microbiol.* déc 2015;46(4):1135-40.
246. Hwang G, Liu Y, Kim D, Sun V, Aviles-Reyes A, Kajfasz JK, et al. Simultaneous spatiotemporal mapping of in situ pH and bacterial activity within an intact 3D microcolony structure. *Sci Rep.* 08 2016;6:32841.
247. Warren RL, Freeman DJ, Pleasance S, Watson P, Moore RA, Cochrane K, et al. Co-occurrence of anaerobic bacteria in colorectal carcinomas. *Microbiome.* 15 mai 2013;1(1):16.
248. Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, et al. Fusobacterium nucleatum infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res.* févr 2012;22(2):299-306.
249. Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, Michaud M, Duke F, Earl AM, et al. Genomic analysis identifies association of Fusobacterium with colorectal carcinoma. *Genome Res.* févr 2012;22(2):292-8.
250. Yu Y-N, Yu T-C, Zhao H-J, Sun T-T, Chen H-M, Chen H-Y, et al. Berberine may rescue Fusobacterium nucleatum-induced colorectal tumorigenesis by modulating the tumor microenvironment. *Oncotarget.* 13 oct 2015;6(31):32013-26.
251. Dissick A, Redman RS, Jones M, Rangan BV, Reimold A, Griffiths GR, et al. Association of periodontitis with rheumatoid arthritis: a pilot study. *J Periodontol.* févr 2010;81(2):223-30.
252. Zhao X, Liu Z, Shu D, Xiong Y, He M, Xu S, et al. Association of Periodontitis with Rheumatoid Arthritis and the Effect of Non-Surgical Periodontal Treatment on Disease Activity in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.* 20 août 2018;24:5802-10.
253. Rodríguez-Lozano B, González-Febles J, Garnier-Rodríguez JL, Dadlani S, Bustabad-Reyes S, Sanz M, et al. Association between severity of periodontitis and clinical activity in rheumatoid arthritis patients: a case-control study. *Arthritis Res Ther.* 18 janv 2019;21(1):27.
254. Maresz KJ, Hellvard A, Sroka A, Adamowicz K, Bielecka E, Koziel J, et al. Porphyromonas gingivalis facilitates the development and progression of destructive arthritis through its unique bacterial peptidylarginine deiminase (PAD). *PLoS Pathog.* sept 2013;9(9):e1003627.
255. Lundberg K, Wegner N, Yucel-Lindberg T, Venables PJ. Periodontitis in RA-the citrullinated enolase connection. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6(12):727-30.
256. Koziel J, Mydel P, Potempa J. The link between periodontal disease and rheumatoid arthritis: an updated review. *Curr Rheumatol Rep.* mars 2014;16(3):408.
257. Gaur S, Agnihotri R. Alzheimer's disease and chronic periodontitis: is there an association? *Geriatr Gerontol*

- Int. avr 2015;15(4):391-404.
258. McGeer PL, McGeer EG. Inflammation, autotoxicity and Alzheimer disease. *Neurobiol Aging*. déc 2001;22(6):799-809.
259. Kothari M, Spin-Neto R, Nielsen JF. Comprehensive oral-health assessment of individuals with acquired brain-injury in neuro-rehabilitation setting. *Brain Inj*. 2016;30(9):1103-8.
260. Lehrer S. Nasal NSAIDs for Alzheimer's Disease. *Am J Alzheimers Dis Other Demen*. août 2014;29(5):401-3.
261. Rubio-Perez JM, Morillas-Ruiz JM. A review: inflammatory process in Alzheimer's disease, role of cytokines. *ScientificWorldJournal*. 2012;2012:756357.
262. Kamer AR, Craig RG, Pirraglia E, Dasanayake AP, Norman RG, Boylan RJ, et al. TNF-alpha and antibodies to periodontal bacteria discriminate between Alzheimer's disease patients and normal subjects. *J Neuroimmunol*. 30 nov 2009;216(1-2):92-7.
263. Poole S, Singhrao SK, Kesavalu L, Curtis MA, Crean S. Determining the presence of periodontopathic virulence factors in short-term postmortem Alzheimer's disease brain tissue. *J Alzheimers Dis JAD*. 2013;36(4):665-77.
264. Ellen RP, Galimanas VB. Spirochetes at the forefront of periodontal infections. *Periodontol* 2000. 2005;38:13-32.
265. Hammond CJ, Hallock LR, Howanski RJ, Appelt DM, Little CS, Balin BJ. Immunohistological detection of Chlamydia pneumoniae in the Alzheimer's disease brain. *BMC Neurosci*. 23 sept 2010;11:121.
266. Roulis E, Bachmann NL, Myers GSA, Huston W, Summersgill J, Hudson A, et al. Comparative genomic analysis of human Chlamydia pneumoniae isolates from respiratory, brain and cardiac tissues. *Genomics*. déc 2015;106(6):373-83.
267. Poole S, Singhrao SK, Chukkapalli S, Rivera M, Velsko I, Kesavalu L, et al. Active invasion of Porphyromonas gingivalis and infection-induced complement activation in ApoE-/- mice brains. *J Alzheimers Dis JAD*. 2015;43(1):67-80.
268. Sparks Stein P, Steffen MJ, Smith C, Jicha G, Ebersole JL, Abner E, et al. Serum antibodies to periodontal pathogens are a risk factor for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. mai 2012;8(3):196-203.
269. Han MK, Huang YJ, Lipuma JJ, Boushey HA, Boucher RC, Cookson WO, et al. Significance of the microbiome in obstructive lung disease. *Thorax*. mai 2012;67(5):456-63.
270. Vamos CA, Thompson EL, Avendano M, Daley EM, Quinonez RB, Boggess K. Oral health promotion interventions during pregnancy: a systematic review. *Community Dent Oral Epidemiol*. oct 2015;43(5):385-96.
271. Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunol*. janv 2015;15(1):30-44.
272. Ebersole JL, Stevens J, Steffen MJ, Dawson Iii D, Novak MJ. Systemic endotoxin levels in chronic indolent periodontal infections. *J Periodontal Res*. févr 2010;45(1):1-7.
273. Kaur M, Geisinger ML, Geurs NC, Griffin R, Vassilopoulos PJ, Vermeulen L, et al. Effect of intensive oral hygiene regimen during pregnancy on periodontal health, cytokine levels, and pregnancy outcomes: a pilot study. *J Periodontol*. déc 2014;85(12):1684-92.
274. Han YW, Wang X. Mobile microbiome: oral bacteria in extra-oral infections and inflammation. *J Dent Res*. juin 2013;92(6):485-91.
275. Han YW, Fardini Y, Chen C, Iacampo KG, Peraino VA, Shamonki JM, et al. Term stillbirth caused by oral Fusobacterium nucleatum. *Obstet Gynecol*. févr 2010;115(2 Pt 2):442-5.
276. Kunnen A, van Pampus MG, Aarnoudse JG, van der Schans CP, Abbas F, Faas MM. The effect of Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide on pregnancy in the rat. *Oral Dis*. sept 2014;20(6):591-601.
277. Schenkein HA, Bradley JL, Purkall DB. Anticardiolipin in porphyromonas gingivalis antisera causes fetal loss in mice. *J Dent Res*. sept 2013;92(9):814-8.
278. Koga K, Mor G. Toll-like receptors at the maternal-fetal interface in normal pregnancy and pregnancy disorders. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. juin 2010;63(6):587-600.
279. Chaparro A, Blanlot C, Ramírez V, Sanz A, Quintero A, Inostroza C, et al. Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola and toll-like receptor 2 are associated with hypertensive disorders in placental tissue: a case-control study. *J Periodontal Res*. déc 2013;48(6):802-9.
280. Gauthier S, Tétu A, Himaya E, Morand M, Chandad F, Rallu F, et al. The origin of Fusobacterium nucleatum involved in intra-amniotic infection and preterm birth. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. nov 2011;24(11):1329-32.
281. Katz J, Chegini N, Shiverick KT, Lamont RJ. Localization of P. gingivalis in preterm delivery placenta. *J Dent Res*. juin 2009;88(6):575-8.
282. Werth VP. Clinical manifestations of cutaneous lupus erythematosus. *Autoimmun Rev*. juin 2005;4(5):296-302.
283. Kyttaris VC. Systemic Lupus Erythematosus: From Genes to Organ Damage. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2010;662:265-83.
284. Rekvig OP, Van der Vlag J. The pathogenesis and diagnosis of systemic lupus erythematosus: still not

- resolved. *Semin Immunopathol.* mai 2014;36(3):301-11.
285. Sete MRC, Figueredo CM da S, Sztajn bok F. Periodontitis and systemic lupus erythematosus. *Rev Bras Reumatol Engl Ed.* 1 mars 2016;56(2):165-70.
 286. Rutter-Locher Z, Smith TO, Giles I, Sofat N. Association between Systemic Lupus Erythematosus and Periodontitis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Front Immunol.* 2017;8:1295.
 287. Fabbri C, Fuller R, Bonfá E, Guedes LKN, D'Alleva PSR, Borba EF. Periodontitis treatment improves systemic lupus erythematosus response to immunosuppressive therapy. *Clin Rheumatol.* 1 avr 2014;33(4):505-9.
 288. Corrêa JD, Calderaro DC, Ferreira GA, Mendonça SMS, Fernandes GR, Xiao E, et al. Subgingival microbiota dysbiosis in systemic lupus erythematosus: association with periodontal status. *Microbiome* [Internet]. 20 mars 2017 [cité 12 sept 2017];5. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5359961/>
 289. Golub LM, Payne JB, Reinhardt RA, Nieman G. Can systemic diseases co-induce (not just exacerbate) periodontitis? A hypothetical « two-hit » model. *J Dent Res.* févr 2006;85(2):102-5.
 290. Loe H, Theilade E, Jensen SB. EXPERIMENTAL GINGIVITIS IN MAN. *J Periodontol.* juin 1965;36:177-87.
 291. Kuru B, Ince Kuka G, Tunar O. Role of the Mechanical Interdental Plaque Control in the Management of Periodontal Health: How Many Options Do We Have? In 2018.
 292. Badersten A, Nilveus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. *J Clin Periodontol.* janv 1984;11(1):63-76.
 293. Ng E, Lim LP. An Overview of Different Interdental Cleaning Aids and Their Effectiveness. *Dent J.* 1 juin 2019;7(2).
 294. Magnusson I, Lindhe J, Yoneyama T, Liljenberg B. Recolonization of a subgingival microbiota following scaling in deep pockets. *J Clin Periodontol.* mars 1984;11(3):193-207.
 295. Van der Weijden GA, Hioe KPK. A systematic review of the effectiveness of self-performed mechanical plaque removal in adults with gingivitis using a manual toothbrush. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:214-28.
 296. De la Rosa M, Zacarias Guerra J, Johnston DA, Radike AW. Plaque growth and removal with daily toothbrushing. *J Periodontol.* déc 1979;50(12):661-4.
 297. Slot DE, Wiggelinkhuizen L, Rosema N a. M, Van der Weijden GA. The efficacy of manual toothbrushes following a brushing exercise: a systematic review. *Int J Dent Hyg.* août 2012;10(3):187-97.
 298. Bourgeois D, David A, Inquimbert C, Tramini P, Molinari N, Carrouel F. Quantification of carious pathogens in the interdental microbiota of young caries-free adults. *PloS One.* 2017;12(10):e0185804.
 299. Zimmermann H, Zimmermann N, Hagenfeld D, Veile A, Kim T-S, Becher H. Is frequency of tooth brushing a risk factor for periodontitis? A systematic review and meta-analysis. *Community Dent Oral Epidemiol.* avr 2015;43(2):116-27.
 300. Sreenivasan PK, Prasad KVV. Distribution of dental plaque and gingivitis within the dental arches. *J Int Med Res.* oct 2017;45(5):1585-96.
 301. American Dental Association. Accepted dental therapeutics. Chicago: Council on Dental Therapeutics of the American Dental Association. 1984.
 302. Asadoorian J, Locker D. The impact of quality assurance programming: a comparison of two canadian dental hygienist programs. *J Dent Educ.* sept 2006;70(9):965-71.
 303. Warren PR, Chater BV. An overview of established interdental cleaning methods. *J Clin Dent.* 1996;7(3 Spec No):65-9.
 304. Lang WP, Ronis DL, Farghaly MM. Preventive behaviors as correlates of periodontal health status. *J Public Health Dent.* 1995;55(1):10-7.
 305. Fischman SL. The history of oral hygiene products: how far have we come in 6000 years? *Periodontol.* oct 1997;15:7-14.
 306. Kotsakis GA, Lian Q, Ioannou AL, Michalowicz BS, John MT, Chu H. A network meta-analysis of interproximal oral hygiene methods in the reduction of clinical indices of inflammation. *J Periodontol.* 2018;89(5):558-70.
 307. Sambunjak D, Nickerson JW, Poklepovic T, Johnson TM, Imai P, Tugwell P, et al. Flossing for the management of periodontal diseases and dental caries in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 7 déc 2011;(12):CD008829.
 308. Ng E, Lim LP. An Overview of Different Interdental Cleaning Aids and Their Effectiveness. *Dent J.* 1 juin 2019;7(2).
 309. Sälzer S, Slot DE, Van der Weijden FA, Dörfer CE. Efficacy of inter-dental mechanical plaque control in managing gingivitis--a meta-review. *J Clin Periodontol.* avr 2015;42 Suppl 16:S92-105.
 310. Matthews D. Weak, unreliable evidence suggests flossing plus toothbrushing may be associated with a small reduction in plaque. *Evid Based Dent.* mars 2012;13(1):5-6.
 311. Hujoel PP, Cunha-Cruz J, Banting DW, Loesche WJ. Dental flossing and interproximal caries: a systematic review. *J Dent Res.* avr 2006;85(4):298-305.
 312. Pucher J, Jayaprakash P, Aftyka T, Sigman L, Van Swol R. Clinical evaluation of a new flossing device.

- Quintessence Int Berl Ger 1985. avr 1995;26(4):273-8.
313. Blanck M, Mankodi S, Wesley P, Tasket R, Nelson B. Evaluation of the plaque removal efficacy of two commercially available dental floss devices. *J Clin Dent*. 2007;18(1):1-6.
 314. Kleber CJ, Putt MS. Formation of flossing habit using a floss-holding device. *J Dent Hyg JDH*. mars 1990;64(3):140-3.
 315. Azcarate-Velázquez F, Garrido-Serrano R, Castillo-Dalí G, Serrera-Figallo M-A, Gañán-Calvo A, Torres-Lagares D. Effectiveness of flossing loops in the control of the gingival health. *J Clin Exp Dent*. juin 2017;9(6):e756-61.
 316. Van der Weijden GA, Slot DE. Chapter 3: interdental oral hygiene: the evidence [Internet]. Adelaide Asian Pacific Society of Periodontology; 2012 [cité 23 mars 2020]. Disponible sur: <https://dare.uva.nl/search?identifier=00c21ae9-be5a-42f2-9596-3afeb2e29f48>
 317. Hoenderdos NL, Slot DE, Paraskevas S, Van der Weijden GA. The efficacy of woodsticks on plaque and gingival inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg*. nov 2008;6(4):280-9.
 318. Galgut PN. The need for interdental cleaning. *Dent Health (London)*. nov 1991;30(5):8-11.
 319. Bergholtz A, Brithon J. Plaque removal by dental floss or toothpicks. An intra-individual comparative study. *J Clin Periodontol*. déc 1980;7(6):516-24.
 320. Zanatta FB, de Mattos WD, Moreira CHC, Gomes SC, Rösing CK. Efficacy of plaque removal by two types of toothpick. *Oral Health Prev Dent*. 2008;6(4):309-14.
 321. Finkelstein P, Yost KG, Grossman E. Mechanical devices versus antimicrobial rinses in plaque and gingivitis reduction. *Clin Prev Dent*. sept 1990;12(3):8-11.
 322. Gjerme P, Flötra L. The plaque removing effect of dental floss and toothpicks a group-comparison study. *J Periodontol Res*. 1969;4(2):170.
 323. Ciancio SG. The dental water jet: a product ahead of its time. *Compend Contin Educ Dent Jamesburg NJ* 1995. mars 2009;30 Spec No 1:7-13; quiz 14.
 324. Bhaskar SN, Cutright DE, Gross A, Frisch J, Beasley JD, Perez B. Water jet devices in dental practice. *J Periodontol*. oct 1971;42(10):658-64.
 325. Lobene RR. The effect of a pulsed water pressure cleansing device on oral health. *J Periodontol*. nov 1969;40(11):667-70.
 326. Hoover DR, Robinson HB. The comparative effectiveness of a pulsating oral irrigator as an adjunct in maintaining oral health. *J Periodontol*. janv 1971;42(1):37-9.
 327. Lainson PA, Bergquist JJ, Fraleigh CM. A longitudinal study of pulsating water pressure cleansing devices. *J Periodontol*. juill 1972;43(7):444-6.
 328. Al-Mubarak S, Ciancio S, Aljada A, Mohanty P, Ross C, Dandona P. Comparative evaluation of adjunctive oral irrigation in diabetics. *J Clin Periodontol*. avr 2002;29(4):295-300.
 329. Khatri M, Malik AS, Bansal M, Puri K, Gupta G, Kumar A. Effect of supragingival oral irrigation as an adjunct to toothbrushing on plaque accumulation in chronic generalized gingivitis patients. *J Indian Soc Periodontol*. août 2017;21(4):296-302.
 330. Hugoson A. Effect of the Water Pik device on plaque accumulation and development of gingivitis. *J Clin Periodontol*. mai 1978;5(2):95-104.
 331. Emslie R. The value of oral hygiene. *Br Dent J*. 1964;(117):373-83.
 332. Sanders PC, Linden GJ, Newman HN. The effects of a simplified mechanical oral hygiene regime plus supragingival irrigation with chlorhexidine or metronidazole on subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. mars 1986;13(3):237-42.
 333. Chaves ES, Kornman KS, Manwell MA, Jones AA, Newbold DA, Wood RC. Mechanism of irrigation effects on gingivitis. *J Periodontol*. nov 1994;65(11):1016-21.
 334. Flemmig TF, Newman MG, Doherty FM, Grossman E, Meckel AH, Bakdash MB. Supragingival irrigation with 0.06% chlorhexidine in naturally occurring gingivitis. I. 6 month clinical observations. *J Periodontol*. févr 1990;61(2):112-7.
 335. Rosema NAM, Hennequin-Hoenderdos NL, Berchier CE, Slot DE, Lyle DM, van der Weijden GA. The effect of different interdental cleaning devices on gingival bleeding. *J Int Acad Periodontol*. janv 2011;13(1):2-10.
 336. Worthington HV, MacDonald L, Poklepovic Pericic T, Sambunjak D, Johnson TM, Imai P, et al. Home use of interdental cleaning devices, in addition to toothbrushing, for preventing and controlling periodontal diseases and dental caries. *Cochrane Database Syst Rev*. 10 2019;4:CD012018.
 337. Gallie A. Home use of interdental cleaning devices and toothbrushing and their role in disease prevention. *Evid Based Dent*. déc 2019;20(4):103-4.
 338. Waerhaug J. The interdental brush and its place in operative and crown and bridge dentistry. *J Oral Rehabil*. avr 1976;3(2):107-13.
 339. Chapple ILC, Van der Weijden F, Doerfer C, Herrera D, Shapira L, Polak D, et al. Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis. *J Clin Periodontol*. avr 2015;42 Suppl 16:S71-76.
 340. Slot DE, Dörfer CE, Van der Weijden GA. The efficacy of interdental brushes on plaque and parameters of periodontal inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg*. nov 2008;6(4):253-64.

341. Imai P, Hatzimanolakis P. Interdental brush in type I embrasures: Examiner blinded randomised clinical trial of bleeding and plaque efficacy. *Can J Dent Hyg.* 2011;(45):13-20.
342. Christou V, Timmerman MF, Van der Velden U, Van der Weijden FA. Comparison of different approaches of interdental oral hygiene: interdental brushes versus dental floss. *J Periodontol.* juill 1998;69(7):759-64.
343. Vogel M, Sener B, Roos M, Attin T, Schmidlin PR. Interdental cleaning and gingival injury potential of interdental toothbrushes. *Swiss Dent J.* 2014;124(12):1290-301.
344. Sicilia A, Arregui I, Gallego M, Cabezas B, Cuesta S. Home oral hygiene revisited. Options and evidence. *Oral Health Prev Dent.* 2003;1 Suppl 1:407-22; discussion 423-425.
345. Bourgeois D, Carrouel F, Llodra JC, Bravo M, Viennot S. A Colorimetric Interdental Probe as a Standard Method to Evaluate Interdental Efficiency of Interdental Brush. *Open Dent J.* 2015;9:431-7.
346. Cutress TW, Ainamo J, Sardo-Infirri J. The community periodontal index of treatment needs (CPITN) procedure for population groups and individuals. *Int Dent J.* déc 1987;37(4):222-33.
347. Rapp GE, Barbosa Júnior A de A, Mendes AJD, Motta ACF, Bião MA de A, Garcia RV. Technical assessment of WHO-621 periodontal probe made in Brazil. *Braz Dent J.* 2002;13(1):61-5.
348. Carrouel F, Llodra JC, Viennot S, Santamaria J, Bravo M, Bourgeois D. Access to Interdental Brushing in Periodontal Healthy Young Adults: A Cross-Sectional Study. *PloS One.* 2016;11(5):e0155467.
349. Jordan RA, Hong HM, Lucaciu A, Zimmer S. Efficacy of straight versus angled interdental brushes on interproximal tooth cleaning: a randomized controlled trial. *Int J Dent Hyg.* mai 2014;12(2):152-7.
350. Chongcharoen N, Lulic M, Lang NP. Effectiveness of different interdental brushes on cleaning the interproximal surfaces of teeth and implants: a randomized controlled, double-blind cross-over study. *Clin Oral Implants Res.* mai 2012;23(5):635-40.
351. Hennequin-Hoenderdos NL, van der Sluijs E, van der Weijden GA, Slot DE. Efficacy of a rubber bristles interdental cleaner compared to an interdental brush on dental plaque, gingival bleeding and gingival abrasion: A randomized clinical trial. *Int J Dent Hyg.* août 2018;16(3):380-8.
352. Abouassi T, Woelber JP, Holst K, Stampf S, Doerfer CE, Hellwig E, et al. Clinical efficacy and patients' acceptance of a rubber interdental bristle. A randomized controlled trial. *Clin Oral Investig.* sept 2014;18(7):1873-80.
353. Graziani F, Palazzolo A, Gennai S, Karapetsa D, Giuca MR, Cei S, et al. Interdental plaque reduction after use of different devices in young subjects with intact papilla: A randomized clinical trial. *Int J Dent Hyg.* août 2018;16(3):389-96.
354. Bergenholtz A, Olsson A. Efficacy of plaque-removal using interdental brushes and waxed dental floss. *Scand J Dent Res.* juin 1984;92(3):198-203.
355. Jackson MA, Kellett M, Worthington HV, Clerehugh V. Comparison of interdental cleaning methods: a randomized controlled trial. *J Periodontol.* août 2006;77(8):1421-9.
356. Kiger RD, Nylund K, Feller RP. A comparison of proximal plaque removal using floss and interdental brushes. *J Clin Periodontol.* oct 1991;18(9):681-4.
357. Noorlin I, Watts TLP. A comparison of the efficacy and ease of use of dental floss and interproximal brushes in a randomised split mouth trial incorporating an assessment of subgingival plaque. *Oral Health Prev Dent.* 2007;5(1):13-8.
358. Rösing CK, Daut F, Festugatto FE, Oppermann RV. Efficacy of interdental plaque control aids in periodontal maintenance patients: A comparative study. *Oral Health Prev Dent.* 2006;4(2):99-103.
359. Valkenburg C, Slot DE, Bakker EWP, Van der Weijden FA. Does dentifrice use help to remove plaque? A systematic review. *J Clin Periodontol.* 2016;43(12):1050-8.
360. Serrano J, Escribano M, Roldán S, Martín C, Herrera D. Efficacy of adjunctive anti-plaque chemical agents in managing gingivitis: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* avr 2015;42 Suppl 16:S106-138.
361. van der Weijden F, Slot DE. Oral hygiene in the prevention of periodontal diseases: the evidence. *Periodontol* 2000. févr 2011;55(1):104-23.
362. Valkenburg C, Else Slot D, Van der Weijden GF. What is the effect of active ingredients in dentifrice on inhibiting the regrowth of overnight plaque? A systematic review. *Int J Dent Hyg.* mai 2020;18(2):128-41.
363. Reglementation des produits cosmetiques. 2014;23.
364. Varoni E, Tarce M, Lodi G, Carrassi A. Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art. *Minerva Stomatol.* sept 2012;61(9):399-419.
365. Walsh T, Oliveira-Neto JM, Moore D. Chlorhexidine treatment for the prevention of dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 13 avr 2015;(4):CD008457.
366. Tevatia S. Delivery Vehicles for Antiplaque Agents. *J Formul Sci Bioavailab.* 15 juill 2017;1.
367. Magaz VR, Llovera BF, Martí M, Garre A. Clinical Impact and Cosmetic Acceptability of Chlorhexidine-enriched Toothpaste and Mouthwash Application on Periodontal Disease: A Randomized Clinical Study. *J Contemp Dent Pract.* 1 nov 2018;19(11):1295-300.
368. Cosyn J, Wyn I, De Rouck T, Sabzevar MM. Long-term clinical effects of a chlorhexidine varnish implemented treatment strategy for chronic periodontitis. *J Periodontol.* mars 2006;77(3):406-15.
369. Duarte F de F, Lotufo RFM, Pannuti CM. Local delivery of chlorhexidine gluconate in patients with

- aggressive periodontitis. *J Int Acad Periodontol.* janv 2008;10(1):31-5.
370. Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque CM, Arias-Moliz T, de Castro P, Aguado B, Baca P. Antimicrobial activity of alexidine, chlorhexidine and cetrime against *Streptococcus mutans* biofilm. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 20 août 2014;13:41.
371. Rodrigues CRMD, Markezan M, Barroso LP, Grande RHM, Myaki SI, Kabakura V, et al. Effect of chlorhexidine-thymol varnish on caries lesion development in first permanent molars. *J Clin Dent.* 2008;19(1):18-21.
372. Strobel S, Hellwig E. The effects of matrix-metallo- proteinases and chlorhexidine on the adhesive bond. *Swiss Dent J.* 2015;125(2):134-45.
373. Slot DE, Berchier CE, Addy M, Van der Velden U, Van der Weijden GA. The efficacy of chlorhexidine dentifrice or gel on plaque, clinical parameters of gingival inflammation and tooth discoloration: a systematic review. *Int J Dent Hyg.* févr 2014;12(1):25-35.
374. Santos A. Evidence-based control of plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol.* 2003;30 Suppl 5:13-6.
375. Supranoto SC, Slot DE, Addy M, Van der Weijden GA. The effect of chlorhexidine dentifrice or gel versus chlorhexidine mouthwash on plaque, gingivitis, bleeding and tooth discoloration: a systematic review. *Int J Dent Hyg.* mai 2015;13(2):83-92.
376. Barbour ME, Maddocks SE, Wood NJ, Collins AM. Synthesis, characterization, and efficacy of antimicrobial chlorhexidine hexametaphosphate nanoparticles for applications in biomedical materials and consumer products. *Int J Nanomedicine.* 2013;8:3507-19.
377. Zhu B, Macleod LC, Kitten T, Xu P. *Streptococcus sanguinis* biofilm formation & interaction with oral pathogens. *Future Microbiol.* 01 2018;13:915-32.
378. Seneviratne CJ, Leung KC-F, Wong C-H, Lee S-F, Li X, Leung PC, et al. Nanoparticle-Encapsulated Chlorhexidine against Oral Bacterial Biofilms. *PLOS ONE.* 29 août 2014;9(8):e103234.
379. Priyadarsini S, Mukherjee S, Mishra M. Nanoparticles used in dentistry: A review. *J Oral Biol Craniofacial Res.* 2018;8(1):58-67.
380. Walsh T, Worthington HV, Glennly A-M, Marinho VC, Jeroncic A. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries. *Cochrane Database Syst Rev.* 04 2019;3:CD007868.
381. Gunsolley JC. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc* 1939. déc 2006;137(12):1649-57.
382. Mazza JE, Newman MG, Sims TN. Clinical and antimicrobial effect of stannous fluoride on periodontitis. *J Clin Periodontol.* juin 1981;8(3):203-12.
383. He T, Barker ML, Goyal CR, Biesbrock AR. Anti-gingivitis effects of a novel 0.454% stabilized stannous fluoride dentifrice relative to a positive control. *Am J Dent.* juin 2012;25(3):136-40.
384. Johannsen A, Emilson C-G, Johannsen G, Konradsson K, Lingström P, Ramberg P. Effects of stabilized stannous fluoride dentifrice on dental calculus, dental plaque, gingivitis, halitosis and stain: A systematic review. *Heliyon.* déc 2019;5(12):e02850.
385. Sensabaugh C, Sagel ME. Stannous fluoride dentifrice with sodium hexametaphosphate: review of laboratory, clinical and practice-based data. *J Dent Hyg JDH.* 2009;83(2):70-8.
386. Paraskevas S, van der Weijden GA. A review of the effects of stannous fluoride on gingivitis. *J Clin Periodontol.* janv 2006;33(1):1-13.
387. Sälzer S, Slot DE, Dörfer CE, Van der Weijden GA. Comparison of triclosan and stannous fluoride dentifrices on parameters of gingival inflammation and plaque scores: a systematic review and meta-analysis. *Int J Dent Hyg.* févr 2015;13(1):1-17.
388. Fine DH, Sreenivasan PK, McKiernan M, Tischio-Bereski D, Furgang D. Whole mouth antimicrobial effects after oral hygiene: comparison of three dentifrice formulations. *J Clin Periodontol.* nov 2012;39(11):1056-64.
389. Sreenivasan PK, Tischio-Bereski D, Fine DH. Reduction in bacteremia after brushing with a triclosan/copolymer dentifrice-A randomized clinical study. *J Clin Periodontol.* oct 2017;44(10):1020-8.
390. Hioe KPKJ, van der Weijden GA. The effectiveness of self-performed mechanical plaque control with triclosan containing dentifrices. *Int J Dent Hyg.* nov 2005;3(4):192-204.
391. Drury B, Scott J, Rosi-Marshall EJ, Kelly JJ. Triclosan exposure increases triclosan resistance and influences taxonomic composition of benthic bacterial communities. *Environ Sci Technol.* 6 août 2013;47(15):8923-30.
392. Nietch CT, Quinlan EL, Lazorchak JM, Impellitteri CA, Raikow D, Walters D. Effects of a chronic lower range of triclosan exposure on a stream mesocosm community. *Environ Toxicol Chem.* déc 2013;32(12):2874-87.
393. Ruskiewicz JA, Li S, Rodriguez MB, Aschner M. Is Triclosan a neurotoxic agent? *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2017;20(2):104-17.
394. Wang X, Chen X, Feng X, Chang F, Chen M, Xia Y, et al. Triclosan causes spontaneous abortion accompanied by decline of estrogen sulfotransferase activity in humans and mice. *Sci Rep.* 15 déc 2015;5:18252.
395. Axelstad M, Boberg J, Vinggaard AM, Christiansen S, Hass U. Triclosan exposure reduces thyroxine levels in pregnant and lactating rat dams and in directly exposed offspring. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc.* sept 2013;59:534-40.
396. Louis GW, Hallinger DR, Braxton MJ, Kamel A, Stoker TE. Effects of chronic exposure to triclosan on

- reproductive and thyroid endpoints in the adult Wistar female rat. *J Toxicol Environ Health A*. 2017;80(4):236-49.
397. Koeppel ES, Ferguson KK, Colacino JA, Meeker JD. Relationship between urinary triclosan and paraben concentrations and serum thyroid measures in NHANES 2007-2008. *Sci Total Environ*. 15 févr 2013;445-446:299-305.
398. Etzel TM, Calafat AM, Ye X, Chen A, Lanphear BP, Savitz DA, et al. Urinary triclosan concentrations during pregnancy and birth outcomes. *Environ Res*. 2017;156:505-11.
399. Weatherly LM, Gosse JA. Triclosan exposure, transformation, and human health effects. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 2017;20(8):447-69.
400. COMMISSION IMPLEMENTING DECISION (EU) 2016/ 110 - of 27 January 2016 - not approving triclosan as an existing active substance for use in biocidal products for product-type 1. :2.
401. Commissioner O of the. 5 Things to Know About Triclosan. FDA [Internet]. 16 mai 2019 [cité 27 avr 2020]; Disponible sur: <https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/5-things-know-about-triclosan>
402. Prabhu S, Poulouse EK. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *Int Nano Lett*. 29 oct 2012;2(1):32.
403. Ahamed M, Alsalhi MS, Siddiqui MK]. Silver nanoparticle applications and human health. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 14 déc 2010;411(23-24):1841-8.
404. Wright JB, Lam K, Hansen D, Burrell RE. Efficacy of topical silver against fungal burn wound pathogens. *Am J Infect Control*. août 1999;27(4):344-50.
405. Wijnhoven SWP, Peijnenburg WJGM, Herberts CA, Hagens WI, Oomen AG, Heugens EHW, et al. Nano-silver – a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*. 1 janv 2009;3(2):109-38.
406. Gurunathan S, Han JW, Kwon D-N, Kim J-H. Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Nanoscale Res Lett*. 2014;9(1):373.
407. Niakan S, Niakan M, Hesaraki S, Nejadmoghadam MR, Moradi M, Hanafiabdar M, et al. Comparison of the Antibacterial Effects of Nanosilver With 18 Antibiotics on Multidrug Resistance Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Jundishapur J Microbiol* [Internet]. 1 juill 2013 [cité 6 nov 2019];6(5). Disponible sur: <http://jjmicrobiol.com/en/articles/18614.html>
408. Li W-R, Xie X-B, Shi Q-S, Zeng H-Y, Ou-Yang Y-S, Chen Y-B. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol*. janv 2010;85(4):1115-22.
409. Niakan M, Azimi HR, Jafarian Z, Mohammadtaghi G, Niakan S, Mostafavizade SM. Evaluation of Nanosilver Solution Stability against *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Jundishapur J Microbiol* [Internet]. 1 août 2013 [cité 6 nov 2019];6(6). Disponible sur: <http://jjmicrobiol.com/en/articles/56339.html>
410. Sotoodehnia P, Mazlan N, Mohd Saud H, Samsuri WA, Habib SH, Soltangheisi A. Minimum inhibitory concentration of nano-silver bactericides for beneficial microbes and its effect on *Ralstonia solanacearum* and seed germination of Japanese Cucumber (*Cucumis sativus*). *PeerJ*. 2019;7:e6418.
411. Pulit-Prociak J, Banach M. Silver nanoparticles – a material of the future...? *Open Chem*. 2016;14(1):76–91.
412. Lotfi M, Vosoughhosseini S, Ranjkesh B, Khani S, Saghiri M, Zand V. Antimicrobial efficacy of nanosilver, sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate against *Enterococcus faecalis*. *Afr J Biotechnol*. 1 janv 2011;10(35):6799-6803-6803.
413. Zarei M, Jamnejad A, Khajehali E. Antibacterial effect of silver nanoparticles against four foodborne pathogens. *Jundishapur J Microbiol*. janv 2014;7(1):e8720.
414. Banach M, Tymczyna L, Chmielowiec-Korzeniowska A, Pulit-Prociak J. Nanosilver Biocidal Properties and Their Application in Disinfection of Hatchers in Poultry Processing Plants. *Bioinorg Chem Appl*. 2016;2016:5214783.
415. Cheng L, Zhang K, Weir MD, Liu H, Zhou X, Xu HHK. Effects of antibacterial primers with quaternary ammonium and nano-silver on *Streptococcus mutans* impregnated in human dentin blocks. *Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater*. avr 2013;29(4):462-72.
416. Lok C-N, Ho C-M, Chen R, He Q-Y, Yu W-Y, Sun H, et al. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *J Biol Inorg Chem JBIC Publ Soc Biol Inorg Chem*. mai 2007;12(4):527-34.
417. Panacek A, Kvítek L, Pucek R, Kolar M, Vecerova R, Pizúrova N, et al. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. *J Phys Chem B*. 24 août 2006;110(33):16248-53.
418. Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Ramírez JT, et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*. oct 2005;16(10):2346-53.
419. Qasim M, Udomluck N, Chang J, Park H, Kim K. Antimicrobial activity of silver nanoparticles encapsulated in poly-N-isopropylacrylamide-based polymeric nanoparticles. *Int J Nanomedicine*. 3 janv 2018;13:235-49.
420. Li J, Rong K, Zhao H, Li F, Lu Z, Chen R. Highly selective antibacterial activities of silver nanoparticles against *Bacillus subtilis*. *J Nanosci Nanotechnol*. oct 2013;13(10):6806-13.
421. Qais FA, Shafiq A, Khan HM, Husain FM, Khan RA, Alenazi B, et al. Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles Synthesized Using *Murraya koenigii* (L.) against Multidrug-Resistant Pathogens. *Bioinorg Chem Appl*. 2019;2019:4649506.
422. Nateghi MR, Hajimirzababa H. Effect of silver nanoparticles morphologies on antimicrobial properties of

cotton fabrics. *J Text Inst.* 3 août 2014;105(8):806-13.

423. Lkhagvajav N, Koizhaiganova M, Yasa I, Çelik E, Sari Ö. Characterization and antimicrobial performance of nano silver coatings on leather materials. *Braz J Microbiol.* 1 mars 2015;46(1):41-8.

424. Ayala-Núñez NV, Lara Villegas HH, del Carmen Ixtepan Turrent L, Rodríguez Padilla C. Silver Nanoparticles Toxicity and Bactericidal Effect Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Nanoscale Does Matter. *NanoBiotechnology.* 1 déc 2009;5(1):2-9.

425. Reyes L, Herrera D, Kozarov E, Roldán S, Progulske-Fox A. Periodontal bacterial invasion and infection: contribution to atherosclerotic pathology. *J Clin Periodontol.* avr 2013;40 Suppl 14:S30-50.

426. Masri A, Anwar A, Khan NA, Shahbaz MS, Khan KM, Shahabuddin S, et al. Antibacterial Effects of Quinazolin-4(3H)-One Functionalized-Conjugated Silver Nanoparticles. *Antibiot Basel Switz.* 9 oct 2019;8(4).

427. Elechiguerra JL, Burt JL, Morones JR, Camacho-Bragado A, Gao X, Lara HH, et al. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *J Nanobiotechnology.* 29 juin 2005;3:6.

428. Gaikwad S, Ingle A, Gade A, Rai M, Falanga A, Incoronato N, et al. Antiviral activity of mycosynthesized silver nanoparticles against herpes simplex virus and human parainfluenza virus type 3. *Int J Nanomedicine.* 2013;8:4303-14.

429. Mori Y, Ono T, Miyahira Y, Nguyen VQ, Matsui T, Ishihara M. Antiviral activity of silver nanoparticle/chitosan composites against H1N1 influenza A virus. *Nanoscale Res Lett.* 20 févr 2013;8(1):93.

430. Agarwal H, Nakara A, Shanmugam VK. Anti-inflammatory mechanism of various metal and metal oxide nanoparticles synthesized using plant extracts: A review. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother.* janv 2019;109:2561-72.

431. Ahmed F, Prashanth ST, Sindhu K, Nayak A, Chaturvedi S. Antimicrobial efficacy of nanosilver and chitosan against *Streptococcus mutans*, as an ingredient of toothpaste formulation: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* mars 2019;37(1):46-54.

432. Junevičius J, Žilinskas J, Česaitis K, Česaitienė G, Gleiznys D, Maželienė Ž. Antimicrobial activity of silver and gold in toothpastes: A comparative analysis. *Stomatologija.* 2015;17(1):9-12.

433. Balagopal S, Arjunker R. Chlorhexidine: The Gold Standard Antiplaque Agent. *J Pharm Sci.* 2013;5.

434. Charles CH, Mostler KM, Bartels LL, Mankodi SM. Comparative antiplaque and antigingivitis effectiveness of a chlorhexidine and an essential oil mouthrinse: 6-month clinical trial. *J Clin Periodontol.* oct 2004;31(10):878-84.

435. Esfahanian V, Mohamadi F, Amini S. An In Vitro Comparison of Antimicrobial Effect of Nanosil and Chlorhexidine Mouthrinses. *J Islam Dent Assoc Iran.* 10 oct 2012;24(4):187-91.

436. Abu-Elteen KH, Abu-Alteen RM. The prevalence of *Candida albicans* populations in the mouths of complete denture wearers. *New Microbiol.* janv 1998;21(1):41-8.

437. Belazi M, Velegraki A, Koussidou-Eremondi T, Andreadis D, Hini S, Arsenis G, et al. Oral *Candida* isolates in patients undergoing radiotherapy for head and neck cancer: prevalence, azole susceptibility profiles and response to antifungal treatment. *Oral Microbiol Immunol.* déc 2004;19(6):347-51.

438. Abadi MFD, Mehrabian S, Asghari B, Namvar AE, Ezzatifar F, Lari AR. Silver nanoparticles as active ingredient used for alcohol-free mouthwash. *GMS Hyg Infect Control.* 2013;8(1):Doc05.

439. do Nascimento C, Paulo DF, Pita MS, Pedrazzi V, de Albuquerque Junior RF. Microbial diversity of the supra- and subgingival biofilm of healthy individuals after brushing with chlorhexidine- or silver-coated toothbrush bristles. *Can J Microbiol.* févr 2015;61(2):112-23.

440. Mackevica A, Olsson ME, Hansen SF. The release of silver nanoparticles from commercial toothbrushes. *J Hazard Mater.* 15 janv 2017;322:270-5.

441. Gaillet S, Rouanet J-M. Silver nanoparticles: their potential toxic effects after oral exposure and underlying mechanisms--a review. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc.* mars 2015;77:58-63.

442. Folorunso A, Akintelu S, Oyebamiji AK, Ajayi S, Abiola B, Abdusalam I, et al. Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of gold nanoparticles from leaf extracts of *Annona muricata*. *J Nanostructure Chem.* 1 juin 2019;9(2):111-7.

443. Raval C, Vyas K, Gandhi U, Patel B, Patel P. Nanotechnology in dentistry: a review. *J Adv Med Dent Sci Res.* 2016;4(3):3.

444. Katas H, Lim CS, Nor Azlan AYH, Buang F, Mh Busra MF. Antibacterial activity of biosynthesized gold nanoparticles using biomolecules from *Lignosus rhinocerotis* and chitosan. *Saudi Pharm J.* 1 févr 2019;27(2):283-92.

445. Yougbare S, Chang T-K, Tan S-H, Kuo J-C, Hsu P-H, Su C-Y, et al. Antimicrobial Gold Nanoclusters: Recent Developments and Future Perspectives. *Int J Mol Sci [Internet].* 14 juin 2019 [cité 22 déc 2019];20(12). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6627976/>

446. Makowski M, Silva ÍC, Pais do Amaral C, Gonçalves S, Santos NC. Advances in Lipid and Metal Nanoparticles for Antimicrobial Peptide Delivery. *Pharmaceutics.* nov 2019;11(11):588.

447. Naimi-Shamel N, Pourali P, Dolatabadi S. Green synthesis of gold nanoparticles using *Fusarium oxysporum* and antibacterial activity of its tetracycline conjugant. *J Mycol Medecale.* avr 2019;29(1):7-13.

448. Fan Y, Pauer AC, Gonzales AA, Fenniri H. Enhanced antibiotic activity of ampicillin conjugated to gold nanoparticles on PEGylated rosette nanotubes. *Int J Nanomedicine.* 9 sept 2019;14:7281-9.

449. Kuhn DA, Vanhecke D, Michen B, Blank F, Gehr P, Petri-Fink A, et al. Different endocytotic uptake mechanisms for nanoparticles in epithelial cells and macrophages. *Beilstein J Nanotechnol.* 2014;5:1625-36.
450. Shamaila S, Zafar N, Riaz S, Sharif R, Nazir J, Naseem S. Gold Nanoparticles: An Efficient Antimicrobial Agent against Enteric Bacterial Human Pathogen. *Nanomater Basel Switz.* 14 avr 2016;6(4).
451. Elsome AM, Hamilton-Miller JM, Brumfitt W, Noble WC. Antimicrobial activities in vitro and in vivo of transition element complexes containing gold(I) and osmium(VI). *J Antimicrob Chemother.* mai 1996;37(5):911-8.
452. Novelli F, Recine M, Sparatore F, Juliano C. Gold(I) complexes as antimicrobial agents. *Farm Soc Chim Ital* 1989. 30 avr 1999;54(4):232-6.
453. Hernández-Sierra JF, Ruiz F, Pena DCC, Martínez-Gutiérrez F, Martínez AE, Guillén A de JP, et al. The antimicrobial sensitivity of *Streptococcus mutans* to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold. *Nanomedicine Nanotechnol Biol Med.* sept 2008;4(3):237-40.
454. AlKahtani RN. The implications and applications of nanotechnology in dentistry: A review. *Saudi Dent J.* 1 avr 2018;30(2):107-16.
455. Jia G, Zhi A, Lai PFH, Wang G, Xia Y, Xiong Z, et al. The oral microbiota - a mechanistic role for systemic diseases. *Br Dent J.* 23 2018;224(6):447-55.
456. Gunduz N, Ceylan H, Guler MO, Tekinay AB. Intracellular Accumulation of Gold Nanoparticles Leads to Inhibition of Macropinocytosis to Reduce the Endoplasmic Reticulum Stress. *Sci Rep.* 1 févr 2017;7(1):1-10.
457. Sung JH, Ji JH, Park JD, Song MY, Song KS, Ryu HR, et al. Subchronic inhalation toxicity of gold nanoparticles. *Part Fibre Toxicol.* 14 mai 2011;8:16.
458. Osorio R, Yamauti M, Osorio E, Ruiz-Requena M, Pashley D, Tay F, et al. Zinc reduces collagen degradation in demineralized human dentin explants. *J Dent [Internet].* févr 2011 [cité 17 nov 2019];39(2). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3847813/>
459. Ahmadi Shadmehri A, Namvar F, Miri H, Yaghmaei P, Nakhaei Moghaddam M. Assessment of antioxidant and antibacterial activities of Zinc Oxide nanoparticles, Graphene and Graphene decorated by Zinc Oxide nanoparticles. *Int J Nano Dimens.* 1 oct 2019;10(4):350-8.
460. Jones N, Ray B, Ranjit KT, Manna AC. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiol Lett.* févr 2008;279(1):71-6.
461. Fang M, Chen J-H, Xu X-L, Yang P-H, Hildebrand HF. Antibacterial activities of inorganic agents on six bacteria associated with oral infections by two susceptibility tests. *Int J Antimicrob Agents.* juin 2006;27(6):513-7.
462. Ghaffari H, Tavakoli A, Moradi A, Tabarraei A, Bokharaei-Salim F, Zahmatkeshan M, et al. Inhibition of H1N1 influenza virus infection by zinc oxide nanoparticles: another emerging application of nanomedicine. *J Biomed Sci.* 10 sept 2019;26(1):70.
463. Aldosari MA, Darwish SS, Adam MA, Elmarzugi NA, Ahmed SM. Using ZnO nanoparticles in fungal inhibition and self-protection of exposed marble columns in historic sites. *Archaeol Anthropol Sci.* 1 juill 2019;11(7):3407-22.
464. Jin S-E, Jin H-E. Synthesis, Characterization, and Three-Dimensional Structure Generation of Zinc Oxide-Based Nanomedicine for Biomedical Applications. *Pharmaceutics.* 4 nov 2019;11(11).
465. Mazitova GT, Kienskaya KI, Ivanova DA, Belova IA, Butorova IA, Sardushkin MV. Synthesis and Properties of Zinc Oxide Nanoparticles: Advances and Prospects. *Rev J Chem.* 1 avr 2019;9(2):127-52.
466. Kasraei S, Sami L, Hendi S, AliKhani M-Y, Rezaei-Soufi L, Khamverdi Z. Antibacterial properties of composite resins incorporating silver and zinc oxide nanoparticles on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus*. *Restor Dent Endod.* mai 2014;39(2):109-14.
467. Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Kaus NHM, Ann LC, Bakhori SKM, et al. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Lett.* 1 juill 2015;7(3):219-42.
468. Brayner R, Ferrari-Iliou R, Brivois N, Djediat S, Benedetti MF, Fiévet F. Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. *Nano Lett.* avr 2006;6(4):866-70.
469. Pranjali P, Meher MK, Raj R, Prasad N, Poluri KM, Kumar D, et al. Physicochemical and Antibacterial Properties of PEGylated Zinc Oxide Nanoparticles Dispersed in Peritoneal Dialysis Fluid. *ACS Omega.* 6 nov 2019;4(21):19255-64.
470. Hirota K, Sugimoto M, Kato M, Tsukagoshi K, Tanigawa T, Sugimoto H. Preparation of zinc oxide ceramics with a sustainable antibacterial activity under dark conditions. *Ceram Int.* 1 mars 2010;36(2):497-506.
471. Memarzadeh K, Vargas M, Huang J, Fan J, Allaker R. Nano Metallic-Oxides as Antimicrobials for Implant Coatings. *Key Eng Mater.* 1 oct 2011;493-494:489-94.
472. Vargas-Reus MA, Memarzadeh K, Huang J, Ren GG, Allaker RP. Antimicrobial activity of nanoparticulate metal oxides against peri-implantitis pathogens. *Int J Antimicrob Agents.* août 2012;40(2):135-9.
473. Ahrari F, Eslami N, Rajabi O, Ghazvini K, Barati S. The antimicrobial sensitivity of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* to colloidal solutions of different nanoparticles applied as mouthwashes. *Dent Res J.* févr 2015;12(1):44-9.
474. Alsubaie AA, Sarfraz Z, Alali AA, Alessa AE, Subaie HAA, Shah AT, et al. Effect of nano-zinc oxide and fluoride-doped bioactive glass-based dentifrices on esthetic restorations. *Dent Med Probl.* mars 2019;56(1):59-65.

475. Mahmood A, Mneimne M, Zou LF, Hill RG, Gillam DG. Abrasive wear of enamel by bioactive glass-based toothpastes. *Am J Dent.* oct 2014;27(5):263-7.
476. Burguera-Pascu M, Rodríguez-Archilla A, Baca P. Substantivity of zinc salts used as rinsing solutions and their effect on the inhibition of *Streptococcus mutans*. *J Trace Elem Med Biol Organ Soc Miner Trace Elem GMS.* 2007;21(2):92-101.
477. Almoudi MM, Hussein AS, Abu Hassan MI, Mohamad Zain N. A systematic review on antibacterial activity of zinc against *Streptococcus mutans*. *Saudi Dent J.* oct 2018;30(4):283-91.
478. Ghosh S, Goudar VS, Padmalekha KG, Bhat SV, Indi SS, Vasan HN. ZnO/Ag nanohybrid: synthesis, characterization, synergistic antibacterial activity and its mechanism. *RSC Adv.* 17 janv 2012;2(3):930-40.
479. Kachoei MY, Divband B, Tabriz FD, Helali ZN, Esmailzadeh M. A comparative study of antibacterial effects of mouthwashes containing Ag/ZnO or ZnO nanoparticles with chlorhexidine and investigation of their cytotoxicity. In 2018.
480. Eslami N, Ahrari F, Rajabi O, Zamani R. The staining effect of different mouthwashes containing nanoparticles on dental enamel. *J Clin Exp Dent.* oct 2015;7(4):e457-461.
481. Nagajyothi PC, Cha SJ, Yang IJ, Sreekanth TVM, Kim KJ, Shin HM. Antioxidant and anti-inflammatory activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using *Polygala tenuifolia* root extract. *J Photochem Photobiol B.* 1 mai 2015;146:10-7.
482. Liu W, Su P, Chen S, Wang N, Ma Y, Liu Y, et al. Synthesis of TiO₂ nanotubes with ZnO nanoparticles to achieve antibacterial properties and stem cell compatibility. *Nanoscale.* 7 août 2014;6(15):9050-62.
483. de Dicastillo CL, Patiño C, Galotto MJ, Vásquez-Martínez Y, Torrent C, Alburquenque D, et al. Novel hollow titanium dioxide nanospheres with antimicrobial activity against resistant bacteria. *Beilstein J Nanotechnol.* 19 août 2019;10:1716-25.
484. Azizi-Lalabadi M, Ehsani A, Divband B, Alizadeh-Sani M. Antimicrobial activity of Titanium dioxide and Zinc oxide nanoparticles supported in 4A zeolite and evaluation the morphological characteristic. *Sci Rep.* 25 nov 2019;9(1):1-10.
485. Akhtar S, Shahzad K, Mushtaq S, Ali I, Rafe MH, Fazal-ul-Karim SM. Antibacterial and antiviral potential of colloidal Titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles suitable for biological applications. *Mater Res Express.* août 2019;6(10):105409.
486. Zhao Z, Zhang X, Zhang G, Liu Z, Qu D, Miao X, et al. Effect of defects on photocatalytic activity of rutile TiO₂ nanorods. *Nano Res.* 1 déc 2015;8(12):4061-71.
487. Feng X, Pan F, Zhao H, Deng W, Zhang P, Zhou H-C, et al. Atomic layer deposition enabled MgO surface coating on porous TiO₂ for improved CO₂ photoreduction. *Appl Catal B Environ.* 15 déc 2018;238:274-83.
488. Xu Y, Wei M-T, Ou-Yang HD, Walker SG, Wang HZ, Gordon CR, et al. Exposure to TiO₂ nanoparticles increases *Staphylococcus aureus* infection of HeLa cells. *J Nanobiotechnology.* 22 avr 2016;14:34.
489. Wang L, Hu C, Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *Int J Nanomedicine.* 2017;12:1227-49.
490. Esfandiari N, Simchi A, Bagheri R. Size tuning of Ag-decorated TiO₂ nanotube arrays for improved bactericidal capacity of orthopedic implants. *J Biomed Mater Res A.* août 2014;102(8):2625-35.
491. Cushing BL, Kolesnichenko VL, O'Connor CJ. Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles. *Chem Rev.* 1 sept 2004;104(9):3893-946.
492. Hassan H, Omoniyi KI, Okibe FG, Nuhu AA, Echioba EG. Evaluation of Antibacterial Potential of Biosynthesized Plant Leave Extract Mediated Titanium Oxide Nanoparticles using *Hypheae Thiebeace* and *Anannos Senegleensis*. *J Appl Sci Environ Manag.* 1 janv 2019;23(10):1795-1804-1804.
493. Mohammadi S, Mohammadi P, Hosseinkhani S, Shipour R. Antifungal Activity of TiO₂ nanoparticles and EDTA on *Candida albicans* Biofilms. *Infect Epidemiol Med.* 1 janv 2013;1:33-8.
494. Maness P-C, Smolinski S, Blake DM, Huang Z, Wolfrum EJ, Jacoby WA. Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO₂ Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism. *Appl Environ Microbiol.* sept 1999;65(9):4094-8.
495. Tsuang Y-H, Sun J-S, Huang Y-C, Lu C-H, Chang WH-S, Wang C-C. Studies of photokilling of bacteria using titanium dioxide nanoparticles. *Artif Organs.* févr 2008;32(2):167-74.
496. Chambers C, Stewart SB, Su B, Jenkinson HF, Sandy JR, Ireland AJ. Silver doped titanium dioxide nanoparticles as antimicrobial additives to dental polymers. *Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater.* 2017;33(3):e115-23.
497. Durango-Giraldo G, Cardona A, Zapata JF, Santa JF, Buitrago-Sierra R. Titanium dioxide modified with silver by two methods for bactericidal applications. *Heliyon.* 1 mai 2019;5(5):e01608.
498. Iavicoli I, Leso V, Fontana L, Bergamaschi A. Toxicological effects of titanium dioxide nanoparticles: a review of in vitro mammalian studies. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* mai 2011;15(5):481-508.
499. Iavicoli I, Leso V, Bergamaschi A. Toxicological Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles: A Review of In Vivo Studies [Internet]. *Journal of Nanomaterials.* 2012 [cité 24 nov 2019]. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/jnm/2012/964381/>

500. Shi H, Magaye R, Castranova V, Zhao J. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Part Fibre Toxicol.* 15 avr 2013;10:15.
501. Geraets L, Oomen AG, Krystek P, Jacobsen NR, Wallin H, Laurentie M, et al. Tissue distribution and elimination after oral and intravenous administration of different titanium dioxide nanoparticles in rats. *Part Fibre Toxicol.* 3 juill 2014;11:30.
502. Rempelberg C, Heringa MB, van Donkersgoed G, Drijvers J, Roos A, Westenbrink S, et al. Oral intake of added titanium dioxide and its nanofraction from food products, food supplements and toothpaste by the Dutch population. *Nanotoxicology.* 2016;10(10):1404-14.
503. Baranowska-Wójcik E, Sz wajgier D, Oleszczuk P, Winiarska-Mieczan A. Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles Exposure on Human Health-a Review. *Biol Trace Elem Res.* 13 avr 2019;
504. Tavakoli S, Kharaziha M, Ahmadi S. Green synthesis and morphology dependent antibacterial activity of copper oxide nanoparticles. *J Nanostructures.* 1 janv 2019;9(1):163-71.
505. Khatami M, Varma RS, Heydari M, Peydayesh M, Sedighi A, Askari HA, et al. Copper Oxide Nanoparticles Greener Synthesis Using Tea and its Antifungal Efficiency on *Fusarium solani*. *Geomicrobiol J.* 21 oct 2019;36(9):777-81.
506. Mohamed Hamouda I. Current perspectives of nanoparticles in medical and dental biomaterials. *J Biomed Res.* mai 2012;26(3):143-51.
507. Ren G, Hu D, Cheng EWC, Vargas-Reus MA, Reip P, Allaker RP. Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *Int J Antimicrob Agents.* 1 juin 2009;33(6):587-90.
508. Amiri M, Etemadifar Z, Daneshkazemi A, Nateghi M. Antimicrobial Effect of Copper Oxide Nanoparticles on Some Oral Bacteria and *Candida* Species. *J Dent Biomater.* mars 2017;4(1):347-52.
509. Liu Y, Naha PC, Hwang G, Kim D, Huang Y, Simon-Soro A, et al. Topical ferumoxytol nanoparticles disrupt biofilms and prevent tooth decay in vivo via intrinsic catalytic activity. *Nat Commun.* 31 juill 2018;9(1):1-12.
510. Ikemoto S, Sugimura K, Yoshida N, Yasumoto R, Wada S, Yamamoto K, et al. Antitumor effects of *Scutellariae radix* and its components baicalin, baicalin, and wogonin on bladder cancer cell lines. *Urology.* juin 2000;55(6):951-5.
511. Eid Abdelmagyd HA, Ram Shetty DS, Musa Musleh Al-Ahmari DM. Herbal medicine as adjunct in periodontal therapies- A review of clinical trials in past decade. *J Oral Biol Craniofacial Res.* 2019;9(3):212-7.
512. Luo W, Wang C-Y, Jin L. Baicalin downregulates *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide-upregulated IL-6 and IL-8 expression in human oral keratinocytes by negative regulation of TLR signaling. *PLoS One.* 2012;7(12):e51008.
513. Sheng WS, Hsueh PR, Hung CC, Teng IJ, Chen YC, Luh KT. Clinical features of patients with invasive *Eikenella corrodens* infections and microbiological characteristics of the causative isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol.* avr 2001;20(4):231-6.
514. Qing L-S, Xiong J, Xue Y, Liu Y-M, Guang B, Ding L-S, et al. Using baicalin-functionalized magnetic nanoparticles for selectively extracting flavonoids from *Rosa chinensis*. *J Sep Sci.* nov 2011;34(22):3240-5.
515. Nipun Babu V, Kannan S. Enhanced delivery of baicalin using cinnamaldehyde cross-linked chitosan nanoparticle inducing apoptosis. *Int J Biol Macromol.* déc 2012;51(5):1103-8.
516. Leung KC-F, Seneviratne CJ, Li X, Leung PC, Lau CBS, Wong C-H, et al. Synergistic Antibacterial Effects of Nanoparticles Encapsulated with *Scutellaria baicalensis* and Pure Chlorhexidine on Oral Bacterial Biofilms. *Nanomater Basel Switz.* 7 avr 2016;6(4).
517. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc.* avr 1998;36(4):347-63.
518. Armutcu F, Akyol S, Ustunsoy S, Turan FF. Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects (Review). *Exp Ther Med.* mai 2015;9(5):1582-8.
519. Zhu W, Chen M, Shou Q, Li Y, Hu F. Biological activities of chinese propolis and brazilian propolis on streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus in rats. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM.* 2011;2011:468529.
520. Coutinho A. Honeybee propolis extract in periodontal treatment: a clinical and microbiological study of propolis in periodontal treatment. *Indian J Dent Res Off Publ Indian Soc Dent Res.* avr 2012;23(2):294.
521. Sanghani NN, Bm S, S S. Health from the hive: propolis as an adjuvant in the treatment of chronic periodontitis - a clinicomicrobiologic study. *J Clin Diagn Res JCDR.* sept 2014;8(9):ZC41-44.
522. Kurek-Górecka A, Rzepecka-Stojko A, Górecki M, Stojko J, Sosada M, Swierczek-Zieba G. Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Mol Basel Switz.* 20 déc 2013;19(1):78-101.
523. Ozan F, Sümer Z, Polat ZA, Er K, Ozan U, Deger O. Effect of mouthrinse containing propolis on oral microorganisms and human gingival fibroblasts. *Eur J Dent.* oct 2007;1(4):195-201.
524. Czyżewska U, Konończuk J, Teul J, Dragowski P, Pawlak-Morka R, Surazyński A, et al. Verification of chemical composition of commercially available propolis extracts by gas chromatography-mass spectrometry analysis. *J Med Food.* mai 2015;18(5):584-91.
525. Hayacibara MF, Koo H, Rosalen PL, Duarte S, Franco EM, Bowen WH, et al. In vitro and in vivo effects of

- isolated fractions of Brazilian propolis on caries development. *J Ethnopharmacol.* 3 oct 2005;101(1-3):110-5.
526. Akca AE, Akca G, Topçu FT, Macit E, Pıkdöken L, Özgen İŞ. The Comparative Evaluation of the Antimicrobial Effect of Propolis with Chlorhexidine against Oral Pathogens: An In Vitro Study. *BioMed Res Int.* 2016;2016:3627463.
527. Nakajima M, Arimatsu K, Minagawa T, Matsuda Y, Sato K, Takahashi N, et al. Brazilian propolis mitigates impaired glucose and lipid metabolism in experimental periodontitis in mice. *BMC Complement Altern Med.* 30 août 2016;16(1):329.
528. El-Sharkawy HM, Anees MM, Van Dyke TE. Propolis Improves Periodontal Status and Glycemic Control in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Chronic Periodontitis: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol.* déc 2016;87(12):1418-26.
529. Yoshimasu Y, Ikeda T, Sakai N, Yagi A, Hirayama S, Morinaga Y, et al. Rapid Bactericidal Action of Propolis against *Porphyromonas gingivalis*. *J Dent Res.* 2018;97(8):928-36.
530. Li G, Xu G, Guo K, Du S. Mapping the Global Potential Geographical Distribution of Black Locust (*Robinia Pseudoacacia* L.) Using Herbarium Data and a Maximum Entropy Model. *Forests.* 2014;5(11):2773-92.
531. Veitch NC, Elliott PC, Kite GC, Lewis GP. Flavonoid glycosides of the black locust tree, *Robinia pseudoacacia* (Leguminosae). *Phytochemistry.* mars 2010;71(4):479-86.
532. Patra JK, Kim ES, Oh K, Kim H-J, Dhakal R, Kim Y, et al. Bactericidal effect of extracts and metabolites of *Robinia pseudoacacia* L. on *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis* causing dental plaque and periodontal inflammatory diseases. *Mol Basel Switz.* 8 avr 2015;20(4):6128-39.
533. Ferrazzano GF, Roberto L, Catania MR, Chiaviello A, De Natale A, Roscetto E, et al. Screening and Scoring of Antimicrobial and Biological Activities of Italian Vulnerary Plants against Major Oral Pathogenic Bacteria [Internet]. Vol. 2013, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Hindawi; 2013 [cité 27 avr 2020]. p. e316280. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2013/316280/>
534. C Lina D, Olah NK, P Tru E, Docea A, Popescu H, Bubulica M-V. Chromatographic analysis of the flavonoids from *robinia pseudoacacia* species. *Curr Health Sci J.* oct 2013;39(4):232-6.
535. Jassoma E, Baesa L, Sabbagh H. The antiplaque/anticariogenic efficacy of *Salvadora persica* (Miswak) mouthrinse in comparison to that of chlorhexidine: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health.* 27 2019;19(1):64.
536. Haque MM, Alsareii SA. A review of the therapeutic effects of using miswak (*Salvadora Persica*) on oral health. *Saudi Med J.* mai 2015;36(5):530-43.
537. Gurudath G, Vijayakumar K, Arun R. Oral Hygiene Practices: Ancient Historical Review. *J Orofac Res.* 1 oct 2012;2:225-7.
538. Chaurasia A, Patil R, Nagar A. Miswak in oral cavity - An update. *J Oral Biol Craniofacial Res.* août 2013;3(2):98-101.
539. Gupta P, Agarwal N, Anup N, Manujunath BC, Bhalla A. Evaluating the anti-plaque efficacy of meswak (*Salvadora persica*) containing dentifrice: A triple blind controlled trial. *J Pharm Bioallied Sci.* oct 2012;4(4):282-5.
540. Sukkarwalla A, Ali SM, Lundberg P, Tanwir F. Efficacy of miswak on oral pathogens. *Dent Res J.* mai 2013;10(3):314-20.
541. Amoian B, Moghadamnia AA, Barzi S, Sheykhosslami S, Rangiani A. *Salvadora Persica* extract chewing gum and gingival health: improvement of gingival and probe-bleeding index. *Complement Ther Clin Pract.* août 2010;16(3):121-3.
542. Sofrata A, Santangelo EM, Azeem M, Borg-Karlson A-K, Gustafsson A, Pütsep K. Benzyl isothiocyanate, a major component from the roots of *Salvadora persica* is highly active against Gram-negative bacteria. *PloS One.* 2011;6(8):e23045.
543. Mariod A, Matthäus B, Hussein I. Chemical Characterization of the Seed and Antioxidant Activity of Various Parts of *Salvadora persica*. *J Am Oil Chem Soc.* 1 sept 2009;86:857-65.
544. Mohamed SA, Khan JA. Antioxidant capacity of chewing stick miswak *Salvadora persica*. *BMC Complement Altern Med.* 21 févr 2013;13:40.
545. Rajapakse S, de Silva NL, Weeratunga P, Rodrigo C, Sigera C, Fernando SD. *Carica papaya* extract in dengue: a systematic review and meta-analysis. *BMC Complement Altern Med.* 11 oct 2019;19(1):265.
546. Gogna N, Hamid N, Dorai K. Metabolomic profiling of the phytomedicinal constituents of *Carica papaya* L. leaves and seeds by 1H NMR spectroscopy and multivariate statistical analysis. *J Pharm Biomed Anal.* 10 nov 2015;115:74-85.
547. Akhila S, Vijayalakshmi G. Phytochemical studies on *carica papaya* leaf juice | international journal of pharmaceutical sciences and research. *IJPSR.* 2015;6(2):880-3.
548. Shingai A, Juneja V, Abbas S, Kumar Jha R. The effect of *Carica papaya* leaves extract capsules on platelets count and hematocrit levels in acute febrile illness with thrombocytopenia patient. *IJMRHS.* 2016;5(1):254-7.
549. Anjum V, Arora P, Ansari SH, Najmi AK, Ahmad S. Antithrombocytopenic and immunomodulatory potential of metabolically characterized aqueous extract of *Carica papaya* leaves. *Pharm Biol.* déc 2017;55(1):2043-56.
550. Vuong QV, Hirun S, Roach PD, Bowyer MC, Phillips PA, Scarlett CJ. Effect of extraction conditions on

- total phenolic compounds and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous extracts. *J Herb Med.* 1 sept 2013;3(3):104-11.
551. Igwe O. Chemical constituents of the leaf essential oil of *Caricapapaya* from south east nigeria and its antimicrobial activity. *IJRPC.* 1 janv 2015;5(1):77-83.
552. Chávez-Quintal P, González-Flores T, Rodríguez-Buenfil I, Gallegos-Tintoré S. Antifungal Activity in Ethanolic Extracts of *Carica papaya* L. cv. Maradol Leaves and Seeds. *Indian J Microbiol.* janv 2011;51(1):54-60.
553. Okoko T, Ere D. Reduction of hydrogen peroxide-induced erythrocyte damage by *Carica papaya* leaf extract. *Asian Pac J Trop Biomed.* juin 2012;2(6):449-53.
554. Zuhrotun Nisa F, Astuti M, Murdiati A, Mubarika Haryana S. Anti-proliferation and Apoptosis Induction of Aqueous Leaf Extract of *Carica papaya* L. on Human Breast Cancer Cells MCF-7. *Pak J Biol Sci PJSB.* 2017;20(1):36-41.
555. Inam A, Shahzad M, Shabbir A, Shahid H, Shahid K, Javeed A. *Carica papaya* ameliorates allergic asthma via down regulation of IL-4, IL-5, eotaxin, TNF- α , NF- κ B, and iNOS levels. *Phytomedicine Int J Phytother Phytopharm.* 15 août 2017;32:1-7.
556. Chen H, Zuo Y, Deng Y. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A.* 13 avr 2001;913(1-2):387-95.
557. Nguyen TTT, Shaw PN, Parat M-O, Hewavitharana AK. Anticancer activity of *Carica papaya*: a review. *Mol Nutr Food Res.* janv 2013;57(1):153-64.
558. Fauziya S, Krishnamurthy R. *Papaya (Carica papaya)*: Source material for anticancer. *CIBTech J Pharm Sci.* 2013;2:25-34.
559. Erlund I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutr Res.* 1 oct 2004;24(10):851-74.
560. Li Y, Yao J, Han C, Yang J, Chaudhry MT, Wang S, et al. Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients.* 15 mars 2016;8(3):167.
561. Saravanasingh K, Ramamurthy M, Parthiban P. Analysis of phytochemical constituents and Antimicrobial activity of *Carica papaya*. *Int J Adv Res Biol Sci.* 2016;3(2):329-34.
562. Bourgeois D, Saliassi I, Llodra JC, Bravo M, Viennot S, Carrouel F. Efficacy of interdental calibrated brushes on bleeding reduction in adults: a 3-month randomized controlled clinical trial. *Eur J Oral Sci.* 2016;124(6):566-71.
563. Jared H, Zhong Y, Rowe M, Ebisutani K, Tanaka T, Takase N. Clinical trial of a novel interdental brush cleaning system. *J Clin Dent.* 2005;16(2):47-52.
564. Chan A-W, Tetzlaff JM, Gøtzsche PC, Altman DG, Mann H, Berlin JA, et al. SPIRIT 2013 explanation and elaboration: guidance for protocols of clinical trials. *BMJ.* 8 janv 2013;346:e7586.
565. Lorenz K, Bruhn G, Netuschil L, Heumann C, Hoffmann T. How to select study designs and parameters to investigate the effect of mouthrinses? Part I: rationale and background. *J Physiol Pharmacol Off J Pol Physiol Soc.* déc 2009;60 Suppl 8:77-83.
566. Leroy R, Eaton KA, Savage A. Methodological issues in epidemiological studies of periodontitis--how can it be improved? *BMC Oral Health.* 21 avr 2010;10:8.
567. Kossack C, Jost-Brinkmann P-G. Plaque and gingivitis reduction in patients undergoing orthodontic treatment with fixed appliances-comparison of toothbrushes and interdental cleaning aids. A 6-month clinical single-blind trial. *J Orofac Orthop Fortschritte Kieferorthopadie Organ Official J Dtsch Ges Kieferorthopadie.* janv 2005;66(1):20-38.
568. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet Lond Engl.* 19 nov 2005;366(9499):1809-20.
569. Könönen E, Gursoy M, Gursoy UK. Periodontitis: A Multifaceted Disease of Tooth-Supporting Tissues. *J Clin Med.* 31 juill 2019;8(8).
570. Poklepovic Pericic T, Worthington HV, Johnson TM, Sambunjak D, Imai P, Clarkson JE, et al. Interdental brushing for the prevention and control of periodontal diseases and dental caries in adults. *Cochrane Database Syst Rev [Internet].* 24 avr 2019 [cité 5 mai 2020];2019(4). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6481275/>
571. Adams SE, Arnold D, Murphy B, Carroll P, Green AK, Smith AM, et al. A randomised clinical study to determine the effect of a toothpaste containing enzymes and proteins on plaque oral microbiome ecology. *Sci Rep.* 27 2017;7:43344.
572. Bassolé IHN, Juliani HR. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Mol Basel Switz.* 2 avr 2012;17(4):3989-4006.
573. Baskaran C, bai VR, Velu S, Kumaran K. The efficacy of *Carica papaya* leaf extract on some bacterial and a fungal strain by well diffusion method. *Asian Pac J Trop Dis.* 1 janv 2012;2:S658-62.
574. Zunjar V, Mammen D, Trivedi B, Daniel M. Pharmacognostic, Physicochemical and Phytochemical Studies on *Carica papaya* Linn. Leaves. *Pharmacogn J.* 1 févr 2011;3(20):5-8.
575. Chávez-Quintal P, González-Flores T, Rodríguez-Buenfil I, Gallegos-Tintoré S. Antifungal Activity in Ethanolic Extracts of *Carica papaya* L. cv. Maradol Leaves and Seeds. *Indian J Microbiol.* janv 2011;51(1):54-60.

576. Zhang K, Zuo Y. GC-MS determination of flavonoids and phenolic and benzoic acids in human plasma after consumption of cranberry juice. *J Agric Food Chem.* 28 janv 2004;52(2):222-7.
577. Kuete V, Simo IK, Ngameni B, Bigoga JD, Watchueng J, Kapguez RN, et al. Antimicrobial activity of the methanolic extract, fractions and four flavonoids from the twigs of *Dorstenia angusticornis* Engl. (Moraceae). *J Ethnopharmacol.* 13 juin 2007;112(2):271-7.
578. Otsuki N, Dang NH, Kumagai E, Kondo A, Iwata S, Morimoto C. Aqueous extract of *Carica papaya* leaves exhibits anti-tumor activity and immunomodulatory effects. *J Ethnopharmacol.* 17 févr 2010;127(3):760-7.
579. Zhang Z-S, Wang X-M, Han Z-P, Zhao M-X, Yin L. Purification, antioxidant and moisture-preserving activities of polysaccharides from papaya. *Carbohydr Polym.* 14 févr 2012;87(3):2332-7.
580. Singh O, Ali M. Phytochemical and antifungal profiles of the seeds of *carica papaya* L. *Indian J Pharm Sci.* juill 2011;73(4):447-51.
581. Julianti T, Oufir M, Hamburger M. Quantification of the antiplasmodial alkaloid carpaine in papaya (*Carica papaya*) leaves. *Planta Med.* août 2014;80(13):1138-42.
582. Kovendan K, Murugan K, Panneerselvam C, Aarthi N, Kumar PM, Subramaniam J, et al. Antimalarial activity of *Carica papaya* (Family: Caricaceae) leaf extract against *Plasmodium falciparum*. *Asian Pac J Trop Dis.* 1 janv 2012;2:S306-11.
583. Wabo Poné J, Ngankam Ntemah JD, Bilong Bilong CF, Mbida M. A comparative study of the ovicidal and larvicidal activities of aqueous and ethanolic extracts of pawpaw seeds *Carica papaya* (Caricaceae) on *Heligmosomoides bakeri*. *Asian Pac J Trop Med.* juin 2011;4(6):447-50.
584. Melariri P, Campbell W, Etusim P, Smith P. Antiplasmodial Properties and Bioassay-Guided Fractionation of Ethyl Acetate Extracts from *Carica papaya* Leaves. *J Parasitol Res.* 2011;2011:104954.
585. Akujobi CN, Ofodeme CN, Enweani CA. Determination of antibacterial activity of *Carica papaya* (paw--paw) extracts. *Niger J Clin Pract.* 1 mars 2010;13:55-7.
586. Vieira RH, Rodrigues DP, Gonçalves FA, Menezes FG, Aragão JS, Sousa OV. Microbicidal effect of medicinal plant extracts (*Psidium guajava* Linn. and *Carica papaya* Linn.) upon bacteria isolated from fish muscle and known to induce diarrhea in children. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* juin 2001;43(3):145-8.
587. Emeruwa AC. Antibacterial substance from *Carica papaya* fruit extract. *J Nat Prod.* avr 1982;45(2):123-7.
588. Joseph B, Sankarganesh P, Ichiyama K, Yamamoto N. In vitro study on cytotoxic effect and anti-DENV2 activity of *Carica papaya* L. leaf. *Front Life Sci.* 2 janv 2015;8(1):18-22.
589. Ahmad N, Fazal H, Ayaz M, Abbasi BH, Mohammad I, Fazal L. Dengue fever treatment with *Carica papaya* leaves extracts. *Asian Pac J Trop Biomed.* août 2011;1(4):330-3.
590. Amazu L, Azikiwe C, Njoku C, Osuala F, Nwosu P, Ajugwo A, et al. Antiinflammatory activity of the methanolic extract of the seeds of *Carica papaya* in experimental animals. *Asian Pac J Trop Med.* 1 nov 2010;3(11):884-6.
591. Owoyele BV, Adebukola OM, Funmilayo AA, Soladoye AO. Anti-inflammatory activities of ethanolic extract of *Carica papaya* leaves. *Inflammopharmacology.* août 2008;16(4):168-73.
592. Sung J, Gluch JI. An Assessment of Global Oral Health Education in U.S. Dental Schools. *J Dent Educ.* févr 2017;81(2):127-34.
593. Sim I, Gorman P, Greenes RA, Haynes RB, Kaplan B, Lehmann H, et al. Clinical Decision Support Systems for the Practice of Evidence-based Medicine. *J Am Med Inform Assoc JAMIA.* 2001;8(6):527-34.
594. Zepke N, Butler P, Leach L. Institutional research and improving the quality of student engagement. *Qual High Educ.* 1 nov 2012;18(3):329-47.
595. Williams K, Williams C. Five key ingredients for improving student motivation. *Res High Educ J.* 2011;12:1.
596. Case J. Alienation and engagement: exploring students' experiences of studying engineering. *Teach High Educ.* 1 févr 2007;12(1):119-33.
597. Moraros J, Islam A, Yu S, Banow R, Schindelka B. Flipping for success: evaluating the effectiveness of a novel teaching approach in a graduate level setting. *BMC Med Educ.* 28 févr 2015;15(1):27.
598. Miller GE. The assessment of clinical skills/competence/performance. *Acad Med J Assoc Am Med Coll.* sept 1990;65(9 Suppl):S63-67.
599. Van Der Vleuten CP. The assessment of professional competence: Developments, research and practical implications. *Adv Health Sci Educ Theory Pract.* janv 1996;1(1):41-67.
600. Seale JK, Chapman J, Davey C. The influence of assessments on students' motivation to learn in a therapy degree course. *Med Educ.* août 2000;34(8):614-21.
601. Khan KS, Coomarasamy A. A hierarchy of effective teaching and learning to acquire competence in evidenced-based medicine. *BMC Med Educ.* 15 déc 2006;6:59.
602. Factors Affecting Provision of Oral Health Education on Interdental Cleaning by Dentists and Hygienists in Hong Kong / Y Chow Wing Yi, Winnie, Bds. Open Dissertation Press; 2017.
603. Russell B, Slater G. Factors that encourage student engagement: Insights from a case study of "first time" students in a New Zealand university. *J Univ Teach Learn Pr.* 2011;(8):1-15.
604. Xuereb S. Academic resourcefulness, coping strategies and doubting in university undergraduates. *J Furth*

High Educ. 4 mars 2015;39(2):205-22.

605. Carr SE, Celenza A, Puddey IB, Lake F. Relationships between academic performance of medical students and their workplace performance as junior doctors. *BMC Med Educ.* 30 juill 2014;14:157.

606. Tonetti MS, Eickholz P, Loos BG, Papapanou P, van der Velden U, Armitage G, et al. Principles in prevention of periodontal diseases: Consensus report of group 1 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *J Clin Periodontol.* avr 2015;42 Suppl 16:S5-11.

607. National Collaborating Centre for Acute Care (UK). *Dental Recall: Recall Interval Between Routine Dental Examinations* [Internet]. London: National Collaborating Centre for Acute Care (UK); 2004 [cité 6 mai 2020]. (National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54542/>