



HAL
open science

Intérêts potentiels de l'utilisation de l'alliage Cuivre-Aluminium-Béryllium monocristallin en endodontie

Greyce Nasreddine

► **To cite this version:**

Greyce Nasreddine. Intérêts potentiels de l'utilisation de l'alliage Cuivre-Aluminium-Béryllium monocristallin en endodontie. Sciences du Vivant [q-bio]. 2016. hal-01929438

HAL Id: hal-01929438

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01929438>

Submitted on 21 Nov 2018

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

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



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

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

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

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

ACADÉMIE DE NANCY-METZ
UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ D'ODONTOLOGIE

ANNÉE 2016

N°9112

THÈSE

pour le

DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

par

Greyce NASREDDINE

née le 14 Janvier 1990 à Nancy (Meurthe et Moselle)

**Intérêts potentiels de l'utilisation de l'alliage Cuivre-Aluminium-
Béryllium monocristallin en Endodontie**

présentée et soutenue publiquement le 2 Mai 2016

Examineurs de la thèse :

Pr. Jean-Marc MARTRETTE
Dr. Marc ENGELS-DEUTSCH
Dr. Marin VINCENT
Pr. Tarak BEN ZINEB

Professeur des universités
Maître de Conférences universitaire
Assistant hospitalo-universitaire
Professeur des universités

Président
Directeur
Juge
Juge

*Par délibération en date du 11 décembre 1972,
la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que
les opinions émises dans les dissertations
qui lui seront présentées
doivent être considérées comme propres à
leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner
aucune approbation ni improbation.*

Président : Professeur Pierre MUTZENHARDT
Doyen : Professeur Jean-Marc MARTRETTE
Vice-Doyens : Pr Pascal AMBROSINI — Dr Céline CLEMENT
Membres Honoraires : Dr L. BABEL – Pr. S. DURIVAUX – Pr A. FONTAINE – Pr G. JACQUART – Pr D. ROZENCWEIG – Pr M. VIVIER – Pr ARTIS -
Doyen Honoraire : Pr J. VADOT, Pr J.P. LOUIS
Professeur Emérite : Pr J.P. LOUIS
Maître de conférences CUM MERITO : Dr C. ARCHIEN

Sous-section 56-01 Odontologie pédiatrique	Mme <u>DROZ Dominique (Desprez)</u> Mme JAGER Stéphanie M. PREVOST Jacques Mlle HERNANDEZ Magali Mlle LAUVRAY Alice M. MERCIER Thomas	Maître de Conférences * Maître de Conférences * Maître de Conférences Assistante * Assistante Assistant *
Sous-section 56-02 Orthopédie Dento-Faciale	Mme <u>FILLEUL Marie Pierryle</u> M. EGLOFF Benoît Mlle BLAISE Claire Mlle LACHAUX Marion	Professeur des Universités * Maître de Conférences * Assistante Assistante
Sous-section 56-03 Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie légale	Mme <u>CLEMENT Céline</u> M. CAMELOT Frédéric Mme LACZNY Emily	Maître de Conférences * Assistant * Assistante
Sous-section 57-01 Parodontologie	M. <u>AMBROSINI Pascal</u> Mme BISSON Catherine M. JOSEPH David M. PENAUD Jacques Mlle BÖLÖNI Eszter Mlle PAOLI Nathalie	Professeur des Universités * Maître de Conférences * Maître de Conférences * Maître de Conférences Assistante Assistante *
Sous-section 57-02 Chirurgie Buccale, Pathologie et Thérapeutique Anesthésiologie et Réanimation	Mme <u>GUILLET-THIBAUT Julie</u> M. BRAVETTI Pierre Mlle PHULPIN Bérengère M. DELAITRE Bruno Mlle KICHENBRAND Charlene M. MASCHINO François	Maître de Conférences * Maître de Conférences Maître de Conférences * Assistant Assistant Assistante * Assistant
Sous-section 57-03 Sciences Biologiques (Biochimie, Immunologie, Histologie, Embryologie, génétique, Anatomie pathologique, Bactériologie, Pharmacologie)	M. <u>YASUKAWA Kazutoyo</u> M. MARTRETTE Jean-Marc	Maître de Conférences * Professeur des Universités *
Sous-section 58-01 Odontologie Conservatrice, Endodontie	M. <u>MORTIER Eric</u> M. AMORY Christophe M. BALTHAZARD Rémy M. ENGELS-DEUTSCH Marc M. BON Gautier Mlle MUNARO Perrine M. VINCENT Marin	Maître de Conférences * Maître de Conférences Maître de Conférences * Maître de Conférences Assistant Assistante Assistant *
Sous-section 58-02 Prothèses (Prothèse conjointe, Prothèse adjointe partielle, Prothèse complète, Prothèse maxillo-faciale)	M. <u>DE MARCH Pascal</u> M. SCHOUVER Jacques Mme VAILLANT Anne-Sophie Mme CORNE Pascale M. GILLET Marc M. HIRTZ Pierre M. KANNENGIESSER François Mlle SIMON Doriane	Maître de Conférences Maître de Conférences Maître de Conférences * Assistante * Assistant Assistant * Assistant Assistante
Sous-section 58-03 Sciences Anatomiques et Physiologiques Oclusodontiques, Biomatériaux, Biophysique, Radiologie	Mme <u>STRAZIELLE Catherine</u> Mme MOBY Vanessa (Stutzmann) M. SALOMON Jean-Pierre M. HARLE Guillaume	Professeur des Universités * Maître de Conférences * Maître de Conférences Assistant Associé

Souligné : responsable de la sous-section * temps plein

Mis à jour le 01.03.2016

REMERCIEMENTS

À NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Docteur Jean-Marc MARTRETTE,
Docteur en Chirurgie Dentaire
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier
Doyen de la Faculté d'odontologie de Nancy
Chef de Service du CSERD de Nancy
Docteur en Sciences Pharmacologiques
Sous-section : Sciences biologiques (Biochimie, Immunologie, histologie,
Embryologie, Génétique, Anatomie pathologique, Bactériologie, Pharmacologie).

*Nous sommes sensibles à l'honneur que
vous nous faites en acceptant de juger ce
travail. Nous vous prions d'y trouver
l'expression de notre profond respect.*

À NOTRE JUGE ET DIRECTEUR DE THÈSE

Monsieur le Docteur Marc ENGELS-DEUTSCH,
Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur de l'Université Louis Pasteur, Strasbourg
Maître de conférences des Universités
Sous-section : Odontologie Conservatrice Endodontie

*Vous nous avez fait le très grand plaisir d'accepter de
diriger ce travail
et de nous guider dès le début de
son élaboration.*

*Nous avons toujours pu compter sur votre
disponibilité et nous sommes très reconnaissants pour votre
patience, votre écoute et le partage de vos précieux conseils.
Nous mesurons la chance d'avoir pu bénéficier de votre enseignement bienveillant et
votre rigueur nous servira d'exemple tout au long de notre parcours professionnel.
Sachez trouver dans ce travail le témoignage
de notre plus grande estime et de nos
remerciements les plus sincères.*

À NOTRE JUGE

Monsieur le Docteur Marin VINCENT,

Docteur en Chirurgie Dentaire
Assistant Hospitalo-universitaire
Sous-section : Odontologie Conservatrice Endodontie

*Nous vous remercions de bien vouloir prendre
part à notre jury.
Merci aussi pour votre dévouement,
l'intérêt que vous portez aux étudiants et votre aide précieuse en clinique.
Nous avons apprécié votre
sympathie et votre pédagogie tout au long de nos
études.*

À NOTRE JUGE,

Monsieur le Docteur Tarak BEN-ZINEB

Professeur des Universités
Directeur des études de l'ESSTIN
Section Enseignement et recherche

*Vous nous faites l'honneur de juger notre travail,
Nous vous remercions de nous faire partager
votre expérience concernant ce domaine
et de l'intérêt accordé à notre travail.*

À Maman et Papa,

qui m'ont couvert de tout l'amour qu'un enfant peut espérer recevoir et plus encore..., qui m'ont toujours soutenu, encouragé, guidé dans mes parcours. Chacun m'a appris à sa manière la confiance en soi, la volonté, le goût du travail bien fait. Dans les moments de peine ils m'ont appris que "le phénix renaît de ses cendres" et que l'on peut toujours se relever tant qu'il existe un lendemain...

Merci pour nos bons moments passés et à venir, vos valeurs et vos principes, qui m'accompagneront tout au long de ma vie et dont je me souviendrais chaque jour...

À Christophe,

qui m'a soutenu avec confiance dans toutes mes entreprises, m'a encouragé à faire ce qui m'épanouit, a toujours su me faire rire quand le coeur n'y était plus, partagé mes peines et mes bonheurs et fait que chaque jour soit unique...

À ma soeur "Poussinette",

qui a corrigé mes petits mots avec le "rouge de la honte", m'a laissé chasser les trésors de ses tiroirs, a passé des samedis après-midis à regarder "les séries", à chanter Jean-Jacques Goldman et qui a été le messenger de bonnes nouvelles en 2008 et 2010 alors que mon coeur battait pour mes résultats...

À Eva,

für alle gute Momenten zusammen, die Barbecuen in die Garten, mit Richard, Lenke Néni, Zsiga Batsçi und deine schöne Geburtstagskarten ! Puszi Évike !

À Idus,

köszönöm a szep szuli kartjákat, a finom tesztákat és mært mindig montad nekem" sòk sòk sikért", és szoritotad a kezedet, ma tudjuk megünnepelni! Puszi Idus !

Un hommage en souvenir du Dr Viennet, qui nous a appris à soigner nos patients avec coeur et conscience, comme un membre de notre famille. Merci pour vos enseignements et votre personne.

À Mr Lorrain,

pour sa pédagogie, sa sympathie au cours de toutes mes années d'études, son humanité et son histoire sur le dahu des vosges, que je n'ai toujours pas croisé...!

À Mr Thouvenot,

pour toute sa bonne humeur, son humour, son aide et sa présence en clinique !

À Aude,

avec qui j'ai partagé des moments inoubliables depuis le collège : "popote et papote", des séances DVD, des midis à notre "cantine du FOY"; qui m'a supporté avec mes hauts et mes bas et m'a accompagné à chaque évènement...

À Anne-Hélène,

pour une vraie amitié qui est née pendant une période insolite, couronnée de moments de fous rires, de promenades, suivis de beaucoup de "restos à l'addition mémorable", d'anniversaires à Glatigny, de tea times et d'expressions bien à nous...!!!

À Clément,

pour son amitié, tous les galas, les apéros et les raviolis ! A côté de qui les cours sont passés encore plus vite, qui m'a fait pleurer de rire avec ses imitations incomparables et grâce à qui une chanson de Pharell m'a trotté pendant 2 mois dans la tête...!

À Chloé,

Ma libanaise préférée, jumelle de clinique, de jupes, d'escarpins et d'écharpes à ponpons !! Merci pour ton sourire et ta joie de vivre communicative ; un caractère d'acier pour un coeur en or...

À Carine,

Pour sa jovialité et pour les bons moments de stage passés ensemble, qui nous ont permis de nous découvrir et commencer une belle amitié,

À Alexis,

En souvenir de tous les repas de midi, du "Chin-Chin", des "petits gervais", du cours sur le diabète et j'en passe la liste est longue !

À Sébastien

qui fait honneur à tout ce que "E.T" prépare, souhaite les anniversaires comme personne et m'a fait une belle surprise le jour du SIR.

À Mickael,

"Mika", merci pour toutes tes soirées, tes crêpes bretonnes, ton amitié et bien évidemment "nos joutes verbales"!! J'ajouterais bien un dernier trait d'esprit, mais je sais que tu l'as saisi sans besoin de l'écrire !

À Dianou,

pour son énergie débordante, sa joie de vivre, son amitié et sa présence par ses messages réconfortants malgré les kilomètres.

À Didier,

pour ses conseils formateurs, sa confiance, ses encouragements et sa bienveillance

À Ayham,

qui m'a enseigné "l'art de la tronculaire qui ne rate jamais", qui a partagé ses connaissances et m'a encouragé par son optimisme

À Mathilde,

que je connais depuis la maternelle, avec qui j'ai partagé mes premiers goûters à la récréation, mes anniversaires, les minikeums, la kermess, les fêtes des vendanges, la classe de neige et l'histoire de la chèvre de Bernex dont on ne connaît toujours pas la fin....

À Mitzi,

une pensée toute particulière, car est arrivé par hasard un janvier 2009 en hiver, où j'en avais le plus besoin et a partagé mes heures de révisions.

À tous ceux que je ne cite pas mais que je n'oublie pas, car ont à un moment donné, partagé mon chemin et l'ont rendu plus agréable.

SOMMAIRE

I. INTRODUCTION

II. LES ÉCHECS ENDODONTIQUES

A. Le traitement endodontique

1. Rappels fondamentaux
2. Procédures de traitement

B. Les infections des canaux endodontiques

1. Définitions
2. La colonisation bactérienne de l'endodonte
3. Formation et organisation du biofilm
4. Evolution de la flore endodontique selon le stade de l'infection bactérienne
5. Topographie des flores endodontiques

C. La flore microbienne associée aux infections endodontiques secondaires, persistantes et récurrentes

1. Etiologies des échecs de traitement endodontique
2. La flore microbienne associée aux échecs de traitement endodontique
3. *Enterococcus faecalis*, cause principale des infections secondaires, persistantes et récurrentes

D. Action des solutions antibactériennes actuelles sur les microorganismes résistants

1. Propriétés recherchées pour une solution d'irrigation canalaire
2. Les principaux agents actuels en endodontie : cibles et efficacité
3. Moyens de lutte contre *Enterococcus faecalis*

III. UTILISATION DES ALLIAGE À MÉMOIRE DE FORME (AMF) EN ENDODONTIE

A. Les principes fondamentaux des AMF en endodontie

1. Apparition des AMF en endodontie
2. La mémoire de forme et la superélasticité
3. Une caractéristique commune : la transformation martensitique

B. Le Nickel-Titane : la référence en endodontie

1. Naissance de l'instrumentation canalaire mécanisée : principes et préceptes
2. Composition du NiTi en endodontie
3. Les principaux profils de lames : géométrie et influence
4. Performances physiques du Nickel-Titane
5. Propriétés antimicrobiennes du Nickel-Titane
6. Biocompatibilité du Nickel-Titane

C. L'alliage CuAlBe monocristallin

1. Composition et structure cristalline de l'alliage CuAlBe monocristallin
2. Étude des éléments constituant l'alliage CuAlBe monocristallin
3. Intérêts potentiels cliniques de l'alliage CuAlBe monocristallin

IV. ÉTUDE DU RELARGAGE D'ÉLÉMENTS MÉTALLIQUES EN MILIEU HUMIDE

A. Objectifs de notre travail

B. Matériels et méthodes

1. Matériels
2. Méthodes

C. Étude du relargage d'éléments métalliques Cu et Al en milieu humide par le spectrophotomètre d'émission atomique à plasma d'argon (SEA DCP)

1. Objectifs
2. Principe de fonctionnement
3. Avantages de la méthode de dosage
4. Étalonnage de l'appareil et réalisation des dosages
5. Conditions des mesures

D. Résultats

1. Étude de l'activité bactéricide de l'alliage sur *Enterococcus faecalis*
2. Étude du relargage de l'élément cuivre en fonction du temps de contact
3. Étude du relargage de l'élément aluminium en fonction du milieu et du temps de contact
4. Étude du relargage des éléments cuivre et aluminium en fonction de l'état du fil d'alliage : fil neuf/fil usé et du temps de contact
5. Étude du relargage des éléments cuivre et aluminium en fonction de la nature du fil témoin et du temps de contact

E. Discussion

F. Conclusion de la recherche

V. PERSPECTIVES

VI. CONCLUSION

VII. BIBLIOGRAPHIE

Table des matières

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : schématisation de l'organisation d'un biofilm bactérien (Gouet, 2011)	28
Figure 2 : Diagramme présentant les différentes flores endodontiques (Bouillaguet, 2011).	30
Figure 3 : Mécanismes d'action de la toxicité du cuivre sur les cellules bactériennes par <i>contact killing</i> (Grass et coll.,2011).	57
Figure 4 : Courbe contrainte/déformation caractérisant le comportement superélastique (AFNOR, 1991)	61
Figure 5 : Transformation martensitique lors du comportement superélastique d'un alliage soumis à une contrainte croissante (Lagoudas, 1992).	63
Figure 6 : Phase austénitique du Cu-Al-Be (Moreau, 1998)	63
Figure 7 : Paramètres significatifs de la transformation martensitique ; exemple du Nickel-Titane (Jordan et Rocher, 2010)	64
Figure 8 : Les déformations a) homogène, b) hétérogène : image de variantes de martensite en microscopie électronique à balayage (Jordan et Rocher, 2009/2010). ...	66
Figure 9 : représentation schématique de la formation d'une plaquette de martensite (Kaouache, 2006).....	66
Figure 10 : section d'une lame du système <i>Hero Shaper</i> [®]	70
Figure 11 : profil des instruments en NiTi (Benkiran et coll., 2015).....	70
Figure 12 : <i>K3</i> [®]	71
Figure 13 : <i>Quantec 2000</i> [®]	71
Figure 14 : <i>Hero Shaper</i> [®] de <i>MicroMega</i> [™] (Benkiran et coll., 2015).....	71
Figure 15 : <i>Race</i> [®] de <i>FKG</i> [™]	72
Figure 16 : <i>M-Two</i> [®] de <i>Dentsply</i> [™]	72
Figure 17 : <i>Shaping files</i> de <i>Dentsply-Maillefer</i> [™]	73
Figure 18 : <i>Finishing files F4 et F5</i> de <i>Dentsply-Maillefer</i> [™]	73
Figure 19 : <i>Revo-S</i> [®] de <i>Micro Mega</i> [™]	74

Figure 20 : Hyflex CM® Coltene™	74
Figure 21 : section triangulaire (à la pointe)(a) puis quadrangulaire (b) d'un instrument Hyflex CM® au MEB (d'après Rieger, 2012)	74
Figure 22 : <i>Twisted Files® Dental Kerr™</i>	75
Figure 23 : moteurs spécifiques du Reciproc®(a) et du Wae One™(b) (Pertot, 2011)	76
Figure 24 : Wave One™ Dentsply maillefer ; section triangulaire coronaire (a) et triangulaire concave apicale (b)	77
Figure 25 : section en "S" du Reciproc® VDW	77
Figure 26 : Sections du One Shape® (Perez et coll., 2015)	78
Figure 27 : F360® Komet.....	79
Figure 28 : Martensite orientée a) dans un monocristal d'un alliage de cuivre (b) dans un polycristal d'un alliage de cuivre (Malard, 2009)	86
Figure 29 : Influence de la teneur massique en béryllium sur la température Ms de l'alliage CuAlBe à 11,8% en masse d'Al (<i>Belkahla, 1990</i>)	91
Figure 30 : Évolution des courbes contrainte/déformation (σ, ϵ) lors du cyclage en fatigue de CuAlBe monocristallin (Abdelilah ,2005).....	95
Figure 31 : Différence de comportement en traction d'alliages superélastiques	96
Figure 32 : schématisation d'un spectrophotomètre d'émission atomique à plasma d'argon (d'après Bernard Faivre, 2013)	111
Figure 33 : allure d'une courbe d'étalonnage obtenue pour un élément donné	113
Figure 34 : Étude du relargage de l'élément cuivre en fonction de la concentration de H ₂ O ₂ et du temps de contact 2 minutes, 30 secondes, fils neufs	116
Figure 35 : Étude du relargage de l'élément aluminium en fonction de la concentration de H ₂ O ₂ et du temps de contact 2 minutes et 30 secondes, fils neufs	118
Figure 36 : Étude du taux de relargage de l'élément cuivre pour un temps de contact de 2 minutes en fonction de la qualité du fil	120
Figure 37 : Étude du relargage de l'élément aluminium en fonction de l'état du fil pour un temps de contact de 30 secondes	121

Figure 38 : Étude du taux de relargage de l'élément aluminium pour un temps de contact de 2 minutes en fonction de la qualité du fil122

Figure 39 : Étude du relargage de l'élément aluminium en fonction de la qualité du fil pour un temps de contact de 30 secondes123

Figure 40 : Étude du relargage de cuivre en fonction de la nature du fil pour un temps de contact 2 minutes, fils neufs 124

Figure 41 : Étude du relargage de l'élément aluminium en fonction de la nature du fil, pour un temps de contact 2 minutes, fils neufs.....125

Figure 42 : Étude du relargage de cuivre en fonction de la nature du fil, pour un temps de contact 30 secondes, fils neufs.....125

Figure 43 : Étude du relargage de l'élément aluminium en fonction de la nature du fil, pour un temps de contact 30 secondes, fils neufs 126

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : mécanismes d'action de NaOCl (Pecora et coll., 1999).....43

I. INTRODUCTION

L'endodontie est une discipline majeure de l'art dentaire, dont la finalité principale réside dans l'obtention d'une obturation tridimensionnelle totale et étanche du système canalaire. L'intention est de créer un contexte compatible avec la conservation de la dent sur l'arcade dans le temps. Pour cause, nous savons que malgré tous les efforts de préparation chimique, mécanique et l'application des données acquises de la science, il est impossible d'avoir un système endodontique stérile. C'est en ces termes, que nous saisissons l'importance de l'acquisition d'une méthodologie de travail et de la tenue rigoureuse d'un protocole de préparation et d'irrigation canalaire.

L'étiologie principale des pulpopathies, qui amène à poser l'indication du traitement endodontique, est essentiellement infectieuse. Cette cause nous amène à explorer les moyens possibles de désinfection du système canalaire.

Actuellement, la désinfection des canaux endodontiques repose essentiellement sur l'irrigation intracanaire, qui s'opère par le biais de solutions véhiculées de la partie coronaire vers apicale du système canalaire. Nous le verrons, mais la solution d'irrigation idéale, qui regrouperait toutes les propriétés physiques et chimiques souhaitées n'existe pas actuellement.

Le consensus actuel, appuyé par des études portant sur l'efficacité de divers irrigants, s'accorde sur l'usage en première intention de l'hypochlorite de sodium à 2,5%, puisqu'il réunit le plus grand nombre des propriétés physiques et chimiques escomptées (Haapasalo et coll., 2010). Cela explique que l'hypochlorite de sodium soit à ce jour le plus utilisé par les praticiens. Mais est-il suffisant pour toutes les options cliniques?

Ses capacités désinfectantes touchent certes un large spectre de bactéries non spécifiques, de spores et de virus, (Zenhder M, 2006) mais en est exempt par exemple *Enterococcus faecalis*, bien moins sensible au produit (Zou et coll., 2010).

Enterococcus faecalis est considérée comme l'ennemi numéro un de l'endodontiste, car souvent désignée comme principal responsable des échecs de traitement (Broudin, 2012).

Aucune combinaison actuelle n'est satisfaisante afin de l'éradiquer du système canalaire, ou du moins tendre à obtenir une charge bactérienne compatible avec la pérennité de nos traitements endodontiques (Siqueira et coll.,2007)

Nous nous sommes donc penchés sur ce problème et nous présenterons à travers un travail de recherche, une nouvelle formule étudiée contre la bactérie, impliquant un alliage à mémoire de forme (AMF) monocristallin à base de cuivre, qui évolue dans un milieu oxydant.

Plusieurs situations expérimentales seront étudiées afin d'optimiser l'action bactéricide de la solution, tout en gardant à l'esprit que les manipulations doivent être réalisées dans des conditions compatibles avec l'exercice du chirurgien dentiste.

Nous étudierons également dans un second temps, les éléments chimiques relargués à partir de l'alliage CuAlBe monocristallin ; la mesure des taux de relargage ionique étant indispensables à considérer en terme de biocompatibilité.

Nous découvrirons en quoi cet alliage présente de nombreux intérêts, tant mécaniques qu'antibactériens, puis nous dresserons, à travers nos éléments de recherche et l'état de l'art en ce domaine, les éventuelles perspectives de l'utilisation en endodontie clinique d'un tel concept novateur.

II. LES ÉCHECS ENDODONTIQUES

A. Le traitement endodontique

1. Rappels fondamentaux

Par définition, l'endodontie est la discipline de l'Odontologie qui concerne la prévention, le diagnostic et le traitement des maladies de la pulpe et des manifestations péri-radicales associées (Dictionnaire francophone des termes d'Odontologie Conservatrice, 2010).

L'endodonte est la partie de la dent matérialisée macroscopiquement par le système canalaire : la chambre pulpaire et les canaux radiculaires, qui contiennent la pulpe dentaire.

Il convient de parler de « système » car l'anatomie interne des racines dentaires est un véritable réseau radiculaire, contenant les éléments vasculo-nerveux responsables de la vitalité dentaire. C'est cette organisation complexe qui expliquera la difficulté du traitement endodontique et les taux d'échecs.

Ce réseau est divisé en différents types de canaux, départagés par notion de calibres et de situation anatomique. Les canaux visibles à la radiographies sont les canaux primaires (principaux), qui se ramifient en canaux secondaires dans la région apicale du canal endodontique. Les canaux latéraux se situent dans la partie moyenne de la racine ou alors au niveau de la furcation radiculaire.

Les canaux accessoires, non visibles à la radiographie, sont le résultat de la ramification des canaux secondaires et forment ensemble, le delta apical (Woefeld et Scheid, 2007).

Les étiologies des pulpopathies principalement rencontrées peuvent se grouper en quatre catégories :

=> causes microbiennes (espèces carieuses et parodontales) : les éléments bactériens agressent la pulpe par leurs toxines, ce qui entraîne la réaction inflammatoire de l'hôte. Les états pathologiques du parenchyme pulpaire vont varier

selon le stade de la colonisation microbienne. Une pulpite peut devenir irréversible, si les territoires atteints par le processus pathologique sont trop nombreux et si la charge antigénique est trop forte. La stimulation devient alors trop importante pour les défenses de l'hôte, qui sont progressivement dépassées ; il n'existe alors plus de possibilités réparatrices et la santé de la dent tend vers la nécrose septique.

=> causes iatrogéniques : agressions physicochimiques, bactériennes, mécaniques, consécutives aux manœuvres de dentisterie restauratrice.

=> causes traumatiques : aiguës (fracture coronaire, radiculaire, luxation, contusion) ou chroniques (prématurités, bruxisme, attrition, abrasion, érosion...)

=> causes idiopathiques : résorption radiculaire externe, maladies génétiques.

C'est l'état d'irréversibilité qui engendre la décision de l'exérèse, mais il est parfois difficile à déterminer avec certitude. Les réactions pulpaires sont très aléatoires d'un patient à l'autre ; si certaines pulpes s'inflament dans les pires douleurs, d'autres aboutissent rapidement à la nécrose mais de manière presque silencieuse cliniquement (Hargeaves et coll.,2011).

La compréhension des mécanismes physiopathologiques des atteintes pulpaires est importante, pour garder à l'esprit que la santé du parenchyme pulpaire connaît des états évolutifs.

La classification de Baume, basée sur une approche clinique, a pour but d'aiguiller le praticien dans sa réflexion et constituer une aide à la décision thérapeutique : elle est l'une des seules classifications à tenir compte des données cliniques adaptées aux moyens thérapeutiques disponibles.

La classification se présente suivant quatre catégories :

-Catégorie I de Baume : pulpes vivantes sans symptomatologies, lésées accidentellement ou présentant une carie profonde, susceptibles d'être protégées par coiffage.

-Catégorie II de Baume : pulpes vivantes avec symptomatologies, qui peuvent être protégées par coiffage ou traitées par biopulpectomie.

-Catégorie III de Baume : pulpes vivantes dont la biopulpectomie est indiquée pour des raisons esthétiques, iatrogènes, prothétiques ou pronostics.

-Catégorie IV de Baume : pulpes nécrosées avec infection de la dentine radiculaire, accompagnée ou non de complications périapicales, exigeant un traitement endodontique (Baume et Fiore-Donno, 1962).

La difficulté de l'art endodontique est de comprendre et de traiter par des gestes macroscopiques cette structure microscopique complexe.

2. Procédure de traitement

Le traitement endodontique s'articule autour de différentes étapes opératoires, dont la séquence est à respecter scrupuleusement :

-le diagnostic : anamnèse, interrogatoire du patient et examen clinique ;

-la radiographie préopératoire : elle sert de confirmation diagnostique, à observer la dent et les structures périradiculaires et à anticiper la difficulté du cas ;

-la pose du champ opératoire : nécessaire pour isoler de la dent d'intérêt du milieu buccal et ainsi la protéger de la contamination salivaire et bactérienne ;

-la réalisation de la cavité d'accès endodontique avec trépanation : elle s'opère suite à la suppression de la carie et des éventuelles obturations. La cavité d'accès endodontique permet aux instruments l'accès au système canalaire avec un minimum de contraintes, offre un champ visuel pour l'opérateur et sert aussi de réservoir d'irrigant au cours du travail (Clifford et coll., 2008).

-la préparation canalaire : elle allie la mise en forme mécanique et la désinfection du système canalaire.

La préparation canalaire combinée à l'irrigation sont complémentaires et indissociables, car l'irrigation constitue le seul moyen pour obtenir la désinfection

chimique des portions non instrumentables des canaux radiculaires. Parallèlement, une irrigation efficace est conditionnée par la qualité de la préparation canalaire.

La préparation canalaire implique des impératifs mécaniques et biologiques à respecter.

Les impératifs biologiques impliquent :

- de supprimer les irritants d'origine bactérienne, ainsi que tous les tissus organiques susceptibles de se comporter comme substrat pour le développement des microorganismes résiduels et qui conduiraient inévitablement à un échec à plus ou moins long terme (Laurichesse et Coll., 1986).

Les impératifs mécaniques imposent :

-une conicité régulière du canal (le diamètre du canal augmente régulièrement de son point le plus apical au point le plus coronaire), de manière à pouvoir asseoir une obturation dense, totale, mais aussi amener et renouveler l'irrigant jusqu'au tiers apical.

-le maintien de l'anatomie canalaire d'origine par élargissement homothétique et le maintien des structures dentaires en préservant les zones apicales (cône de Kuttler) et cervicales. Son non-respect peut conduire à certains accidents, tels que les perforations, les déplacements d'apex, la création de butées et augmente les probabilités de fractures radiculaires (Schilder, 1974 ; Delzangles, 1992).

En respectant ces principes de préparation canalaire, la technique opératoire est basée sur le passage d'une séquence d'instruments endodontiques (manuels ou rotatifs) dans les canaux radiculaires. Le travail des instruments est conditionné par les mouvements dynamiques que l'opérateur leur impose. La préparation canalaire a donc pour buts de mettre en forme le canal et de débrider les parois dentinaires éventuellement infectées, selon la conicité la plus parfaite possible et sans éventuelles cryptes rétentives occupées par des bactéries.

L'objectif est non seulement de conditionner la réussite de l'obturation finale, mais aussi d'obtenir une conicité canalaire et un diamètre apical suffisant pour amener

et renouveler les irrigants de la zone du 1/3 apical ; la mise en forme canalaire assure ainsi la dynamique des fluides lors de l'irrigation dite "active" (Ruddle et coll., 2008).

Comme nous le savons, la zone du 1/3 apical est une zone critique pour le succès du traitement endodontique (Zehnder, 2006). La nécessité d'une irrigation dite « active » est acceptée depuis 1982, grâce à l'étude de Moorer, dans laquelle il met en évidence plusieurs facteurs (dont l'agitation mécanique) permettant d'améliorer les effets de l'hypochlorite de sodium (Moorer, 1982). Cela permet d'obtenir une dynamique des fluides intéressante pour amener l'irrigant dans l'ensemble du système canalaire. Une irrigation dynamique génère un courant acoustique ainsi qu'un phénomène de cavitation acoustique au sein de la solution (Clifford et Ruddle, 2008).

Techniquement, l'irrigation du système canalaire est permise par une solution d'irrigation délivrée entre chaque instrument, afin d'obtenir d'une part la désinfection canalaire et d'autre part un effet de chasse mécanique qui permet l'ascension coronaire des débris (Siqueira, 2000).

En endodontie, elle est généralement délivrée par une seringue dotée d'une aiguille à ouverture latérale. Un mouvement de va et vient de faible amplitude est donné à l'aiguille tout en la conservant dans le canal. Cela permet non seulement d'éviter la projection dangereuse de solution dans le périapex (Hülsmann et Hahn, 2000), mais aussi de potentialiser son efficacité par agitation mécanique.

Dans le cadre d'une instrumentation mécanique classique en rotation continue, il est conseillé de rincer le canal avec 1 à 2mL de NaOCl après le passage de chaque instrument (Naenni et coll., 2004). Chaque canal devra recevoir un minimum de 10mL de solution et pendant une durée d'action de 10 minutes minimum (Kamburis, 2003).

Le canal devra toujours être rempli de NaOCl ce qui augmentera ainsi le temps d'action de cet irrigant. Les instruments endodontiques verront également leur capacité de coupe majorée et ils subiront un stress sous tension moins important par rapport à un environnement sec (Zehnder, 2006).

De plus, environ 45% des parois radiculaires ne sont pas concernées par l'action mécanique des instruments (Peters et coll., 2004) et ajouté à cela, certaines portions des parois canales restent contaminées après traitement, car n'ont pas été en contact avec l'irrigant (Zehnder 2006).

L'ensemble de ces études soulignent l'importance de la complémentarité de la mise en forme canalaire et de l'irrigation.

-l'assèchement canalaire, validé par le retrait de deux pointes de papiers stériles, parfaitement propres et sèches ;

-l'obturation canalaire tridimensionnelle, totale et étanche, afin de s'opposer à toute réinfection endogène ou exogène et pérenniser le traitement réalisé ;

-l'obturation coronaire : par technique de restauration directe (amalgame, composite...) ou indirecte (prothétique). Les objectifs sont l'esthétisme, la fonctionnalité (occlusion, fonctions manducatrices) et la pérennité de la restauration choisie. La pérennité de la restauration coronaire et par extension, de la santé de la dent, seront directement conditionnées par l'étanchéité de la restauration coronaire : elle fait barrière à une éventuelle réinfiltration bactérienne par voie orthograde (Simon et coll., 2008).

B. Les infections endodontiques

1. Définitions

Une infection endodontique est le résultat de la pénétration et de la prolifération de micro-organismes pathogènes dans l'endodonte. Le contexte est donc septique (Dictionnaire francophone des termes d'Odontologie Conservatrice 2010).

On distingue différents types d'infections endodontiques :

-Primaires : provoquées par des microorganismes qui colonisent et prolifèrent dans le système canalaire pour la première fois.

-Infections secondaires : provoquées par des micro-organismes qui n'étaient pas présents lors de la primo-infection mais qui ont été introduits dans le système canalaire soit pendant l'intervention endodontique soit à *posteriori*. Elles surviennent sur une dent déjà traitée endodontiquement.

-Infections persistantes : entretenues par les microorganismes présents lors de la primo-infection, qui n'auraient pas été éliminés correctement par le traitement endodontique (Sudqvist et coll., 1998).

-Infections récurrentes : provoquées par des micro-organismes qui ont été éliminés lors du traitement endodontique mais qui sont parvenus à réinfiltrer le système canalaire et redevenir critique. Les infections récurrentes sont souvent mises en évidence dans les canaux endodontiques réobturés de multiples fois ou bien laissés ouverts entre deux étapes de traitement sur des durées équivalentes à des journées ou lorsque l'étanchéité coronaire fait défaut (Siqueira and Rôças, 2008).

Les infections secondaires, persistantes et récurrentes sont des indications de retraitement endodontique. Le retraitement étant la réalisation d'un nouveau traitement à la suite d'un traitement initial inadéquat, ou de son échec (Dictionnaire francophone des termes d'Odontologie Conservatrice, 2010).

2. La colonisation bactérienne de l'endodonte

En 1965 et 1981, Kakehashi puis Möller démontrent, par des études animales, que l'infection endodontique est d'origine microbiologique. Les bactéries de la cavité buccale sont à l'origine des pathologies pulpaires et périapicales (Kakehashi et coll. 1965 ; Sundqvist, 1976).

Les infections endodontiques sont polymicrobiennes et dominées par des bactéries anaérobies du fait de l'environnement canalaire (croissance par fermentation d'acides aminés et non d'hydrates de carbone, milieu pauvre en oxygène...).

Bien que l'agent microbien majoritaire soit la bactérie, on peut également rencontrer des champignons (*Candida albicans*), des virus (CMV, EBV, VIH), des archéobactéries ou encore des prions (Siquiera et coll., 2003).

En premier lieu, les réactions pulpaires et les défenses immunitaires sont stimulées par les diverses toxines et métabolites synthétisés par les bactéries. On parlera de nécrose pulpaire uniquement à partir du moment où les microorganismes pénètrent dans l'endodonte et que la charge bactérienne devient critique.

Une fois l'endodonte dépourvu de vie, les bactéries provenant successivement de la cavité buccale et des tubulis dentinaires coronaires (par processus carieux, traumatiques) ou parodontaux (poche infra-osseuse, lésion endo-parodontale) peuvent coloniser le système canalaire dans ses moindres ramifications (Shovelton, 1964).

La situation des bactéries au niveau du système canalaire, le nombre de tubulis contaminés, la profondeur de leur envahissement, sont ainsi le reflet de l'ancienneté de la contamination et expliquent la persistance de l'infection canalaire.

Les infections endodontiques persistantes, responsables d'échecs, sont souvent associées aux bactéries situées dans les tubulis dentinaires radiculaires difficilement nettoyés par nos traitements mécaniques et chimiques (Siquiera et coll., 1996). En effet, 60 à 90% des dents portant une lésion péri-apicale présentent une contamination bactérienne des tubulis dentinaires radiculaires (Haapasalo et coll., 2007). Les tubulis dentinaires servent donc de réservoirs bactériens susceptibles de recontaminer le système endodontique, si l'obturation canalaire n'est pas suffisamment dense et étanche.

La flore bactérienne envahissant les tubulis dentinaires radiculaires présente de nombreuses similitudes avec la flore mise en évidence dans les couches profondes de la carie dentinaire coronaire. Il s'agit essentiellement de bactéries anaérobies facultatives: *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Propionibacterium* sont les composants principaux (Sundqvist and Figdor, 2003). Les coques à Gram + anaérobies, tels que *Veillonella* ou *Eubacterium*, sont présentes en nombre plus faible. *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella intermedia*, bactéries anaérobies strictes à

Gram-, sont présent en nombre variable (Ando et Hoshino, 1990 ; Hoshino, 1985 ; Peters et coll., 2001).

Les bactéries composant la flore intracanalairé présentent la capacité de d'adhérer à la dentine. Elles peuvent alors se propager librement dans l'endodonte, grâce à leurs capacités d'adhésion aux parois dentinaires intra radiculaires (Love and Jenkinson, 2002).

La capacité d'adhésion des bactéries aux parois radiculaires est permise par les mêmes stratagèmes que ceux utilisés pour adhérer et coloniser les tubulis dentinaires coronaires. Elle fait intervenir non seulement le mécanisme de divisions cellulaires, afin d'augmenter leur nombre (Siquiera et coll., 1996) mais aussi la synthèse de protéines d'adhésion (adhésines) qui vont se lier à des ligands spécifiques de la paroi dentinaire : les bactéries cariogènes dentinaires profondes se servent des glycoprotéines salivaires recouvrant l'hydroxyapatite du tissu dentinaire à l'entrée du canal, pour y pénétrer et s'y ancrer.

Ainsi, *Streptococcus*, bactérie anaérobie facultative et colonisateur primaire du système canalaire, se lie à l'hydroxyapatite dentinaire radiculaire, par l'intermédiaire des protéines salivaires (Love and Jenkinson, 2002).

La croissance et le métabolisme des bactéries cariogènes sont à l'origine d'une déminéralisation localisée de la dentine intra-canalairé la plus coronaire par le biais d'acides bactériens : elles sont capables de reconnaître le collagène I dentinaire dénaturé et de s'y fixer par l'intermédiaire d'adhésines spécifiques ; telles que les Ag I/II pour *Streptococcus* (Love and Jenkinson, 2002). Une fois fixées ainsi aux parois dentinaires canalaire, les bactéries peuvent se propager en direction de l'apex.

Cependant, ce mécanisme ne suffit pas à toutes les bactéries pour envahir le système endodontique. Il faut également que les bactéries soient capables de survivre dans les conditions environnementales particulières que représentent le système canalaire et les tubulis dentinaires : à savoir un milieu humide et à faible teneur en oxygène.

Ce sont ces conditions qui dictent la loi de la sélection bactérienne (Fouad, 2009) : c'est une sélection par le milieu, qui aboutit à l'élaboration et à la maturation d'un biofilm bactérien endodontique.

Sous forme de biofilm, les bactéries deviennent non seulement plus résistantes, mais se trouvent aussi à l'abri des défenses immunitaires de l'hôte, puisque le système immunitaire ne peut pas atteindre les espaces nécrosés (avasculaires) de l'organisme (Piette and Goldberg, 2001).

3. Formation et organisation du biofilm

La bactérie peut vivre à l'état planctonique quand elle vit en flottaison libre dans un milieu liquide et à l'inverse, elle peut se développer au sein d'une communauté microbienne sous forme de biofilm bactérien, pour augmenter ses chances de survie. 99,9% des bactéries vivent au sein d'un biofilm (Donlan and Costerton, 2002).

Des études *in vitro* reproduisant la formation de biofilms ont démontré une résistance accrue des bactéries ainsi organisées, par rapport à leurs homologues sous forme planctoniques (Abdullah et coll., 2005).

Les conditions environnementales présentes dans le canal endodontique sont différentes de celles présentes dans la cavité buccale. Afin de survivre aux modifications du milieu canalaire en transition, les bactéries s'adaptent en formant un biofilm endodontique (Bergenholtz et coll., 2003).

La première caractéristique d'un biofilm est la matrice cellulaire synthétisée par les bactéries : elle les rend moins vulnérables aux antibiotiques et aux désinfectants classiques déployés en thérapeutique endodontique. Sa synthèse contribue ainsi à leur pathogénicité (Prescott et coll., 2003).

Cette matrice est faite principalement de polysaccharides, mais contient également des acides nucléiques et des phospholipides. Les bactéries qui y sont engluées, sont séparées par des canaux aqueux où circulent des nutriments. L'organisation en différentes couches du biofilm crée des niches où oxygène et nutriments sont

principalement utilisés en surface, laissant les couches profondes dans un environnement aux conditions plus difficiles (Gouet, 2011).

L'adhésion bactérienne (de type réversible puis irréversible) aux parois tubulaires radiculaires, est l'étape primaire indispensable à la formation d'un biofilm bactérien endodontique. Les murs dentinaires ne sont pas les seules surfaces susceptibles d'être recouvertes par ces biofilms endodontiques : les ciments de scellement canalaires et la gutta-percha le sont également (Saji et coll., 2010).

Au fur et à mesure de la progression de l'infection endodontique, les bactéries s'associent pour former des populations ou niches bactériennes. C'est la phase de maturation du biofilm, qui sera suivi par sa croissance en couches multiples (figure 1).

Plusieurs populations s'associent et forment une communauté bactérienne. Chaque niche a un rôle dans la communauté en termes d'apports de nutriments de synthèse, d'échange de facteurs d'accommodation au milieu et de facteurs de résistance.

En effet, les bactéries sont capables d'évaluer leur densité en fonction de certaines molécules activatrices qu'elles produisent. Le "*quorum-sensing*" est un processus de communication chimique chez les bactéries, qui est défini comme la régulation des gènes en réponse à la densité cellulaire, ce qui influe sur les différentes fonctions : la virulence, la tolérance et la formation de biofilms (Hojo, 2009). Cela s'accompagne de la régulation génétique de certains facteurs bactériens, conférant aux biofilms un accroissement de sa résistance (Bassler 1999 ; Lazazzera 2000). C'est ainsi que va s'opérer au sein même du biofilm une pression de sélection, traduite par la prolifération des espèces les plus résistantes au dépend des plus faibles.

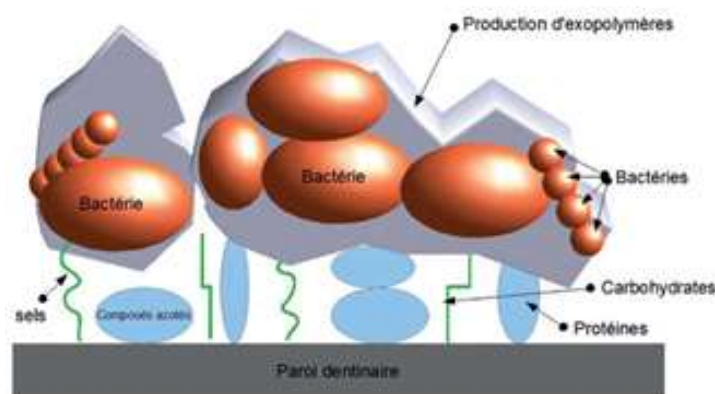


Figure 1 : schématisation de l'organisation d'un biofilm bactérien (Gouet, 2011)

4. Évolution de la flore endodontique selon le stade de l'infection bactérienne

La sélection bactérienne est dictée par un certain nombre de déterminants tels que la concentration en oxygène dans le canal, les produits de dégradation de l'oxygène, le potentiel d'oxydo-réduction associé, le pH, la quantité de nutriments disponibles, la température... Il en résulte une composition du biofilm bactérien endodontique toute particulière bien qu'unique pour chaque individu.

Le milieu canalaire et son tissu pulpaire nécrosé jouent donc un rôle d'habitat sélectif pour les microorganismes colonisateurs. La répartition bactérienne des espèces rencontrées va varier selon les situations cliniques et surtout selon le stade de l'infection (figure 2).

Les infections endodontiques primaires seront dominées majoritairement par des bactéries de type Gram - anaérobies obligatoires.

En revanche, dans les infections secondaires ou persistantes, la flore sera constituée de bactéries plus résistantes aux conditions des dents dépulpées, de type Gram+ anaérobies facultatives ; on trouvera parmi elles essentiellement des streptocoques (espèce *non mutans*), des lactobacilles et des entérocoques.

Durant la thérapie endodontique, la flore sera donc partagée entre ces deux groupes avec une tendance à la diminution des bactéries à Gram - , car elles s'avèrent plus sensibles à l'action désinfectante de l'hypochlorite de sodium. Elles survivent donc difficilement au nouvel environnement qui s'établit durant et après le traitement endodontique (Chavez de Paz, 2003).

En revanche, les bactéries de type anaérobies facultatives à Gram+ semblent plus résistantes aux procédures mises en œuvre lors du traitement endodontique. Elles sont donc présentes dans les infections secondaires et récurrentes impliquées dans les échecs de traitement (Chavez de Paz, 2003).

C'est pour cette raison que nous nous intéresserons particulièrement à *Enterococcus faecalis* : cette bactérie, de type coque à Gram + anaérobie facultative est présente dans 24% à 77% des canaux obturés présentant une parodontite apicale

(Stuart et coll., 2006). Cette espèce est donc assimilée comme responsable principale des échecs de traitement (Stuart et coll., 2006).

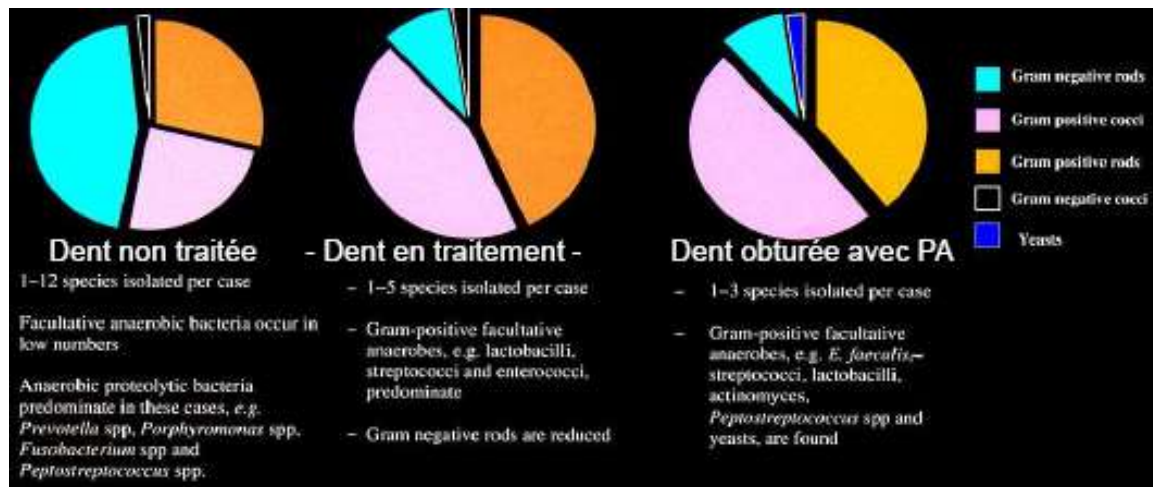


Figure 2 : Diagramme présentant les différentes flores endodontiques (Bouillaguet, 2011).

5. Topographie des flores endodontiques

Les biofilms d'origine endodontique peuvent être classés topographiquement en biofilms intracanaux, extracanaux, périapicaux et centrés sur un biomatériau.

a. Les biofilms intracanaux monocouches et/ou multicouches

Ils sont retrouvés sur les murs dentinaires des dents infectées. Dans un biofilm intracanal, le nombre et les proportions des différentes espèces bactériennes retrouvées sont en fonction du niveau de maturation de ce dernier. Il existe également des signes évidents de dégradation de la surface dentinaire en rapport avec un biofilm. Dans une étude menée sur des dents avec parodontite apicale, la présence de biofilms intracanaux a été clairement démontrée dans 77 % des cas (80 % dans les canaux non traités et 74 % dans les canaux traités) (Ricucci et Siqueira, 2010).

b. Les biofilms extra-radiculaires fixés sur la racine

Ils sont définis comme des biofilms présents au niveau du ciment à proximité du foramen apical. Ils sont retrouvés dans les cas de dents présentant un abcès apical chronique avec fistule ou dans les cas présentant une parodontite apicale asymptomatique (Ingle et coll., 2008).

Dans une étude menée sur des dents présentant une parodontite apicale, seuls 6% des cas présentaient des biofilms extraradiculaires (Ricucci et Siqueira, 2010). Ces bactéries sont 1000 fois plus résistantes que leurs homologues planctoniques (Svensater et Bergenholtz, 2014).

Des formes de biofilms calcifiés ont aussi été rapportés, formant des sortes de dépôts tartriques. Mais la présence de tels biofilms calcifiés se retrouve dans le cas de lésions réfractaires (Harn et coll., 1998).

c. Les bactéries non fixées présentes dans les tissus périapicaux

Ce sont des bactéries isolées sur la surface radiculaire des apex d'une dent présentant une infection endodontique (Tronstad et Sunde, 2003). Ces bactéries retrouvées dans les tissus apicaux ont été reliés à la présence de pathologies apicales persistantes. Elles peuvent être dépendantes ou non du canal radiculaire principal. Il existe peu d'espèces bactériennes capables de résister aux défenses de l'hôte présentes dans les tissus périapicaux.

Le genre *Actinomyces* et les espèces *P. propionicum* ont été retrouvés dans les lésions périapicales réfractaires asymptomatiques. Seule l'espèce *Actinomyces* peut proliférer dans les tissus, formant des agrégats pouvant atteindre plusieurs millimètres de diamètre. Ces agrégats sont appelés «granules de soufre» du fait de leur coloration jaunâtre (Hornef et coll., 2002 ; Miller et coll., 1978).

Des biofilms à structure granulaire rappelant ces granules de soufre ont également été observés in vitro, suite à la colonisation et la calcification de cellules bactériennes *d'Enterococcus faecalis* sur des surfaces radiculaires (Rosanova et coll., 1991).

C. La flore microbienne associée aux infections endodontiques secondaires, persistantes et récurrentes

1. Étiologies des échecs de traitement endodontique

L'étiologie des échecs est due à la persistance ou à la ré-infiltration d'éléments microbiens dans le système canalaire.

Cela peut être le résultat de complications techniques, pré, per ou post opératoires, opérateur dépendants, ou de complications biologiques de type résistance bactérienne. Un échec est très souvent donc multifactoriel (Zehnder, 2006 ; Siqueira, 2002).

Les étiologies des échecs de traitement endodontique habituellement rencontrées sont :

- un défaut du contrôle de l'asepsie,
- un mauvais protocole d'irrigation : insuffisante et inefficace (Siqueira et coll., 2007),
- une obturation défectueuse du système endodontique
- une obturation par excès ou par défaut,
- la persistance d'un canal non instrumenté,
- une fracture instrumentale,
- une restauration coronaire non étanche et permettant le passage de bactéries du milieu buccal vers les canaux obturés (Saunders et Saunders, 1994 ; Smith et coll., 1993).

2. La flore microbienne associée aux échecs de traitement endodontique

La flore orale d'un individu est constituée d'environ 300 espèces bactériennes différentes (Bouvet et coll., 1994) mais la sphère orale constituant un écosystème complexe, plus de 1200 espèces sont capables de la coloniser ; la majorité d'entre elles ont été identifiées (de Lilo et coll., 2006). Cette flore varie en fonction de l'âge, du site

de prélèvement et de la situation clinique (Mombelli et coll., 1991 ; Könönen et coll., 1994).

La flore associée aux échecs endodontiques correspond aux situations infectieuses de type secondaires, persistantes ou récurrentes.

La microflore issue des dents où le traitement endodontique a échoué, est différente de celle que l'on rencontre dans les pulpes nécrotiques non traitées (infections primaires), car un canal radiculaire obturé constitue un microenvironnement favorisant la sélection d'espèces bactériennes spécifiques, puisque clos et pauvre en oxygène (Haapasalo et coll., 1998 ; Ortstavik et Ford, 1998).

En argument, les germes retrouvés dans une parodontite apicale primaire (avant un traitement endodontique) sont principalement des bactéries Gram - anaérobies strictes ou facultatives. En revanche, dans les parodontites apicales secondaires à un traitement, nous retrouvons plutôt des bactéries Gram + anaérobies facultatives, d'un nombre très limité d'espèces.

Parfois, on décrit une mono-infection monopolisée par l'espèce la plus résistante (Noiri et coll., 2008).

Il perdure néanmoins que ce sont des biofilms multi-espèces qui sont retrouvés majoritairement dans les cas d'échecs de traitements endodontiques (Carr et coll., 2009 ; Siqueira et Rôças, 2008). Mais seul peu d'espèces bactériennes (6 à 12) sont retrouvées dans les cas d'échecs et leurs proportions varient d'une personne à l'autre ; il s'agit essentiellement de : *Enterococcus faecalis* (47%), *Streptococcus* (47%), *Lactobacillus* (35%), *Eubacterium infirmum* (29%), *Prevotella intermedia* (29%), *Selenomonas sputigena* (29%), *Synergistes* (29%) et *Treponema denticola* (29%). Hormis les bactéries, nous retrouvons aussi des levures : *Candida albicans* (6%) (Rôças et coll., 2008).

La sélection des micro-organismes présents dans les infections persistantes, s'opère en fonction de leur résistance aux agents et matériaux utilisés au cours du traitement et de leur capacité à survivre dans un environnement pauvre en nutriments (Sundqvist, 1998). Ces bactéries oscillent à des charges comprises entre 10^3 et 10^7

bactéries par canal infecté avant tout traitement et sont encore persistantes à 10^2 - 10^5 bactéries après détersion chimique et instrumentation mécanique.

La majorité des bactéries aérobies ne survivent pas au cours du traitement endodontique : normalement, la désinfection a modifié l'environnement canalaire, le rendant défavorable à la survie bactérienne. Mais si la désinfection est mal menée, ou si l'agent utilisé n'est pas efficace pour combattre le micro-organisme majoritairement responsable de la récurrence infectieuse, l'échec du traitement endodontique est à craindre.

C'est donc surtout une flore composée de bactéries Gram+ anaérobies facultatives et de bactéries Gram- anaérobies strictes, qui va subsister par pression de sélection naturelle: les germes intracanaux les plus résistants entrent en compétition, du fait du caractère limité de l'espace canalaire et de la quantité de nutriments disponibles. Un nombre faible de bactéries peut donc résister à un traitement endodontique correctement réalisé.

Dans les situations d'infections persistantes ou secondaires, les bactéries qui parviennent à vivre dans les espaces laissés par une obturation insuffisante ou peu dense, ou encore dans les zones non obturées (tiers apical, canaux latéraux..) puisent leur nutriments dans les fluides d'origine périapicaux et coronaires.

3. *Enterococcus faecalis*, cause principale des infections endodontique secondaire, persistantes et récurrentes

a. Origine

Enterococcus faecalis est une bactérie commensale de type coque Gram +, qui se développe dans le tube digestif des humains et d'autres mammifères. Elle est anaérobie facultative.

Elle a su développer des résistances à de nombreux antibiotiques communément utilisés en thérapeutique odontologique (pénicillines, clindamycine) et hospitalières (Vancomycine® et Teicoplanine®) (Larsen et coll., 2011). L'acquisition de

résistances contre les antibiotiques peut être provoquée par l'usage déraisonné des antibiotiques : en effet, cela entraîne la sélection des souches les plus résistantes, par l'acquisition de matériels génétiques issus des plasmides des bactéries lysées (Martin et coll., 2007).

Concernant la Vancomycine[®], on relate des phénomènes de transmissions croisées (diffusion clonale) entre bactéries. Les résistances déployées par *Enterococcus faecalis* contre l'Amoxicilline[®] sont pour la plupart acquises, mais aussi naturelles, par la production d'une pénicillinase (Archambaud et Clave, 2007).

Enterococcus faecalis n'est pas un hôte habituel du système canalaire et ne fait pas partie des germes responsables de la carie, mais elle profite d'un défaut d'étanchéité de la reconstruction coronaire et du traitement endodontique, pour y pénétrer et s'y développer (Debelian, 2006). Elle parvient à subsister dans les espaces laissés libres entre l'obturation et les parois canalaire et dans les zones non obturées (tiers apical, canaux latéraux..) et puise sa nutrition dans les fluides périapicaux et coronaires.

Enterococcus faecalis n'est pas un colonisateur de la flore buccale habituelle, mais provient de la flore transitoire orale. L'origine évoquée par les auteurs des infections canalaire par *Enterococcus faecalis*, serait la nourriture (d'origine animale) (Zehnder et coll., 2009). En effet on retrouve *Enterococcus faecalis* dans le lait et produits laitiers grâce à ses différentes propriétés (croissance sur une large gamme de températures, résistance élevée à la chaleur, tolérance au sel, dégradation importante des caséines et fermentation du lactose). Ce germe se retrouve facilement dans les ustensiles ayant subi des traitements de nettoyage inefficaces et entre ainsi, ultérieurement, en contact avec le lait et les produits laitiers qui en dérivent. De plus, *Enterococcus faecalis* participe à la maturation des fromages et à la stimulation de la croissance des lactobacilles et d'autres bactéries lactiques naturellement présentes dans ce milieu (Dromigny, 2012).

b. Rôle dans les échecs de traitement en endodontie

Il faut prendre en considération que 55% des bactéries qui persistent dans un canal après traitement ne sont pour le moment pas cultivables in vitro (Sakamoto et coll., 2007) ; mais selon les données scientifiques actuelles, un agent microbien a toutefois été ciblé comme principale cause des échecs endodontiques : *Enterococcus faecalis*.

Enterococcus faecalis est plus majoritairement présent dans les échecs de traitement endodontique (infection persistantes et secondaires) que dans les cas d'infections endodontiques primaires (Ozbek et coll., 2009).

Sa prévalence s'étend de 24% à 77% dans les infections persistantes et font de cette bactérie la première responsable des causes de récives infectieuses (Moller et coll., 2004) ; mais les dents nécrosées non obturées endodontiquement, sont aussi ses sites de prédilection (Zenhder et coll., 2009).

Dans des cas de dents obturées présentant des lésions apicales, elle a été ciblée comme unique agent microbien (cultures pures) responsable d'infections récurrentes (Pinheiro et coll., 2003).

c. Colonisation de l'endodonte par *Enterococcus faecalis*

❖ Adhésion aux substrats

Enterococcus faecalis est capable de se lier au collagène de type I et IV de la dentine par l'intermédiaire de deux types d'adhésines : la serine protéase et la *collagen-bindingprotein* (ace) (Love, 2001). Ces deux adhésines, en plus d'autres protéines, lui permettent également de se lier à l'hydroxyapatite de la dentine (Portenier, 2003). Ces liaisons à l'hydroxyapatite et au collagène dentinaire pourraient même se faire sans passer par une organisation en biofilm (Hubble et coll., 2003 ; Kowalski et coll., 2006).

La serine protéase va contribuer à la résorption osseuse et à la dégradation de la matrice organique dentinaire ; en dégradant le collagène dentinaire, elle prépare la surface canalair à l'adhésion bactérienne par l'intermédiaire de la protéine ace (Hubble et coll., 2003).

L'expression d'ace, pivot de l'adhésion, est majeure à 37°C et durant la phase de croissance de la bactérie (présence de nutriments). La transcription de son gène augmente en présence de collagène de type I déminéralisé.

On comprend donc comment le collagène est le premier substrat permettant la fixation d'*Enterococcus faecalis* aux parois dentinaires tubulaires et intra-canalaires et représente un substrat important comme point de départ de l'adhésion, la colonisation et la formation de son biofilm (Love, 2001).

Dans des cas de dents présentant des parodontites apicales chroniques, le degré de déminéralisation et de résorption apicale joueraient un rôle significatif dans la pénétration d'*Enterococcus faecalis* dans l'endodonte, par adhésion au ciment radiculaire. Les mécanismes sont encore mal élucidés, mais la sévérité de l'infection apicale serait directement proportionnelle à la profondeur de la pénétration bactérienne par voie rétrograde (Halkai et coll., 2014).

Nous avons longtemps considéré les substrats dentaires d'*Enterococcus faecalis* comme principaux supports responsables de sa persistance dans l'endodonte or, un certains nombres de micro-organismes, dont *Enterococcus faecalis*, auraient une haute affinité avec les ciments de scellement canalaire et les matériaux d'obturation ; en particulier la gutta-percha. La persistance bactérienne due au développement privilégié de biofilms sur ces matériaux pourrait être suggérée comme une nouvelle étiologie aux échecs endodontiques (Senges et coll., 2011).

❖ Progression dans l'endodonte

Enterococcus faecalis est capable d'envahir de façon majeure un tubulus dentinaire en formant un agglomérat de bactéries, alors que le tubulus dentinaire voisin demeure non contaminé (Chivatxaranukul et coll., 2008).

Le nombre de bactéries envahissant les tubullis dentinaires est proportionnel au nombre de bactéries présentes dans le système endodontique. La pénétration bactérienne dans les tubullis dentinaires le long du canal endodontique principal est mise en évidence dans 81% des cas. La quantité de bactéries varie entre 10^4 et 2.10^4 . Dans la portion cémentaire des tubullis dentinaires radiculaires (ou portion externe), les

bactéries ne sont présentes que dans 62% des cas. On en dénombre alors entre 5.10^3 et 10^4 (Peters et coll., 2001).

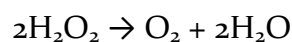
Enterococcus faecalis pénètre dans les tubullis dentinaires jusqu'à une profondeur de 400 µm en deux semaines (Love and Jenkinson, 2002).

d. Métabolisme et capacité de résistance dans l'endodonte

Enterococcus faecalis est capable de croître à des températures situées entre 10°C et 45°C, à un pH de 9,6 et survit dans des solutions salines concentrées jusqu'à 6,5 %. Elle est capable de survivre 30 minutes à 60°C (Portenier et coll., 2003). Sa capacité de survie à des pH élevés, lui confère sa résistance aux médicaments à l'hydroxyde de calcium (Evans M. et coll., 2002).

Le métabolisme de cette bactérie repose sur la fermentation de sucres en acide lactique. Elle est dite catalase négative et n'en possède en général pas.

La catalase est une enzyme de type oxydoréductase conduisant à la dismutation du peroxyde d'hydrogène selon la formule :



La bactérie est donc sensible au peroxyde d'hydrogène dans la majorité des cas ; mais, confrontée au stress oxydant, elle va se défendre en synthétisant une catalase de type nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate-dihydrogénase (NADPH) peroxydase.

A terme, *Enterococcus faecalis* devient donc capable de développer des résistances contre le peroxyde d'hydrogène en synthétisant cette catalase, qui entraîne la dismutation du peroxyde d'hydrogène et inhibe alors son action (Baureder et coll., 2012).

En endodontie, le temps d'irrigation totale étant assimilé comme court à l'échelle biologique, la bactérie ne dispose pas du temps nécessaire pour synthétiser la catalase. Ce phénomène précis de résistance n'intervient donc pas dans notre domaine d'intérêt.

En revanche, *Enterococcus faecalis* est capable de survivre dans les conditions extrêmes des canaux obturés en s'organisant sous la forme d'un biofilm.

Cette organisation spatiale et biochimique accroit de 1000 fois la résistance d'*Enterococcus faecalis* à la phagocytose, aux traitements antibiotiques et antiseptiques (Appelbe et Sedgley, 2007).

Les membres du biofilm ainsi rassemblés, s'échangent des signaux de prolifération, des nutriments issus de leur métabolisme (en plus de ceux des fluides apicaux et coronaires), des gènes de résistance et communiquent par phéromones, ce qui leur permet de s'informer des conditions du milieu et de s'y adapter ensemble.

En ce qui concerne les mécanismes de résistance, *Enterococcus faecalis* est capable de mutations génétiques et enrichit son génome par acquisition de plasmides extérieurs. Ces plasmides sont obtenus par la bactérie grâce au mécanisme de conjugaison, traduisant des échanges entre bactéries de la même espèce, mais aussi d'espèces différentes. Ceci entraîne un réel brassage de gènes qui lui confère des résistances de plus en plus accrues. La bactérie devient ainsi de plus en plus virulente et acquiert un potentiel infectieux plus important. Ce phénomène conduit à sa sélection positive sur les autres espèces bactériennes, devenues incapables de subsister dans le milieu modifié par le traitement des canaux.

Ainsi, même dans les conditions pauvres en oxygène et en nutriments que représente un canal obturé, la bactérie adapte son métabolisme aux variations externes (Sedgley et coll., 2005).

D. Action des solutions antibactérienne actuelles sur les microorganismes résistants

Depuis que nous savons que les biofilms endodontiques sont responsables de la plupart des échecs thérapeutiques (Hall-Stoodley 2009 ; Parsek et Singh, 2003), nous cherchons tous les moyens de les éliminer lors de nos traitements ou retraitements.

Différentes méthodes peuvent être employées de façon alternée ou concomitante. Que ce soit pendant le traitement endodontique ou en inter-séances, le praticien déploie toutes les mesures pour réduire au maximum la charge bactérienne des biofilms qui sont accessibles aux thérapeutiques par voie orthograde.

Dans le chapitre relatif au traitement endodontique, nous avons montré l'importance de la combinaison mécanique et chimique ; cette dernière étant la seule permettant une meilleure désinfection canalaire.

1. Propriétés recherchées pour une solution d'irrigation canalaire

❖ Exigences mécaniques :

- Élimination des débris contenus dans le canal radiculaire et dans les zones inaccessibles au nettoyage mécanique par effet de chasse ;
- Élimination de la couche de boue dentinaire (*smear layer*) recouvrant les parois canalaire ;
- Favoriser une diffusion maximale dans les tubullis dentinaires grâce au flux (pénétration + échange) et reflux de l'irrigant ;
- Lubrification des parois canalaire et des instruments (Siqueira et coll., 2000).

❖ Exigences chimiques

- Antiseptique : virucide, bactéricide et fongicide ; anti-microbien à large spectre pour éliminer les bactéries contenues dans le canal radiculaire et présentes dans les zones inaccessibles au nettoyage mécanique ;
- Efficacité contre les bactéries anaérobies et anaérobies facultatives organisées en biofilm ;
- Biocompatibilité : désinfection sans irritation, non allergénique, non toxique ;
- Action solvante sur les tissus organiques et minéraux ;
- Protéolytique ;
- Limitation des risques de dénaturation des protéines dentinaires ;
- Action désodorisante et éclaircissante (Zehnder, 2006).

Actuellement il n'existe toujours pas d'irrigant idéal alliant l'ensemble de ces exigences. Pour cela, il convient de combiner plusieurs solutions d'irrigation, afin d'exploiter et associer les avantages de chacune.

2. Les principaux agents actuels en endodontie : cibles et efficacité

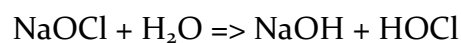
Historiquement, de nombreux produits ont été utilisés comme solutions d'irrigation en endodontie. On peut citer l'eau distillée, les solutions anesthésiques, les acides (citrique et phosphorique), les chélateurs (EDTA), les enzymes protéolytiques, les solutions alcalines (hypochlorite de sodium, hydroxyde de sodium, urée, hydroxyde de potassium), les agents oxydants (peroxyde d'hydrogène, perborate de sodium, eau superoxydée), différents antibiotiques, les ammoniums quaternaires, l'eau ozonée et enfin, la chlorhexidine.

Pour ne pas être exhaustif, nous allons présenter uniquement les principaux irrigants évoqués dans les pratiques endodontiques actuelles.

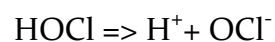
a. L'hypochlorite de sodium NaClO : l'irrigant de première intention

Le chlore (Cl) constitue le principal élément actif d'une solution d'hypochlorite de sodium. Il s'agit d'un puissant oxydant. En solution aqueuse, il peut être rencontré sous la forme d'ions hypochlorites OCl^- ou d'acide hypochloreux HOCl.

En solution, l'hypochlorite de sodium se dissocie suivant l'équation suivante:



En solution aqueuse, l'acide hypochloreux (HOCl) se dissocie partiellement en ion hypochlorite (OCl^-) selon la formule :



Les deux formes HOCl et OCl^- déterminent la concentration de "chlore actif" et donc la quantité totale de chlore disponible. Ce sont ces deux formes qui vont intervenir efficacement dans de nombreuses réactions antibactériennes. Elles vont interagir par des réactions d'oxydation et d'hydrolyse irréversibles, conduisant à l'inactivation de certaines enzymes bactériennes dites essentielles : ce sont des enzymes endocellulaires qui restent à l'intérieur de la cellule et qui transforment les molécules pour les besoins nutritionnels et énergétiques de la bactérie (Estrela et coll., 2002).

En endodontie, les solutions d'hypochlorite de sodium ont un pH de 12, c'est donc la forme OCl^- qui est majoritaire en solution.

Actuellement, l'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 2,5% est l'irrigant le plus couramment utilisé et recommandé en endodontie, car il réunit le plus grand nombre des propriétés physiques et chimiques recherchées (Naenni et coll., 2004) non retrouvées dans d'autres irrigants intracanaux.

En effet, il présente un large spectre antimicrobien (Zehnder, 2006) contre les bactéries végétatives, spores, champignons, protozoaires, virus (HIV, HSV-1, HSV-2, HBV, HAV) (Siqueira et coll., 2000), contre la flore bactérienne canalaire organisée en biofilms et possède une activité protéolytique intéressante. Cependant, selon des études, de 0,5% à 5,25%, l'hypochlorite de sodium ne présenterait pas de grande efficacité sur *Enterococcus faecalis* (Sundqvist et Byström, 1985).

En revanche le NaOCl présente des capacités solvantes sur les tissus organiques (dissolution des tissus pulpaux et des composés organiques de la smear layer), lubrifiantes, un pH élevé, un coût modéré, disponible facilement (Frais et Gulabivala 2001) et enfin des propriétés éclaircissantes et désodorisantes.

Son activité est bactéricide ou bactériostatique, selon les réactions chimiques orchestrées et les entités bactériennes touchées (tableau 1).

Tableau 1 : mécanismes d'action de NaOCl (Pecora et coll., 1999)

	Réactions	Conséquences	Résultante
1	<u>Chloramination</u> Formation de chloramine à partir de Cl et d'acides aminés	Dégradation des acides aminés Libération d'ions OH ⁻ ↓ ▪ inhibition irréversible d'enzymes bactériennes dites essentielles	Interférence avec le métabolisme cellulaire et l'intégrité de la membrane cytoplasmique ↓ Activité anti-microbienne
2	Hydrolyse (OH ⁻)	▪ inhibition irréversible d'enzymes bactériennes dites essentielles	
3	Oxydation (Cl = OCl ⁻ et HOCl)	▪ inhibition irréversible d'enzymes bactériennes dites essentielles	
4	pH élevé	▪ Dégradation des phospholipides ▪ Inactivation de certaines enzymes bactériennes dites essentielles ▪ touche les bactéries aciduriques/acidophiles	Activité anti-microbienne et Dissolution
5	<u>Saponification</u> dégradation des acides gras et lipides avec formation de savon et d'alcool	▪ Dégradation des acides gras (= action de solvant) ▪ Diminution de la T de S de la solution restante donc augmentation de la mouillabilité (pénétration)	Dissolution des tissus organiques

Les principaux désavantages de l'hypochlorite de sodium sont l'absence d'action sur les composés inorganiques et surtout sa toxicité directement en rapport avec sa concentration.

Le problème de la toxicité de l'hypochlorite de sodium est l'objet de pléthore de textes, mais les cas présentés à l'étude associent aux accidents toxiques des erreurs cliniques : pression extrême sur le piston de la seringue, blocage de l'aiguille dans le canal, perforation, apex ouvert ou déchiré par l'action des instruments (Hülsmann et Hahn, 2000).

S'il advient une projection au-delà de l'apex, ou un contact muqueux par défaut d'étanchéité de la digue, le produit peut occasionner une irritation importante, des brûlures caustiques, voir une nécrose tissulaire, avec dans ce cas un risque secondaire de surinfection des tissus atteints (Hülsmann et coll., 2000). Les signes cliniques tels que des douleurs plus ou moins sévères, un œdème accompagné ou non d'hématomes,

sont quasi immédiats et doivent alerter le praticien qui réagira en fonction de l'ampleur de l'atteinte.

C'est en raison de ces risques biologiques qu'il est recommandé d'utiliser l'hypochlorite de sodium à des concentrations de 2,5% : compromis entre cytotoxicité acceptable et effet bactéricide optimal (HAS, 2008).

Malgré ces inconvénients qui amènent certains auteurs à remettre en question son usage, ce qu'il faut retenir est assurément qu'il n'existe actuellement aucune solution de remplacement à l'hypochlorite de sodium, qui demeure la solution d'irrigation de choix de première intention (Zehnder, 2006).

b. L'EDTA : complément à l'hypochlorite de sodium

Pour combler l'absence d'action de l'hypochlorite de sodium sur les composants minéraux comme la dentine infectée et les boues dentinaires, les protocoles d'irrigations actuels recommandent son association avec l'EDTA (*Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid*) (HAS, 2008).

Actuellement, l'EDTA est habituellement utilisé sous forme liquide à une concentration de 17 %. Il est dépourvu d'action antiseptique mais c'est un agent chélatant des ions calciques : il aide donc à éliminer les formations minérales intracanalaires (Zehnder et coll., 2005) et il prévient et dissoud les boues dentinaires issues du travail des instruments endodontiques. L'élimination des boues dentinaires favorise ainsi la pénétration du ciment de scellement. De plus, l'EDTA est biocompatible et permettrait le détachement des biofilms (Zehnder, 2006).

Dans sa formulation en gel, l'EDTA est couplé au peroxyde de carbamide pour certains conditionnements : c'est le cas du Glyde File Prep® (Dentsply-Maillefer®). Cette association a pour avantage de créer une réaction effervescente lorsque de l'hypochlorite de sodium est ajouté et potentialiserait l'effet de chasse (Hottel et coll., 1999). De plus, cette forme aide le passage des instruments par une action lubrifiante ; efficace pour les instruments manuels, mais sujet à controverse pour les instruments

rotatifs au sujet d'une efficacité de coupe altérée à l'usage. En revanche la forme liquide diminue de manière significative le stress mécanique et en particulier, le couple de torsion (Boessler et coll., 2007).

La combinaison NaClO/EDTA présente néanmoins des réactions auxquelles l'opérateur doit prendre garde : l'EDTA réagit fortement au contact de l'hypochlorite de sodium en engendrant une diminution de la quantité de chlore actif (ions OCl^-) disponible en solution. Or, nous l'avons vu, c'est la quantité d'ions OCl^- qui conditionne l'effet antibactérien et solvant de l'hypochlorite de sodium (Grawehr et coll., 2003).

A l'inverse, l'hypochlorite de sodium n'altère pas les propriétés chélatrices de l'EDTA. (Zehnder et coll., 2005). Il conviendra donc d'éliminer totalement par rinçage l'EDTA résiduel, avant de reprendre une irrigation au NaClO.

Le protocole d'irrigation suivant peut être recommandé, afin de gérer de manière complémentaire la désinfection canalaire et l'élimination des boues dentinaires (Machtou et coll., 2012).

- l'exploration initiale peut être effectuée avec un lubrifiant du type Glyde[®] (Dentsply Maillefer[®]), en particulier dans les canaux étroits et sur les dents vivantes. Sur les dents nécrosées, il est préférable d'utiliser l'hypochlorite de sodium d'emblée ;
- la mise en forme corono-apicale est réalisée dans un bain permanent et renouvelé d'hypochlorite de sodium à une concentration de 2,5 à 6 % ;
- le rinçage final est effectué avec de l'EDTA à 17 % activé pendant 1 minute, suivi d'un rinçage à l'hypochlorite de sodium activé pendant 30 secondes (Caron et coll., 2010).

L'activation de ces solutions est conseillée suivant l'un de ces procédés : par activation sonore type Endoactivator[®], ou par agitation mécanique du maître cône (Caron et coll., 2009 et 2010) ou par le biais d'une "irrigation passive ultrasonore par intermittence", qui consiste en la vibration d'une lime dans la solution, sans instrumentation simultanée. L'intermittence implique d'effectuer plusieurs remplissages du canal avec

la solution d'irrigation et de mettre en oeuvre plusieurs cycles d'activation avec la lime ultrasonore (Van der Sluis et coll., 2007).

c. Le Digluconate de chlorhexidine

Le digluconate de chlorhexidine est un biguanide cationique chloré synthétique, qui réagit avec les groupements chargés négativement de la paroi bactérienne et qui est immédiatement adsorbé à la surface des bactéries. L'effet sur la cellule bactérienne dépend de la quantité de produit adsorbé et du type de micro-organisme atteint.

Des études qui ont combiné des indicateurs de fluorescence à des ligands de la membrane de bactéries ont révélé l'atteinte de l'intégrité membranaire orchestrée par le digluconate de chlorhexidine et aussi un effet de contraction sur le biofilm (Hope et Wilson, 2005).

En endodontie, la chlorhexidine existe sous forme liquide pour solution d'irrigation et sous forme de gel pour médication intracanal (Wang et coll, 2007), à une concentration de 2 %.

L'adjonction d'un agent tensio-actif à une solution de chlorhexidine à 2 % semble apporter une meilleure efficacité pour éliminer les bactéries planctoniques et partiellement celles du biofilm (Williamson et coll., 2009 ; Shen et coll., 2010). Il est à noter qu'à cette concentration, la chlorhexidine n'est pas moins caustique que l'hypochlorite de sodium (Spangberg et coll., 1973). Le principal avantage de la chlorhexidine réside dans ses propriétés bactéricides rémanentes, en se fixant sur les tissus durs, ce qui prolonge son action. Mais comme la plupart des antiseptiques utilisés en endodontie, le pH du milieu, la présence des constituants de la dentine (hydroxyapatite et collagène) ainsi que les débris organiques ou les liquides inflammatoires, réduisent considérablement son efficacité (Haapasalo et coll., 2000).

D'un point de vue bactériologique, la chlorhexidine est un antiseptique à large spectre et un agent antifongique efficace spécialement sur *Candida albicans* (Siqueira et Sen, 2004). Par ailleurs, son action antibactérienne est loin d'être meilleure que celle de l'hypochlorite de sodium (Ringel et coll., 1982 ; Jeansonne et White, 1994). Au

contraire elle a principalement été mise en évidence *in vitro* et *ex vivo*, sur des germes anaérobies à Gram +, que l'on rencontre surtout dans les cas d'échecs endodontiques. Concernant son efficacité sur *Enterococcus faecalis*, une étude montre que à 2%, pendant 15 secondes en contact direct avec la bactérie, on observe une élimination quasi complète d' *Enterococcus faecalis* au sein des tubulis dentinaires. L'étude précise que seules les bactéries logées à une profondeur de 100 µm dans les tubulis dentinaires étaient éliminées ; l'action de la chlorhexidine sur *Enterococcus faecalis* est donc considérée comme superficielle (Vahdaty et coll., 1993).

Dans une autre étude, en médication intracanalair, le gel à 2% permettrait l'éradication totale de la bactérie en 15 jours (Gomes et coll., 2003).

En revanche, le digluconate de chlorexidine est dépourvu de toute action solvante sur les débris organiques nécrosés (Naenni et coll., 2004), elle ne peut donc pas remplacer l'hypochlorite de sodium comme solution d'irrigation peropératoire. Cet argument est encore renforcé par sa quasi inefficacité sur les bactéries anaérobies à Gram-, présentes comme nous l'avons vu, essentiellement dans les infections primaires ; ce qui conforte l'idée que son usage en tant qu'irrigant principal en endodontie est inenvisageable.

En dernier lieu reste son utilisation potentielle en rinçage final à la fin de la mise en forme canalaire, pour bénéficier de son action bactéricide rémanente. Mais un problème majeur survient si l'hypochlorite de sodium a été utilisé en solution d'irrigation peropératoire auparavant. En effet, la chlorhexidine interagit avec l'hypochlorite de sodium résiduel en formant un précipité brunâtre, qui contient de la parachloroaniline (PCA) et son produit de dégradation, le 1-chloro-4-nitrobenzène, qui sont carcinogènes et mutagènes (Basrani et coll., 2007 ; Bui et coll., 2008).

Cliniquement, outre le changement de couleur qui peut induire une coloration dentaire, la formation d'un précipité, quant à lui, peut interférer avec la qualité de scellement de l'obturation en obstruant les tubulis dentinaires (Vivacqua-Gomes et coll., 2002).

Compte tenu des inconvénients tels que l'absence d'effets sur les tissus nécrosés, l'interdiction de l'associer à l'hypochlorite de sodium et le peu d'action sur les bactéries Gram - , hormis son avantage antimicrobien basse toxicité, la chlorhexidine ne pourra

être préconisée ni comme solution d'irrigation, ni comme solution contre notre cible bactérienne.

d. L'hydroxyde de calcium

Si aucun produit n'est mis dans les canaux en inter-séance, les bactéries se multiplient pour rapidement atteindre leur niveau initial (Byström et Sundqvist, 1983). Il est donc intéressant d'envisager la mise en place d'une médication intracanaulaire, non seulement pour maintenir l'assainissement réalisé par la mise en forme canalaire, mais aussi pour compléter la désinfection (Byström et Sundqvist, 1985).

L'hydroxyde de calcium Ca(OH)_2 s'impose comme le pansement canalaire de choix le plus largement utilisé en endodontie (Law et Messer, 2004). C'est une substance alcaline puissante dont le pH est de 12,4 et qui présente des propriétés biologiques intéressantes : une capacité de stimulation et d'induction des tissus durs, ainsi qu'une action antibactérienne importante liée à son pH élevé. En effet, la grande majorité des bactéries ne peuvent survivre dans un tel environnement alcalin (Heithersay, 1975).

L'hydroxyde de calcium Ca(OH)_2 présenterait une efficacité sur *Enterococcus faecalis* à condition que la bactérie se présente sous forme isolée. En revanche, lorsqu'elle est organisée sous forme de biofilm, *Enterococcus faecalis* devient résistante à l'hydroxyde de calcium (Chai et coll., 2007 ; Zerella 2005).

Sa résistance viendrait de l'usage de pompes protoniques membranaires qui lui permettraient de stabiliser son pH intra-cellulaire en le maintenant à une constante viable. C'est ainsi que *Enterococcus faecalis* survit même dans un milieu possédant un pH supérieur à 11,5 (MC Hugh et coll., 2004 ; Evans et coll., 2002).

L'action antibactérienne de l'hydroxyde de calcium est liée à la libération des ions hydroxydes (OH^-) qui endommagent la membrane cytoplasmique des micro-organismes, inhibent la réplication de leur ADN et provoquent la dénaturation des protéines (Siqueira et Lopes, 1999).

Une meilleure diffusion intra-canalair est obtenue en mélangeant l'hydroxyde de calcium avec un véhicule aqueux ; de plus le renouvellement de cette médication est fortement recommandée pour maximiser son efficacité. Par ailleurs, son action est possible uniquement par contact direct avec les bactéries, ou dans leur proche voisinage, car son potentiel de diffusion n'est possible que dans un périmètre de 2mm.

3. Moyens de lutte contre *Enterococcus faecalis*

L'action de différentes solutions a été étudiée sur différents modèles de biofilms. A ce jour, les études concernant la flore des échecs endodontiques se basent sur des modèles de biofilms mono-espèce (souvent *Enterococcus faecalis*) ou à deux espèces dans le meilleur des cas (Bryce et coll., 2009).

En effet, comme vu précédemment, *Enterococcus faecalis* a une forte prévalence dans les échecs et se présente donc comme la cible de nombreuses recherches.

Bien que l'efficacité de l'hypochlorite de sodium sur *Enterococcus faecalis* reste sujet à controverse (Sundqvist et Byström 1985), les données actuelles considèrent que les médications et irrigants canalaire communément utilisés (CaOH₂ ; NaClO ; EDTA) ne sont pas efficaces contre cette bactérie ultra-résistante.

Une solution afin d'optimiser les chances de succès des traitements et retraitements, serait donc de trouver un moyen complémentaire à nos protocoles actuels pour l'éradiquer.

a. La préparation canalaire

Bien que 35 % des parois ne sont pas instrumentées (Peters et coll., 2001) une bonne préparation canalaire est indispensable dans l'élimination du biofilm.

La préparation mécanique des canaux va permettre aux produits chimiques utilisés pour la désinfection canalaire d'accéder au biofilm, de circuler et d'être renouvelés, notamment dans les zones non concernées par nos instruments : les isthmes, les deltas apicaux, les canaux latéraux et accessoires.

b. Le laser

Les lasers entrent déjà en œuvre en endodontie dans l'activation des solutions, l'élimination de la *smear layer* et la désinfection de la cavité d'accès endodontique.

D'après des études comparatives menées sur les deux lasers les plus utilisés dans le domaine, Nd YAG et Er,Cr : YSGG, ils présenteraient une efficacité bactéricide intracanalair sur *Enterococcus faecalis* ; avec un taux d'abattement de 98% d'*Enterococcus faecalis* pour le premier à 1,5W et 96% pour le second à 1,5W également (Qian-Qian t coll., 2007).

Une autre expérience a montré une réduction de 99,7 % à une profondeur de 200µm dans la dentine canalair, après irrigation classique à l'hypochlorite de sodium et une irradiation intracanalair avec le laser Er,Cr : YSGG (Kolnick, 2011). Comparativement, l'hypochlorite de sodium ne pénètre que de 100µm dans les tubulis (Berutti et coll., 1997). L'atout du traitement au laser est de maximiser l'efficacité bactéricide par l'élimination combinée de la *smear layer*, facilitant ainsi la pénétration tubulaire.

Cependant, les limites des lasers résident dans la complexité de l'anatomie de l'endodonte et de son accès toujours aussi difficile. D'autres investigations, notamment cliniques, restent nécessaires avant de pouvoir inclure le laser dans un protocole clinique de lutte anti-infectieuse qui soit clairement établi par une validation scientifique.

c. L'eau ozonée

L'ozone est un gaz réactif avec d'intéressantes propriétés antimicrobiennes. On le retrouve naturellement dans l'atmosphère mais on peut aussi l'obtenir de manière synthétique par des générateurs.

L'eau ozonée possède des propriétés bactéricides intéressantes, en oxydant les parois cellulaires bactériennes : la rupture de l'équilibre osmotique suite aux lésions engendrées provoque la lyse cellulaire (El Karim et coll., 2007).

La concentration d'ozone, le temps d'exposition et la perméabilité membranaire cellulaire modifient l'efficacité de l'eau ozonée (Cardoso et coll., 2008). Dans une étude portant sur *Enterococcus faecalis*, suite à une irrigation canalaire de 3min avec une solution d'eau ozonée à 16mg/L, activée simultanément avec des ultrasons, on observe un abattement de près de 100% des bactéries de la souche ; en revanche, une solution à 12mg/L d'eau ozonée, utilisée dans les mêmes conditions, n'entraîne qu'un abattement de 87,2% d'*Enterococcus faecalis* (Hubbezoglu et coll., 2014).

L'eau ozonée ne possède quasiment pas d'action rémanente, ce qui peut expliquer sa faible pénétration dans les régions tubulaires profondes de la dentine. De manière générale, elle ne neutralise pas non plus les endotoxines bactériennes : les résorptions osseuses, dentinaires et cémentaires engendrées ne sont donc pas annihilées (Cardoso et coll., 2008).

d. Efficacité de divers agents canaux sur *Enterococcus faecalis*

i. L'hypochlorite de sodium : action sur *Enterococcus faecalis*

Selon des études anciennes, l'usage de l'hypochlorite de sodium à des concentrations de 0,5% à 5,25% ne présenterait pas une grande efficacité sur *Enterococcus faecalis*, du fait d'une supposée résistance à l'hypochlorite de sodium seul (Sundqvist et Byström, 1985).

De nos jours, une étude démontre une action efficace mais non totale sur certaines espèces résistantes, après un temps d'exposition de 1 minute avec une solution à 1% ; les biofilms testés contenaient les espèces *Streptococcus sanguis*, *Fusobacterium nucleatum* et *Porphyromonas gingivalis* (Chavez de Paz et coll., 2010).

Dans une autre étude, l'hypochlorite de sodium à 5,25 % s'est avéré plus efficace que le MTAD® (Bio-pure MTAD Dentsply®, Tulsa, USA) et le Tetraclean® seuls (Ogna Laboratori Farmaceutici, Milan, Italie). Ces derniers, à la différence du NaOCl, ne parviennent pas à désagréger et éliminer le biofilm mono-espèce d'*Enterococcus faecalis*, quels que soient les temps d'exposition testés (5,30 et 60 minutes) (Giardino et coll., 2007).

ii. Le MTAD : action sur *Enterococcus faecalis*

C'est un produit mis sur le marché en provenance des Etats-Unis, destiné à agir simultanément sur les composantes minérales des boues dentinaires et sur un grand nombre de bactéries. L'objectif espéré est de mettre au point un « super-irrigant », qui pallierait aux défauts blâmés de l'hypochlorite de sodium (toxicité, mauvaise odeur, nocivité sur les textiles).

Le MTAD (*Mixture Of Tetracycline, Citric Acid And Detergent*) est composé d'un antibiotique (tétracycline : doxycycline), d'acide citrique à 10% (dissout les boues dentinaires) et d'un détergent : le Tween 80 (abaisseur de tension superficielle, meilleure diffusion du produit). En raison de la présence de tétracycline, le BioPure™ n'a pas reçu l'autorisation de mise sur le marché en Europe. Le Tetraclean™ est un produit similaire mais la doxycycline y est réduite d'un tiers.

L'efficacité antibactérienne du MTAD est attribuée à son activité anticollagénase, à son pH bas et à sa rémanence : la tétracycline persiste dans la dentine radiculaire si le MTAD est utilisé en rinçage final (Shabahang et Torabinejad 2003).

Selon les études, nous allons découvrir que les opinions et les résultats s'affrontent de manière contradictoire :

-Le MTAD présenterait plus d'efficacité que l'hypochlorite de sodium à 2,5%, lorsqu'il est utilisé seul, dans les mêmes conditions qu'une irrigation classique au NaClO (Ramta et coll., 2013).

- Torabinejad et coll., en 2003, soutiennent que l'efficacité du MTAD seul serait supérieure à celle de l'hypochlorite de sodium contre *Enterococcus faecalis*. Dans l'étude, le MTAD était efficace diluée à 200 fois, alors que l'hypochlorite de sodium cessait d'exercer son effet antibactérien à partir d'une dilution de 32 fois.

Toutefois, les effets du MTAD sur *Enterococcus faecalis* seraient renforcés quand il est associé à de l'hypochlorite de sodium à 1,3%, utilisé comme irrigant pendant l'instrumentation (Torabinejad et coll., 2003).

En totale contradiction avec ces résultats, d'autres études moins flatteuses affichent une activité antimicrobienne bien moins optimale du MTAD :

-l'étude de Kho et Baumgartner (2006) n'a démontré aucune différence dans l'efficacité antimicrobienne pour une irrigation avec 5,25% NaOCl/15% d' EDTA, par rapport à une irrigation avec 1,3% NaOCl/MTAD sur des racines infectées par *Enterococcus faecalis*.

-Dunavant et coll., (2006) ont constaté que des concentrations de NaClO à 6% et 1% étaient significativement plus efficaces dans l'élimination de biofilm d'*Enterococcus faecalis* que le MTAD.

- Baumgartner et coll., (2007) n'ont trouvé aucune croissance d'*Enterococcus faecalis* dans des canaux radiculaires irrigués avec 5,25% NaClO/15% EDTA, tandis que 50% des canaux irrigués avec 1,3% NaClO/MTAD démontraient une croissance persistante de ces bactéries.

Objectivement, nous n'avons que trop peu de recul sur ce produit et de nouvelles études sont encore à mener, dans des conditions plus affinées, afin de prouver l'efficacité clinique du MTAD. De plus, l'ensemble des études menées l'ont été *in vitro* avec des conditions de contacts, de température et de milieu, différents de ce qu'on peut trouver dans la cavité buccale.

Ce que nous pouvons donc retenir est que pour le moment, l'association hypochlorite de sodium/EDTA demeure la plus efficace en pratique courante, mais non ciblée contre *Enterococcus faecalis*.

iii. Le peroxyde d'hydrogène : action sur *Enterococcus faecalis*

De formule chimique H_2O_2 , c'est un produit liquide clair, incolore en solution, connu pour ses propriétés oxydantes et blanchissantes.

L'exposition au peroxyde d'hydrogène en odontologie peut avoir lieu par inhalation, par ingestion, ou par contact avec la peau, la muqueuse buccale ou les yeux. L'importance des dommages sur les muqueuses est liée à la concentration du peroxyde d'hydrogène et les effets sont dus à son caractère caustique sur les tissus organiques.

On différencie 3 types de solutions :

-les solutions pharmaceutiques à 110 volumes (35%) et plus : un simple contact suffit pour provoquer des brûlures et des blanchiments des téguments ;

-les solutions à 20 volumes et plus (6%) : des effets irritants, des brûlures modérées à sévères apparaissent. L'effet caustique sur les muqueuses croît selon le temps de contact et la concentration (Principes de l'Institut National de Recherche et de Sécurité, 2002). Si le produit entre en contact dans les yeux, il peut engendrer des dommages permanents (être attentif aux risques de projections oculaires chez le patient) (Reynolds, 1996),

-en usage thérapeutique, les solutions commerciales à 10 volumes (3%) : sur les muqueuses, elles peuvent causer une irritation et des brûlures légères. La manipulation de ces préparations n'est pas considérée comme dangereuse pour le patient. En cas d'ingestion, faire boire immédiatement au patient deux verres d'eau et prescrire un pansement gastrique. L'inhalation de vapeur de peroxyde d'hydrogène concentré à 3% provoque une inflammation de la muqueuse nasale, de la gorge et des voies respiratoires (European Union Risk Assessment Report, 2003).

Dans la pratique endodontique, le peroxyde d'hydrogène à 3% n'est pas utilisé seul en solution intracanalair, car son spectre antibactérien est limité uniquement aux bactéries anaérobies strictes et facultatives. Cela fait donc du peroxyde d'hydrogène un produit à efficacité limitée en pratique courante (Karunakaran et coll., 2011).

Grâce à son grand pouvoir oxydant, le peroxyde d'hydrogène est un produit très réactif vis-à-vis de nombreux micro-organismes grâce à la production de radicaux libres. Etant efficace sur les espèces anaérobies facultatives, (étant donné qu'elles sont exemptes de peroxydase) ce produit est de surcroît efficace sur *Enterococcus faecalis*.

Il serait donc intéressant de trouver un procédé qui permettrait de conserver le potentiel bactéricide recherché du peroxyde d'hydrogène, tout utilisant des concentrations inférieures à 3% pour éviter les effets caustiques sur les tissus (Lenntech, 2012) et ainsi allier efficacité antimicrobienne et sécurité du patient.

Le mécanisme d'action du peroxyde d'hydrogène sur *Enterococcus faecalis*, consiste en l'oxydation des groupes sulfhydriles et des doubles liaisons des enzymes de la bactérie, en provoquant une modification de la conformation des protéines de ces enzymes, engendrant une perte de leur fonction et donc la mort cellulaire. Ces enzymes ont pour rôle majeur de participer aux réactions permettant la synthèse des constituants de la paroi cellulaire bactérienne.

L'efficacité du peroxyde d'hydrogène réside donc dans l'affaiblissement des structures de protection de la bactérie : en modifiant la conformation des parois, le peroxyde d'hydrogène désorganise le micro-organisme et provoque des réactions intracellulaires. Ces réactions intracellulaires ont une double origine :

- le peroxyde, qui continue son effet oxydant sur l'ADN bactérien par effets délétères des radicaux libres produits ; l'ADN dénaturé va accumuler les aberrations génétiques et entrainer la synthèse de protéines non fonctionnelles ou dysfonctionnelles ; le métabolisme cellulaire sera donc altéré.

- l' acquisition de perméabilité : action mécanique de l'irrigant qui rentre dans la cellule et va provoquer sa lyse (Vilamajó Giol, 2008).

e. Activité antibactérienne du cuivre et ses alliages sur *Enterococcus faecalis*

Le cuivre testé sous forme de support métallique a révélé des propriétés antimicrobiennes sur les levures et les virus mais aussi une bactéricidie attestée sur les entérocoques. Sa bactéricidie s'exprimerait en modifiant la structure cellulaire par action indirecte sur l'ADN génomique bactérien (Thian et coll., 2012). D'autres études cliniques ont révélé que les surfaces de cuivre métallique ainsi que ses alliages, ayant une teneur en cuivre d'au moins 70 %, éliminent en quelques heures plusieurs organismes pathogènes incluant des souches bactériennes d'entérocoques (dont *Enterococcus faecalis*), mais aussi le VIH et des levures comme le *Candida albicans* (Prado et coll., 2012).

Les mécanismes d'action du cuivre sur les pathogènes ne sont pas encore totalement élucidés, notamment sur leurs ordres de survenue ; mais ils sont basés sur une mort cellulaire qui advient suite au contact avec le cuivre : le « *contact-killing* ».

Un des mécanismes exploite les propriétés oxydo-réductrices du cuivre par le biais de réactions mêlant les formes ioniques du cuivre Cu^{2+} et Cu^+ . Les radicaux libres produits, délétères pour l'ADN bactérien, engendrent des lésions qui se traduisent majoritairement par des phénomènes de fragmentation de l'ADN, suivis de la mort cellulaire (Warnes et coll., 2010).

Ces arguments contrastent avec l'étude de Espirito Santo et coll., qui suggèrent que les dégâts initiaux sur les cellules qui subissent le *contact killing*, soient des dégâts touchant en premier lieu la membrane cellulaire et non l'ADN bactérien.

Il serait alors probable que les dégâts causés sur l'ADN ne se produisent que secondairement, après la mort cellulaire (Espirito Santo et coll., 2011). Suivant cette réflexion, la diffusion du cuivre dans les cellules ferait suite à la rupture de la membrane bactérienne, puis des phénomènes de stress oxydatifs entraîneraient la mort cellulaire avant la dégradation de l'ADN bactérien.

Un autre élément vient encourager cette théorie : on observe que la quantité d'ions cuivre dans les cellules reste élevé durant tout l'épisode de bactéricidie, suggérant que les cellules sont débordées par le gradient de cuivre intracellulaire, ce qui leur serait fatal (Espirito Santo et coll., 2011).

Quel que soit la chronologie des mécanismes, les études s'accordent sur le fait que les lésions membranaires qui précèdent ou sont concomitantes à la fragmentation de l'ADN, se produisent suite à l'oxydation par le cuivre des protéines et lipides de la membrane cellulaire (Yoshida et coll., 2005). De plus, l'ensemble des mécanismes participant au *contact killing* suivent une cinétique de réaction très rapide (Grass et coll., 2011).

La figure 4 propose une synthèse schématique des mécanismes de la mort bactérienne suite au contact avec le cuivre.

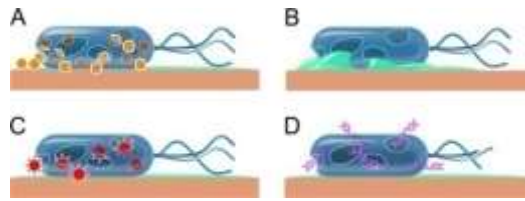


Figure 3 : Mécanismes d'action de la toxicité du cuivre sur les cellules bactériennes par *contact killing* (Grass et coll.,2011).

A : atteinte cellulaire par contact direct avec une surface métallique de cuivre

B: rupture de la membrane par perte du potentiel membranaire puis du contenu cytoplasmique

C : génération de radicaux libres par les ions cuivres et dommages génomiques indirects

D : dégradation de plasmide et du génome bactérien

Toutefois, il existe des bactéries qui possèdent divers mécanismes intrinsèques pour se protéger des effets toxiques des ions du cuivre : la séquestration extracellulaire du cuivre, une imperméabilité membranaire, des protéines cytoplasmiques capables de capter les ions ou l'extrusion active du cuivre cytoplasmique par des protéines membranaires (Kim et coll., 2010 ; Magnani et Solioz 2007 ; Grass et coll., 2011).

L'extrusion active du cuivre semble être le mécanisme en chef du développement d'une tolérance au cuivre. Chez *Escherichia coli*, le transport du cuivre intracellulaire par la *CopA* ATPase résidant dans la membrane cytoplasmique, pompe l'excès de Cu^+ du cytoplasme (Rensing et Grass 2003). Cependant, ces mécanismes n'offrent pas de réel protection contre le *contact killing*, mais permettent juste de prolonger la vie des bactéries possédant une telle défense : *Enterococcus hirae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*... (Espirito Santo et coll., 2008 ; Elquindi et coll., 2009).

Ce qui semble encourageant pour l'avenir sanitaire et pour notre recherche est donc l'apparition peu probable de bactéries résistantes pour de multiples raisons : le plasmide support de l'ADN bactérien est dégradé de suite après la mort cellulaire, ce qui prévient la transmission de facteurs de résistances inter-bactéries ; le « *contact-*

killling » est une réaction très rapide et enfin les cellules bactériennes ne se divisent pas sur les surfaces de cuivre (Grass coll., 2011).

III. UTILISATION DES ALLIAGES À MÉMOIRE DE FORME (AMF) EN ENDODONTIE

A. Les principes fondamentaux des AMF en endodontie

1. Apparition des AMF en endodontie

Les alliages à mémoire de forme (AMF) possèdent des propriétés pseudo-élastiques : la mémoire de forme et la superélasticité.

Après avoir été déformés à froid, la capacité de retrouver leur forme initiale au delà d'une certaine température est l'effet mémoire de forme. Au dessus de cette température, ils sont aussi capables de présenter une importante déformation réversible, lorsqu'ils sont soumis à une contrainte mécanique : c'est la superélasticité.

Ces deux propriétés pseudo-élastiques reposent sur l'existence d'une transformation de phase à l'état solide, appelée transformation martensitique thermomécanique (Patoor et Berveiller, 1990).

Grâce à ces propriétés, ils sont employés dans de nombreux domaines très variés : dans l'industrie automobile, les dispositifs antifeux, l'industrie aéronautique, des dispositifs médicaux et bien entendu en odontologie (Duerig et coll., 1999).

En ce qui concerne l'odontologie, c'est le nickel-titane qui représentera la famille d'AMF la plus utilisée. Il existe deux principales disciplines d'application : l'orthodontie et l'endodontie. Alors que l'orthodontie est capable d'exploiter les deux propriétés, celle intéressant l'endodontie est exclusivement la superélasticité (Thompson, 2000).

Walia et coll., en 1988, sont les fondateurs d'une pratique novatrice en introduisant les instruments en nickel-titane ou "NiTi", dans le domaine de l'endodontie. Les NiTi ont permis l'émergence d'une pratique clinique plus reproductible, avec une réduction du risque de déportation de la trajectoire, de la création de butées et de perforations, comparé aux instruments manuels en acier inoxydable (Abou-Rass et coll., 1980 ;

Marshall et Papin., 1980). Ces qualités leurs sont permises par la superélasticité et une résistance accrue à la fracture en torsion (Thompson et coll., 1997 ; Thompson et coll., 2000).

2. La mémoire de forme et la superélasticité

La mémoire de forme est décrit par Muller en 1988 comme étant : « le recouvrement de forme d'un objet au chauffage, après déformation en phase martensitique». On distingue deux effets mémoire de forme : l'effet mémoire simple sens et l'effet mémoire double sens (Kaouache, 2006).

Lors de l'application d'une contrainte à température constante, un AMF dans l'état complètement martensitique peut subir une déformation plastique jusqu'à 6 %. Pour retrouver intégralement sa forme initiale stable, (austénitique) il suffit de le réchauffer. Ceci constitue l'effet de mémoire simple sens.

L'effet de mémoire double sens correspond à l'aptitude pour le matériau de posséder deux formes stables : une forme haute température (dans l'état austénitique) et une forme basse température (dans l'état martensitique). Le passage de l'état haute température à l'état basse température et inversement, entraîne un changement de forme qui est réversible (Centre d'Animation Régionale en Matériaux Avancés, 2001).

En endodontie, l'effet mémoire de forme ne présente pas d'intérêt particulier puisque nous travaillons à température constante : la déformation d'un AMF endodontique ne répond pas à une variation de température, mais à une contrainte appliquée.

Pour cette raison, c'est la superélasticité qui est la propriété d'intérêt en ce domaine : elle va apporter une résistance accrue à la fracture, lorsque le matériau va être soumis au cyclage mécanique lors du travail dans les canaux par traction/compression successives (Thompson et coll., 1997).

La superélasticité caractérise un matériau qui présente une capacité de déformation élastique majorée, permise par l'apparition de martensite à partir de l'austénite initiale, au sein du réseau cristallin du matériau. Dans le domaine de température où l'austénite est « stable », la transformation martensitique peut être provoquée sous une contrainte (figure 4) (Van Humbeeck et coll., 1990). Le matériau

peut tolérer des contraintes plus importantes qu'un matériau élastique simple, avant d'aboutir à la déformation plastique puis à la rupture.

La réversion d'une phase à l'autre se produit lorsque la contrainte cesse et tant qu'on ne dépasse pas la tolérance de déformation élastique du matériau. Lorsque la réversion n'est plus totale, on entre progressivement dans le domaine de déformation plastique.

La courbe contrainte/déformation suivante présente le comportement superélastique d'un AMF subissant une contrainte croissante :

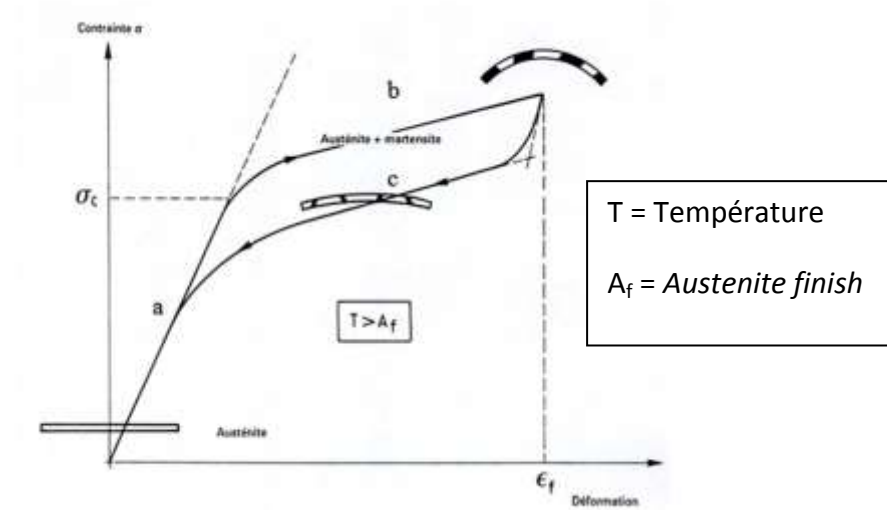


Figure 4 : Courbe contrainte/déformation caractérisant le comportement superélastique (AFNOR, 1991)

- Pour que la superélasticité s'exprime, cela sous entend que nous sommes à une température sous laquelle l'austénite est stable : $T > A_f$. Dans ce domaine de température uniquement ($T > A_f$), la transformation martensitique peut être provoquée sous une contrainte et non thermiquement comme dans l'effet mémoire.
- Au point a : la contrainte s'exerce et la déformation a lieu dans le domaine de déformation élastique de l'austénite, la loi de Hooke s'exprime : la contrainte est directement proportionnelle à la déformation. Lorsque la contrainte cesse on revient au point d'origine.
- Au point b : à partir d'une certaine contrainte critique, notée σ_c , il y a induction de formation de martensite. Contrairement à la martensite engendrée

thermiquement, (lors de l'application de la mémoire de forme) où toutes les variantes sont possibles, les variantes de la martensite formées mécaniquement (superélasticité), sont uniquement celles qui sont favorisées par la contrainte.

- La courbe de (c) vers (a) représente la réversion totale de la martensite en austénite : la contrainte n'est plus appliquée, le matériau reprend alors sa forme initiale (au point d'origine de la courbe). Le relâchement de la contrainte conduit à transformation inverse, car la phase martensitique n'est pas la plus stable sans contrainte.
- La déformation ϵ_f correspond à la limite de déformation élastique (donc réversible) du matériau. Au delà, pour une contrainte appliquée plus importante, on entre dans la phase de déformation plastique.
- L'hystérésis est la différence entre la courbe de transformation initiale et la courbe de transformation inverse.

3. Une caractéristique commune : la transformation martensitique

a. Aspect thermodynamique de la transformation

La transformation martensitique est la transformation de référence qui confère aux alliages à mémoire de forme leurs propriétés pseudolélastiques.

Cette transformation a lieu par germination et croissance, dans un intervalle de température où coexistent les phases austénitiques et martensitiques.

La transformation martensitique peut être induite soit **thermiquement** (effet mémoire de forme) en abaissant la température en dessous de M_s (*martensite start*), soit **mécaniquement par l'application d'une contrainte** qui peut provoquer la transformation martensitique à une température supérieure à M_s (superélasticité)(figure 5).

D'un point de vue cristallographique, à température ambiante, la phase austénitique de l'alliage CuAlBe est de type cubique à faces centrées avec une structure ordonnée. C'est

une structure DO₃. Elle est constituée de 8 mailles élémentaires cubiques centrées (figure 6)(Moreau, 1998).

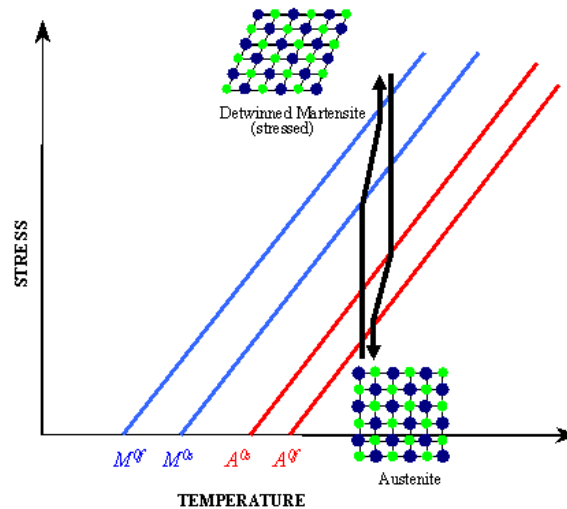


Figure 5 : Transformation martensitique lors du comportement superélastique d'un alliage soumis à une contrainte croissante (Lagoudas, 1992).

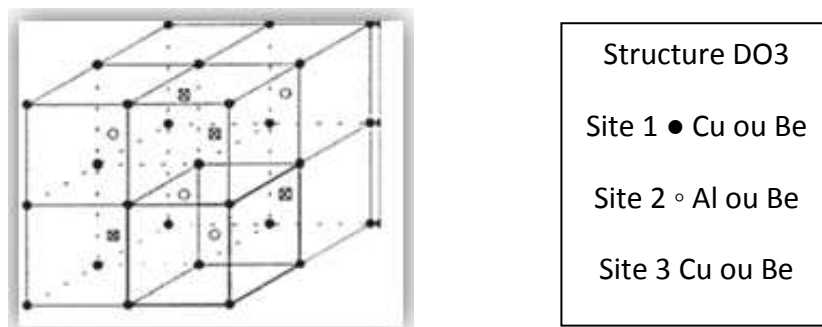


Figure 6 : Phase austénitique du Cu-Al-Be (Moreau, 1998)

Seul dans le domaine de température où l'austénite est stable soit $T > A_f$, la transformation martensitique peut être provoquée sous contrainte (Gotthard et coll., 2001 ; Van Humbeeck et coll., 1990).

En revanche, si la température est trop élevée, il y a compétition entre la transformation martensitique et la déformation plastique de l'austénite. Dans ce cas, la transformation martensitique ne se produit pas et le matériau suit donc un comportement mécanique classique : il n'est pas capable d'exprimer sa superélasticité. La température maximale pour laquelle il peut se produire une transformation sous contrainte, d'austénite en martensite, est notée M_d (*martensite déformation*) et va dépendre de l'alliage (figure 7) (Jordan et Rocher, 2010).

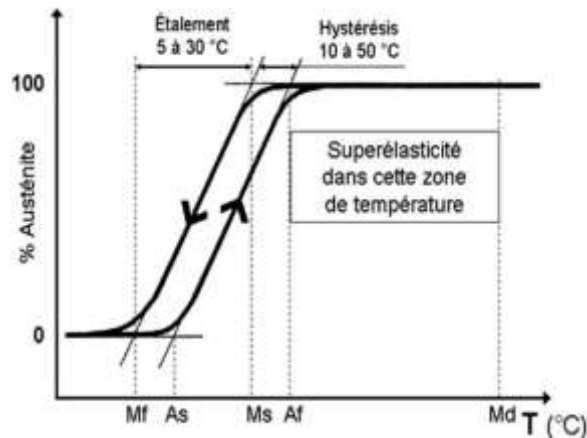


Figure 7 : Paramètres significatifs de la transformation martensitique ; exemple du Nickel-Titane (Jordan et Rocher, 2010)

On définit selon la norme NF A 51-080 relative aux AMF :

- La température M_s (*martensite start*) désigne la température de formation de la première plaquette de martensite au sein de la phase austénite au cours du refroidissement d'un AMF.
- Le point M_f (*martensite finish*) : désigne la température pour laquelle toute trace de phase austénitique a disparu, l'AMF étant devenu martensitique à 100 %.
- Le point A_s (*austenite start*) : désigne la température d'apparition de l'austénite au cours du réchauffage d'un matériau martensitique.
- Le point A_f (*austenite finish*) : la température pour laquelle toute trace de phase martensitique a disparu, l'AMF étant devenu austénitique à 100 % (Jordan et Rocher, 2010).

b. Aspect cinématique de la transformation

D'après Guénin : "la transformation martensitique est une « *transformation displacive du premier ordre présentant une déformation homogène du réseau cristallographique, constituée principalement par un cisaillement* » (Guénin, 1986).

La transformation displacive se caractérise par un déplacement collectif et coopératif des atomes, d'une distance inférieure à la distance interatomique (de l'ordre du dixième de la distance interatomique) lors du passage de l'austénite à la martensite. On peut parler de réseaux de réarrangements : chaque atome se déplace vers une nouvelle position grâce au déplacement des atomes voisins. La transformation

martensitique se produit en phase solide en réponse à la contrainte et se fait de manière quasi instantanée, par l'absence de phénomène de diffusion. De manière simplifiée, tous les atomes se déplacent en même temps et non comme une onde de proche en proche.

La transformation martensitique est qualifiée de **premier ordre** : pour un état d'avancement donné il y a coexistence des deux phases, austénitique et martensitique, séparées par une interface nette. Ces deux phases appartenant à deux systèmes cristallins distincts, elles n'ont pas le même volume.

Il s'ensuit **une déformation homogène** du cristal, grâce aux mouvements coopératifs des atomes. C'est cette déformation homogène qui permet une corrélation entre les deux phases, malgré le différentiel de leurs volumes. Ce mouvement s'effectue principalement selon un mécanisme de cisaillement.

La transformation martensitique est ainsi homogène à l'échelle macroscopique, car tout le volume modifié a été concerné par le mouvement, ce qui entraîne un changement de forme du matériau dans sa globalité (figure 8) (Muller, 1988).

Cependant, une transformation qualifiée d'hétérogène s'ajoute à cette dernière : à l'échelle microscopique, le réseau cristallin développe ce qu'on appelle des variantes ; les variantes sont en réalité des plaquettes de martensites en formation, correspondant à des plans d'accolement et à des cisaillements d'orientations différentes par rapport aux phases d'austénite. Bien qu'ils soient d'orientations différentes, ces cisaillements sont considérés comme équivalents (en terme d'amplitude) d'un point de vue cristallographique (figure 9).

La déformation du réseau cristallin est donc qualifiée d'hétérogène à cette échelle, dans le sens où les variantes ne prennent pas toutes la même direction pendant la transformation, bien qu'elles conservent toutes la même amplitude (figure 8).

Quand la contrainte externe cesse, les variantes reprennent leurs distributions initiales, ce qui explique la réversibilité de la transformation (Jordan et coll., 1997).

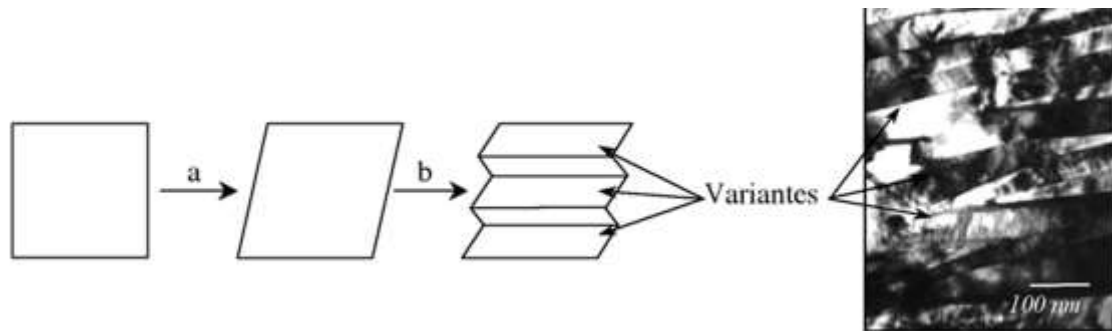


Figure 8 : Les déformations a) homogène, b) hétérogène : image de variantes de martensite en microscopie électronique à balayage (Jordan et Rocher, 2009/2010).

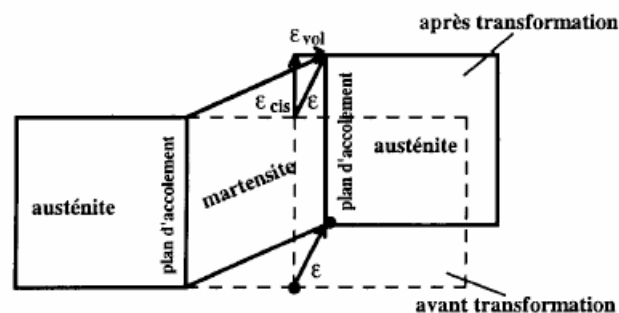


Figure 9 : représentation schématique de la formation d'une plaquette de martensite (Kaouache, 2006)

B. Le Nickel-Titane : la référence en endodontie

1. Naissance de l'instrumentation canalaire mécanisée : principes et préceptes

Dans le domaine de l'odontologie, le nickel-titane est utilisé d'une part en orthodontie pour les arcs et d'autre part en endodontie, pour les instruments de préparation canalaire mécanisée.

Les alliages orthodontiques en nickel-titane sont issus des travaux de Buehler et Wiley du Naval Ordinance Laboratory en 1962, qui découvrent un effet mémoire de forme dans un alliage intermétallique de Nickel-Titane. En 1972 ces alliages sont connus sous le nom de Nitinol, qui est l'acronyme de **N**ickel **T**itanium **N**aval **O**rdinance **L**aboratory. Ces alliages étaient composés de 50% de titane et de 50% de

nickel. En réalité, les premiers arcs orthodontiques commercialisés sous le nom de Nitinol® ne possédaient pas d'effet mémoire de forme à cause de leur travail à froid lors de leur conception.

Walia et coll., en 1988, sont les fondateurs d'une pratique novatrice en introduisant les instruments en nickel-titane, appelé aussi NiTi, en endodontie. Mais les NiTi ne seront commercialisés qu'en 1993 dans des concepts de rotation continue.

Les évolutions proposées par les « NiTi » ont été créées pour tenter contrecarrer les inconvénients des instruments manuels en acier inoxydable, de faible conicité (2%) (Buchanan et coll., 2000). La rigidité de l'acier est désavantageuse lors du travail des canaux : pour pallier à son manque de souplesse, les limes conventionnelles ont été façonnées en conicité de 2%, mais cela rend difficile l'obtention d'une préparation conique régulière (Calas et Vulcain 1999). Même en prenant soin de les pré-courber, il existe un risque majoré de non respect de l'anatomie d'origine, de déplacement du foramen, de perforations et de préparations irrégulières du fait de la mémoire élastique de l'acier (Lasfargues, 1997).

Les praticiens craignent alors d'avantage l'échec et la fracture instrumentale. En effet, la complexité anatomique est souvent et depuis très longtemps incriminée dans les échecs des traitements endodontiques (Simon, 2005 ; Peters et coll., 2001 ; Hess et Zurcher, 1929).

Si les canaux rectilignes ou peu courbés, ne posent en principe pas de problèmes en préparation manuelle, en revanche, les canaux fins présentant des courbures modérées à fortes, de section laminaire, sont bien plus difficiles à mettre en forme. La négociation des courbures est rendue plus facile et plus adaptée, grâce à la grande flexibilité de l'instrumentation NiTi. Une étude comparative des instruments en NiTi avec les instruments en acier inoxydable, dans l'aptitude à maintenir le trajet initial des canaux courbes, a été menée. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec les instruments en NiTi, qu'ils soient manuels ou mécanisés (Espesito et coll., 1994 ; Samyn et coll. 1996). Grâce à leurs propriétés superélastiques, les instruments endodontiques en Niti peuvent subir dix fois plus de contraintes que ceux en acier inoxydables et ce, sans se déformer ou s'altérer (Mac Spadden, 1993).

Afin d'obtenir des préparations régulières, parfaitement coniques et ainsi asseoir une obturation la plus totale possible, les canaux sont préparés selon la technique du *crown-down* ou préparation corono-apicale : cette technique, développée avec les instruments en NiTi, a été suggérée pour résoudre le problème de propulsion du contenu canalaire vers l'apex, qui se rencontre lorsque la partie coronaire n'est pas assez ouverte. En effet, si la partie coronaire n'est pas assez évasée, la remontée des débris est limitée du fait de la conicité de l'instrument qui approche celle du canal (Morgan et Montgomery, 1984).

Le *crown-down* prône donc l'élargissement canalaire en progressant de la zone cervicale vers l'apex et en utilisant de manière dégressive les différentes conicités. Les plus grandes conicités éliminent dans un premier temps les interférences du tiers coronaire, puis ensuite du tiers moyen de la racine, libérant ainsi le passage aux conicités inférieures vers la région apicale, qui devient alors facilement accessible.

La forme conique permet donc d'une part, d'acheminer l'irrigant jusqu'au tiers apical, et d'autre part, grâce à la suppression des contraintes coronaires, de faciliter la progression des instruments (Vulcain et Calas, 1998).

S'il est vrai que le NiTi peut subir des forces importantes tout en revenant à sa forme initiale, il ne supporte pas de changement brutal des forces imposées. Pour cette raison, leur prise en main nécessite des connaissances préalables, conformes à des règles précises, impliquant des forces légères et régulières sous vitesse constante (Nebot et Curnier, 1997). Efficaces en ampliation, leur usage en rotation continue, à faible vitesse constante, (200 à 600 tours/minutes) parfait les préparations et offre un gain de temps (Mac Spaden et Ben Johnson, 1990). De plus, cela optimise le débridement, en augmentant les contacts entre les instruments et les parois infectées. Chaque système de rotation continue possède ses spécificités et un usage sans apprentissage, serait une erreur conduisant à un échec assuré.

L'apparition des instruments en nickel-titane a donc sans aucun doute révolutionné la pratique endodontique et les fabricants ont de cesse jusqu' à aujourd'hui, d'innover et mettre sur le marché des séquences d'instruments toujours plus compétitives, car tendant à la simplicité d'usage en terme de technique, de

protocole et de rapidité d'utilisation. De plus, les propriétés superélastiques du NiTi offre plus de sécurité d'utilisation grâce au respect de l'anatomie canalaire (Calas et Vulcain, 1999).

Les instruments en NiTi sont donc encore la référence actuelle en terme de préparation canalaire mécanisée.

2. Composition du NiTi en endodontie

Pour être efficace en terme d'AMF, l'alliage doit être composé de métaux à 99,99% pur, donc un taux d'impuretés inférieur à 0,01 %. Les proportions en terme de poids en nickel et en titane varient selon les fabricants et leur véritable pourcentage ainsi que les différents compléments d'autres éléments métalliques ne sont pas communiqués (Eble, 2010).

Les températures de transformation du Nitinol sont extrêmement sensibles à une petite variation dans leur composition en Ni. Pour les alliages ayant une teneur en nickel supérieure à 55% de leurs poids total, une variation de 1% de Ti ou de Ni lors de leur fabrication, engendre un écart de $\pm 100^{\circ}\text{C}$ dans leur température de transformation (Wu, 2001). Il est à noter que les meilleures caractéristiques de mémoire de forme sont obtenues pour des alliages contenant un taux de Ni variant de 49.3% à 51% ; en revanche au delà de 51% de Ni, on exploitera d'avantage la superélasticité (Raz et Sadrnezhaad, 2004).

Les instruments en NiTi reçoivent typiquement un traitement par la chaleur à 500 °C nommé "*Heat treating*" lors de leur fabrication, pour promouvoir leurs performances superélastiques (Lee et coll., 1999). Des études plus récentes, menées sur des alliages de composition 51%Ni - 49%Ti ont montré que ces instruments présenteraient une résistance accrue à la fracture par cyclage, par rapport à ceux qui ne subissaient pas de *Heat treating* (Braga et coll., 2014).

3. Les principaux profils de lames : géométrie et influence

La section d'un instrument endodontique manuel ou rotatif correspond au profil global de la lime. Elle est composée en son centre, de l'âme résiduelle de l'instrument et à sa périphérie, du profil de lame (figure 10) :



Figure 10 : section d'une lame du système Hero Shaper®

Il existe de nombreux profils de lame proposés par les fabricants ; l'objectif est d'exploiter au maximum la superélasticité du matériaux, mais aussi répondre aux exigences de la préparation canalaire.

Les premiers instruments présentaient un méplat radiant qui permettait d'augmenter l'appui sur les parois canalaire et de centrer l'instrument. Mais cette concentration de forces sur une partie de l'instrument peut majorer le risque de fracture. C'est pourquoi certains fabricants ont décidé de l'abandonner (figure 11).

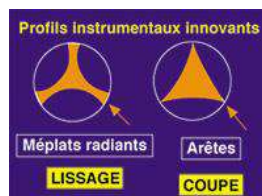


Figure 11 : profil des instruments en NiTi (Benkiran et coll., 2015)

La contribution des contraintes de torsion et de fatigue en flexion sur l'instrument dans le processus de rupture, peut dépendre de la géométrie de la section de l'instrument et de la distribution des forces sur ce même instrument (Berutti et coll., 2003 ; Peters et coll., 2003 ; Yared et coll., 2003 ; Ullmann et Peters, 2005).

Nous allons faire une présentation chronologique des instruments de différents systèmes de rotation continue en sélectionnant les plus communément utilisés et pointer leurs particularités :

- *K3*[®] (1998)

Le coeur de l'instrument étant élargit, la remontée des débris est difficile et augmente le risque de bouchons. De plus, la présence de méplats, qui ont pour fonction de centrer les instruments dans le canal, abrasent et brunissent la dentine plus qu'ils ne la coupent (figure 12)(Kum et coll., 2006).

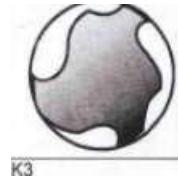


Figure 12 : K3[®]

- *Quantec 2000*[®] (2000)

Les instruments existent en 8 conicités différentes et sont à pointes travaillantes ou non travaillantes. Le profil complexe des instruments a été étudié pour augmenter l'efficacité de coupe, entraîner la remontée des débris, assurer une grande résistance à la rupture, permettre un auto-centrage de l'instrument par la présence de méplats et ainsi respecter les trajectoires canalaire (figure 13) (Mac Spadden, 1993).

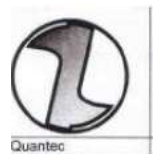


Figure 13 : Quantec 2000[®]

- *Le Hero Shaper*[®] de *MicroMega*[™] (2001)

Le Hero Shaper présente un profil de lame en triple hélice avec une âme résiduelle importante qui augmente sa résistance à la fracture mais aussi sa rigidité. Son angle de coupe est légèrement positif ce qui confère à l'instrument une capacité de coupe majorée et une élimination des débris améliorée (figure 14)

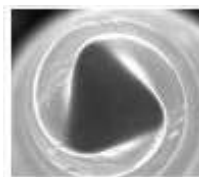


Figure 14 : Hero Shaper[®] de MicroMega[™] (Benkiran et coll., 2015)

- *RaCe*[®] de *FKG*[™] (2001)

Le système *RaCe*[®] est unique par son concept : la partie travaillante de chaque instrument est composée d'une alternance de spires aux arêtes de coupe tranchantes (Bergmans et coll., 2001) et de segments droits, augmentant la flexibilité et réduisant considérablement « l'effet de vissage », le risque de blocage instrumental et le couple de rotation (figure 15). Les instruments *RaCe*[®] présentent les caractéristiques idéales pour assurer une grande efficacité de coupe et une évacuation rapide des débris dentinaires (Sonntag, 2006).

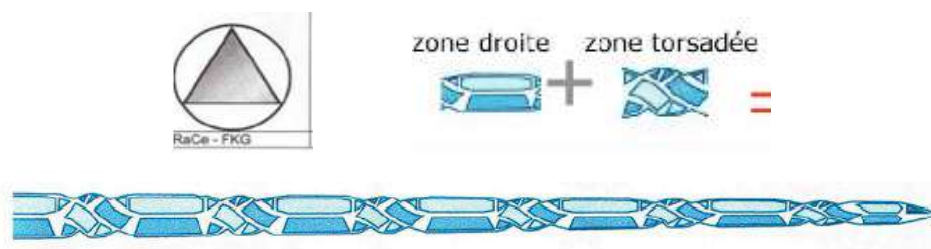


Figure 15 : *RaCe*[®] de *FKG*[™]

- *M-Two*[®] de *Dentsply*[™] (2006)

Il possède une section rectangulaire en S, avec un pas de lame variable qui diminue le nombre total de spires (figure 16). La réduction de la masse centrale de métal est prévue pour apporter aux instruments une flexibilité supérieure et permet de rester mieux centré dans le canal. De plus, l'espace libre maximise la remontée des débris. Tous les instruments de la séquence sont capables d'atteindre la LT par "crown down" progressif. Les *M-Two*[®] auraient la capacité de s'autoguidé dans le canal. Il ne faut donc pas forcer l'instrument en direction apicale, mais se retirer de quelques millimètres et accentuer le brossage pariétal en cas d'atteinte difficile de la LT (Malagino et coll., 2006).



Figure 16 : *M-Two*[®] de *Dentsply*[™]

- *ProTaper® de Dentsply-Maillefer™ (2006)*

Ce système présente deux types de limes les Shaping files (figure 16) pour la mise en forme canalaire et les Finishing files (figure 17) pour la finition apicale.

Les limes Shaping files présentent une section triangulaire avec des arêtes convexes afin de développer une bonne efficacité de coupe, alliée à un contact entre la dentine et l'instrument réduit, pour minimiser l'effet de vissage.

Les limes Finishing files sont destinées à être utilisées dans le dernier tiers apical. Elles possèdent une section en U évidée pour faciliter l'élimination des débris et augmenter leurs flexibilités ; d'autant plus que ces limes possèdent de gros diamètres pour assurer une meilleure désinfection et faciliter l'obturation finale.

Les instruments F4 et F5 avec une pointe de 40/100^{emes} (ISO) et 50/100^{emes} (ISO) sont conçus pour les apex larges (figure 18).

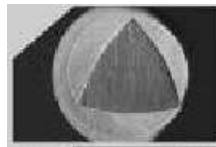


Figure 17 : Shaping files de Dentsply-Maillefer™

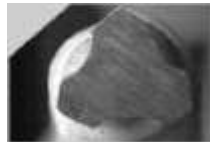


Figure 18 : Finishing files F4 et F5 de Dentsply-Maillefer™

- *Revo-S® de Micro Mega™ (2008)*

Les instruments existent en section décalée et en section non décalée (encore appelée équilatérale). La face décalée donne moins de contraintes sur l'instrument, plus de flexibilité (d'autant plus que le diamètre de l'instrument est faible) et augmente l'espace disponible pour la remontée des débris.

Les instruments à section décalée seront utilisés pour le début de la préparation et la finition canalaire ; un instrument à section équilatéral sera utilisé en intermédiaire lors de la mise en forme, afin d'exploiter l'efficacité de coupe des arêtes (figure 19).

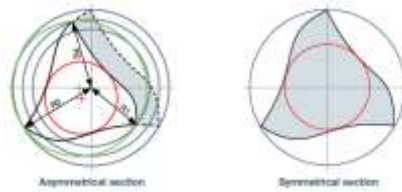


Figure 19 : Revo-S® de Micro Mega™

- *Le Hyflex CM® Coltene™ (2008)*

Les instruments *Hyflex CM®* présentent une particularité unique : ils se déforment au gré des contraintes qui leur sont imposées et il est possible de les précourber. Leur alliage spécial "CM-Wire" permet de contrôler la mémoire de forme du matériau : la déformation induite par la contrainte est réversible par un traitement thermique (autoclave par exemple) (figure 20). Cette caractéristique singulière assure un meilleur respect des trajectoires canalaires, limite le phénomène de vissage et augmente la résistance à la fracture. Par ailleurs, l'alliage spécifique NiTi CM-Wire augmenterait la résistance à la fatigue de l'instrument comparé au NiTi traditionnel (Shen et coll., 2011). Chaque instrument possède une pointe non travaillante et une section triangulaire qui évolue vers une section quadrangulaire en se rapprochant de la base de l'instrument (figure 21).



Figure 20 : Hyflex CM® Coltene™

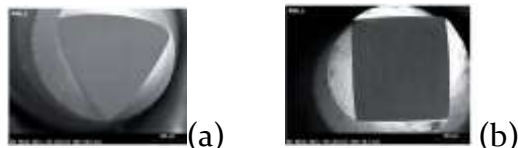


Figure 21 : section triangulaire (à la pointe)(a) puis quadrangulaire (b) d'un instrument Hyflex CM® au MEB (d'après Rieger, 2012)

- *Twisted Files® Kerr Dental™* (2008)

La grande majorité des instruments en NiTi destinés à la préparation canalaire sont fabriqués selon un procédé d'usinage : la partie active de la lame est usinée et raccordée au manche par l'intermédiaire de la tige. *Les Twisted Files®* (figure 22) sont quant à eux obtenus mécaniquement, suite à un processus de torsion des tiges d'alliage spécifiquement issus de la "phase-R" stabilisée de la transformation martensitique du NiTi (phase de transition entre l'austénite et la martensite). Ce processus particulier augmente considérablement la résistance mécanique (absence de microfêlures d'usinage) et la flexibilité de l'instrument (Gambarini et coll., 2008). De plus, l'instrument se "détorsionne" lors de l'amorce d'une rupture prochaine ; ce qui constitue un indicateur visuel précieux pour l'opérateur. Enfin, l'instrument possède une pointe inactive, ce qui minimise les dérives de trajectoire canalaire et un pas d'hélice variable qui contribue à améliorer sa flexibilité (Sirbu, 2013).



Figure 22 : *Twisted Files® Dental Kerr™*

- ❖ L'instrumentation unique en mouvement réciproque

D'apparition clinique récente (2011), les systèmes à "instrument unique" sont en constant développement. Si cela emmène une ergonomie améliorée incontestable, il est important de respecter les phases d'irrigation (temps, volumes) qui ne doivent pas être écourtés au profit du gain de temps du traitement endodontique global. De plus, leurs utilisations se limitent pour le moment au traitement endodontique initial.

Ces nouvelles techniques de préparation canalaire mono-instrumentale sont issues de la technique de Roane et exploitent le mouvement de réciprocity : il alterne

des mouvements horaires et anti-horaires, qui sont également asymétriques (amplitudes différentes)(Roane et coll., 1985). L'objectif de ces mouvements appliqués au NiTi est la libération progressive des contraintes sur l'instrument, son centrage tout au long de la préparation, une mise en forme facilitée et l'absence de phénomènes vissage dans le canal (Yared et coll., 2008).

Il existe aujourd'hui plusieurs gammes d'instruments disponibles sur le marché basés sur la réciprocité : le système Réciproc® (Dentsply VDW), le système Wave One™ (Dentsply Maillefer)et son évolution, le système Wave One® Gold (Dentsply Maillefer). Chaque système s'utilise avec un moteur spécifique (figure 23) avec un programme dédié. Tous ces instruments ont comme point commun une conicité variable qui permet une préparation apicale majorée. Contrairement aux instruments de rotation continue, leur hélicoïde est inversée ce qui engage une rotation anti-horaire avec une amplitude supérieure au dévissage horaire ; cela augmente la résistance à la fatigue cyclique et aux efforts en torsion (De Deus et coll., 2010 ; Kim et coll., 2012). Enfin, l'alliage NiTi M-Wire® qui compose tous ces instruments contribue à augmenter leurs propriétés mécaniques (Al-Hadlag et coll., 2010 ; Shen et coll., 2011).

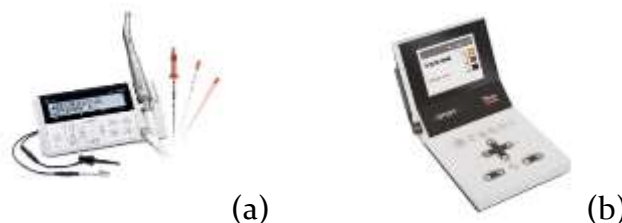


Figure 23 : moteurs spécifiques du Réciproc®(a) et du Wave One™(b) (Pertot, 2011)

- *Wave One™ Dentsply Maillefer (2011)*

Il existe trois instruments permettant de répondre à trois types de situations cliniques : le WaveOne® Small pour les canaux fins (bague jaune), le WaveOne® Primary pour la majorité des canaux (bague rouge) et le WaveOne® Large pour les canaux larges (bague noire). Ces trois instruments à usage unique, ont une section triangulaire concave au niveau apical (figure 24 b) et triangulaire simple sur la partie coronaire (figure 24 a) : ce dessin augmente la résistance de l'instrument au niveau de sa pointe et permet une meilleure flexibilité de la lame en coronaire, tout en

maintenant un espace suffisant pour l'évacuation des débris. La variation du pas sur la partie travaillante ralentit également la rupture (Pertot et coll., 2008 et 2011).



Figure 24 : Wave One™ Dentsply maillefer ; section triangulaire coronaire (a) et triangulaire concave apicale (b)

- *Réproc® Dentsply VDW (2011)*

Il existe également 3 types de limes (25.08 / 40.06 / 50.05) aux diamètres et conicités variables à adapter en fonction de la situation clinique. La section de l'instrument présente deux arêtes coupantes (figure 25), semblables à celles de l'Unifile® et du MTwo® et sa pointe est inactive. La conicité inversée est plus faible pour le Reciproc® que pour le Wave One : ainsi, ce dernier présente un diamètre coronaire plus faible comparé au WaveOne® (Pertot et coll., 2008 et 2011).



Figure 25 : section en "S" du Reciproc® VDW

- ❖ L'instrumentation unique en rotation continue

- *Le One Shape® Micro Mega (2012)*

Le principe est identique à celui du WaveOne® et du Reciproc® : simplifier la préparation canalaire grâce à l'utilisation d'un instrument unique. Cependant, contrairement à ces deux systèmes, le One Shape® s'utilise en rotation continue sur contre angle réducteur à une vitesse de 400tr/min avec un moteur conventionnel. L'instrument présente une conicité constante de 6%, un diamètre unique de 25/100^e (hormis pour les instruments optionels de finition apicale) et une pointe inactive.

Il possède des sections variables dissymétriques : 3 arêtes de coupes dans la partie apicale et 2 arêtes dans la portion coronaire. La zone de transition présente plusieurs sections différentes qui permettent le passage de 3 à 2 arêtes de coupe (figure 26). Le pas d'hélice variable ainsi que ces modulations de section participent à un meilleur centrage, une bonne élimination des débris et limitent le vissage.

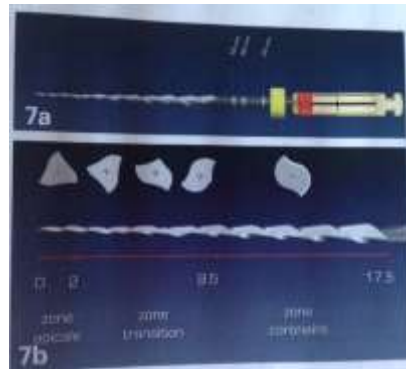


Figure 26 : Sections du One Shape® (Perez et coll., 2015)

- *Le F360® Komet (2015)*

Comme le One Shape®, c'est également un système revendiquant une instrumentation unique compatible avec un moteur conventionel en rotation continue. La différence est que la séquence de mise en forme se compose en réalité de deux instruments uniques, conditionnés sous blister à usage unique. Les instruments possèdent tous une conicité constante de 4% et existent en 3 longueurs différentes et 4 diamètres apicaux (25/100- 35/100-45/100- 55/100)(figure 27) ; le fabricant revendique la préparation de n'importe quelle anatomie canalaire par ce biais (Komet, 2015). Le F360® possède comme le Mtwo® et le Reciproc® une section en "S", permettant une flexibilité accrue et favorise la remontée des débris. Une étude portant sur la genèse de débris suite à l'utilisation de divers systèmes (One shape®, Réciproc®, Mtwo®, F360®) aboutit seulement à la constatation que les systèmes utilisant la rotation continue génèrent moins de débris que ceux activés par réciprocity (Bürklein et coll., 2014). Nous manquons assurément de recul face à ce nouveau système pour émettre des conclusions.



Figure 27 : F360® Komet

4. Performances physiques du Nickel-Titane

a. La flexibilité

La flexibilité du NiTi se traduit par le fait que la force de rappel de l'instrument vers sa position d'origine est faible. Ainsi, les instruments respectent en permanence la trajectoire du canal. C'est ainsi que les instruments en NiTi peuvent être utilisés sans la nécessité de les précurber préalablement. La flexibilité du NiTi est bien plus grande que celle des limes en acier inoxydable (Walia et coll., 1998 ; Haikel et coll., 1998) : la force nécessaire pour courber de 45° une lime en acier est de 2 à 3 fois supérieure à celle nécessaire pour courber une lime de même diamètre en NiTi. Ceci est expliqué par le module de Young de l'acier qui est 4 à 5 fois plus élevé que celui du nickel-titane. La flexibilité du NiTi s'avère être 6 à 8 fois supérieure à celle de l'acier inoxydable (Kazemi et coll., 2000).

Grâce à cette flexibilité majorée, les instruments tolèrent une majoration des conicités de travail (4% et 6%)(Ben Johnson, 1994 ; Mac Spadden, 1993). Les instruments classiques en acier inoxydables, du fait de leur rigidité, ne pouvaient pas dépasser une conicité de 2% ; sans quoi, le cas échéant, le risque de déportement, de perforation et de fracture dans les courbures seraient quasi systématiques.

Par ailleurs, la flexibilité des instruments en NiTi se conserve après des cycles d'utilisation et de stérilisation répétés (Walia et coll., 1988) ; bien que le praticien soit obligé de veiller avec conscience, en fonction de chaque système et de la difficulté des canaux, de la durée limitée de leurs utilisations.

Il est aussi reconnu par tous les auteurs que la géométrie de la section instrumentale reste un facteur déterminant pour la flexibilité de l'instrument (Yared et coll., 2003).

b. L'efficacité de coupe

L'efficacité de coupe d'un instrument peut être exprimée par rapport à la quantité de dentine éliminée par unité d'énergie émise. Elle est variable en fonction du matériau, de la dimension de l'instrument et de la géométrie de la section et des bords coupants (Haikel et coll., 1998).

L'alliage nickel-titane est moins dur que l'acier ce qui explique que son efficacité de coupe soit moins importante. L'efficacité de coupe des Niti réside en grande partie dans l'augmentation de conicité des instruments (4%, 6% , 12%)(Walia et coll., 1988). Par ailleurs, le dessin des instruments en nickel-titane est adapté pour palier au manque d'efficacité de coupe, avec des arêtes possédant un angle légèrement positif.

L'usage des NiTi en rotation continue majore leur efficacité, grâce au mouvement et au contact constant de la lime avec les parois, lors de leur travail dans les canaux (Lasfargues, 1997). Cependant, leur rotation dans le sens horaire est indispensable pour que le travail de ses arêtes de coupe soit efficace. De plus, les instruments en nickel-titane, comme ceux en acier, effectuent un plus grand nombre de rotations avant la fracture par torsion dans ce sens, que dans le sens antihoraire (Rowan et coll., 1996).

c. Résistance à la fracture du nickel titane

La rupture des NiTi se produit selon un mode ductile, lorsque la contrainte est trop importante ou que l'instrument butte contre un obstacle. Plus explicitement, elle naît à partir d'un défaut induit par déformation plastique, qui devient critique et se propage jusqu'à la rupture.

Deux mécanismes conduisant à la rupture ont été décrits dans la littérature au sujet des instruments en nickel-titane : la rupture par torsion et la rupture par fatigue (James et coll., 2008).

La rupture par torsion se produit lorsque l'instrument est forcé en rotation dans une partie étroite du canal. La fracture de fatigue survient suite à des usages multiples, car l'instrument va subir un vieillissement par cyclage mécanique.

La fatigue des instruments se modifie selon leurs fréquences d'utilisations et également selon le type de canaux préparés (Thompson, 2000). En effet, les contraintes cycliques de compression/traction répétées sur l'instrument en rotation, majorées dans le cas de canaux courbes et fins, vont induire une altération de ses propriétés mécaniques conduisant à la rupture (Peters et coll., 2006). Le processus de fatigue est donc un phénomène cumulatif qui est certainement impliqué dans la grande majorité des fractures (Fife et coll., 2004).

Des tests de résistance à la fracture par torsion révèlent une différence significative entre l'acier et le NiTi. Les limes en aciers supportent 10 à 60 tours, alors que les limes en NiTi peuvent supporter 120 à 800 tours dans les mêmes conditions (Gito, 1997 ; Pruett, 1997).

La résistance à la fracture va dépendre du mode d'utilisation de l'instrument. Les instruments en NiTi doivent être utilisés sans effort et sans résistance. Des études non statiques permettent de démontrer que le torque qui s'exerce sur l'instrument lors de la préparation canalaire, est corrélé à la pression exercée apicalement par l'opérateur, mais aussi au volume préopératoire du canal (Peters et coll., 2003).

Les propriétés de flexion sont influencées par la géométrie de la section de l'instrument (Schafer et coll., 2003). Une étude a été menée dans ce sens pour évaluer comment différents profils de section influencent la distribution du stress sur les instruments NiTi pendant leur progression dans des canaux courbes. Cette étude démontre que la section rectangulaire amène l'instrument à des hauts niveaux de stress et de déformations plastiques résiduelles plus importantes, que des instruments à section triangulaire (Kim et coll., 2009).

Par ailleurs, l'influence du diamètre et de la conicité des instruments ont fait l'objet de plusieurs recherches. Pruett note que la durée de vie des instruments est inversement proportionnelle à leur taille et conicité (Pruett et coll., 1997). Les limes de grand diamètre se fracturent plus facilement en flexion (Sattapan et coll., 2000).

Les tests de fatigue menés par la suite dans des canaux courbes confirment le résultat obtenu par Pruett (Fife et coll., 2004 ; Bahia et Buono, 2005). Il faut par conséquent que le praticien reste prudent avec les instruments de gros diamètres et conicité dans les courbures marquées, voire même qu'il évite leur utilisation.

En 2008, une technique de mise en forme complète mettant en œuvre un seul instrument utilisé selon une nouvelle dynamique appelée « mouvement réciproque » a été décrite (Yared, 2008). En février 2011, 2 systèmes permettant une préparation mono-instrumentale utilisant le mouvement de réciprocity ont été mis sur le marché : le WaveOne® (DENTSPLY Maillefer™) et le Reciproc® (DENTSPLY VDW™) (Pertot et coll., 2011).

Ce mouvement réciproque, qui est un mouvement alternatif asymétrique, présenterait de nombreux avantages par rapport à la rotation continue : une réduction de la fatigue cyclique, première cause de fracture instrumentale (Varela Patino et coll., 2010 ; Gavini et coll., 2012), une réduction du risque de fracture en torsion (Kim et coll., 2012), une élimination de l'effet de vissage et d'aspiration dans le canal et donc un meilleur centrage de l'instrument (Berutti et coll., 2012).

La fracture est toujours crainte par les praticiens, d'autant plus qu'elle peut se produire sans signe précurseur évident sur les instruments mécanisés (Martin et coll., 2003 ; Chaves Craveiro De Melo et coll., 2002).

Cependant, selon le profil des limes, la désspiralisation ou un changement visuel dans le pas des limes peuvent guider le praticien à mieux appréhender la situation ; d'autant plus que l'on sait que l'utilisation multiple des instruments affectent bien leur résistance à la fatigue (Fife et coll., 2004). Hormis l'utilisation d'instrument à usage unique, ou le respect du nombre de cycles définis arbitrairement par le fabricant, le contrôle visuel se révèle être le seul moyen d'anticipation à la fracture accessible par le praticien.

5. Propriétés anti-microbiennes du nickel-titane

Il n'existe à ce jour aucune référence scientifique faisant propos de l'existence d'une quelconque activité anti microbienne du NiTi, ni de l'un de ses constituants.

La seule chose que nous pouvons souligner, est l'implication indirecte de la rotation continue dans l'amélioration de la désinfection canalaire chimio mécanique : en effet, de par la conicité plus régulière et majorée, on optimise une irrigation plus

efficace, car mieux renouvelée et portée jusque la portion apicale des canaux (Machtou, 1993).

6. Biocompatibilité du nickel-titane

La biocompatibilité est *la capacité d'un matériau à être utilisé avec une réponse appropriée de l'hôte pour une application spécifique* » (Williams, 1989).

Les alliages en Nickel-Titane sont reconnus pour présenter une bonne biocompatibilité tissulaire en partant du principe que leur comportement en corrosion est plus proche de la résistance à la corrosion du titane que celle du nickel, qui elle, est délétère. De plus, l'alliage n'a montré ni cytotoxicité, ni activité allergique ou génotoxicité (Wever et coll., 1997).

Évaluées *in vitro*, la biocompatibilité ainsi que la résistance à la corrosion de l'alliage sont identiques à celles des aciers inoxydables (Putters et coll. 1992 ; Edie et coll. 1981). Elles sont dues au recouvrement en surface par une couche d'oxyde de titane TiO_2 , qui limite le relargage de nickel sous forme ionique, connu pour être toxique sur l'organisme (Mushak, 1980). Cette couche de protection se forme spontanément en milieu aqueux ou à l'air. Les taux de nickel diffusés passivement en solution, après corrosion, sont indétectables 10 jours après le contact (Wever et coll., 1998).

Même si le comportement du NiTi reste meilleur que l'acier inoxydable en terme de biocompatibilité, sa résistance à la corrosion est affaiblie dans un milieu riche en chlorures (Starosvetky et coll., 2001), ce qui peut être gênant en endodontie par l'usage d'hypochlorite de sodium. De plus, l'établissement d'un film passif d'oxyde de titane est un processus lent et difficile en conditions naturelles et ce revêtement contiendrait toutefois une faible concentration en nickel susceptible d'être relargué (Wever et coll., 1998). Malgré le comportement passif des alliages de titane, le relargage d'ion titane et nickel demeurent donc inévitable et peut entraîner au contact des tissus des effets locaux, voir systémiques potentiellement néfastes.

Les recherches actuelles se portent sur les possibles traitements de surface de l'alliage, destinés à améliorer sa stabilité dans le temps et dans l'intérêt des patients (Yeung et coll., 2007). Dans cette étude, les surfaces en NiTi ont été traitées par technique d'implantation ionique par immersion dans un plasma d'azote (PIII). Le revêtement obtenu en nitrure de titane (TiN) augmenterait la résistance à la corrosion des NiTi traités par rapport aux NiTi non traités. En corrélation avec ces résultats, on obtient aussi une diminution des taux d'ions nickel relargués par ces mêmes alliages traités.

Il est à noter que les études sur la biocompatibilité du nickel-titane sont surtout entreprises dans l'optique implantaire (corporelle) ou prothétique. En endodontie, en prenant la référence temporelle du traitement canalaire et des conditions de soins sous digue, sous aspiration chirurgicale et avec une irrigation efficace et active, le risque de contact avec les éléments relargués est fortement diminué par rapport à des implants ou prothèses permanentes.

C. L'alliage CuAlBe monocristallin

Il existe essentiellement trois familles d'alliages à mémoire de forme à base de cuivre : Cu-Sn, Cu-Zn et Cu-Al. Un troisième élément est souvent ajouté aux alliages Cu-Zn et Cu-Al (qui présentent des températures de transformation M_s très élevées) pour ramener le point M_s à la température souhaitée.

Nous avons étudié précédemment le nickel-titane, aux propriétés bien connues et communément utilisé en endodontie. Notre intérêt est de découvrir quels avantages et/ou inconvénients présenterait l'alliage CuAlBe monocristallin en comparaison à la référence actuelle du NiTi et s'il pourrait prétendre à un avenir éventuel dans une application clinique endodontique ?

1. Composition et structure cristalline de l'alliage CuAlBe monocristallin

Le CuAlBe monocristallin est un alliage à mémoire de forme (AMF) constitué de 87.88% de cuivre, 11.6% d'aluminium et 0.52% de béryllium. Les pourcentages donnés représentent la masse de chaque élément par rapport au volume de l'alliage.

Comme nous allons le découvrir, la structure métallurgique n'est pas sans incidence dans les performances de l'alliage, puisqu'il existe une relation directe entre les deux. Un polycristal d'AMF est constitué d'une multitude de grains (ou cristaux) de dimensions et formes variées, alors qu'un monocristal n'est constitué que d'un seul cristal.

A l'échelle mesoscopique (celle du grain) on peut observer au sein de la martensite diverses variantes, appelées aussi micromaclages. Sous l'effet d'une contrainte, les variantes les mieux orientées par rapport à celle-ci vont s'associer, se développer dans la même direction et engendrer une déformation macroscopique ; il s'agit de la martensite orientée (Malard, 2009).

La figure 28 compare la micrographie de la martensite orientée dans un monocristal et dans un polycristal de CuAlBe. Dans le monocristal, on observe qu'une seule variante se développe suite à l'application d'une force (Delaey et coll., 1974).

C'est ainsi qu'une très faible contrainte suffit à privilégier la variante la mieux orientée dans un monocristal, ce qui conduit à une déformation de transformation importante, pouvant atteindre jusqu'à 10% pour l'alliage CuAlBe monocristallin (Entemeyer, 1996).

En revanche, dans le polycristal, même si l'on peut également sélectionner des variantes bien orientées dans chacun de ses grains, celles-ci ne réussissent pas à transformer complètement l'échantillon : gênée par la structure granulaire, la transformation engendre un champ de contrainte interne intergranulaire ; cela crée alors une contrainte d'un nouvel ordre, qui influe à son tour sur la sélection des variantes et induit des variantes moins bien orientées au sens de la contrainte macroscopique (Duerig et coll., 1990 ; Kaouache, 2006).

Dans les polycristaux, nous avons donc le cumul de champs de contraintes intergranulaires et intragranulaires. Cela va conduire au piégeage d'une quantité de martensite résiduelle, ce qui peut également induire un écoulement plastique dans le

matériau. Ces deux mécanismes conduisent à l'apparition d'une déformation résiduelle, plus ou moins marquée, après décharge complète de l'échantillon (Contardo et coll., 1990).

La déformation superélastique est alors bien plus importante dans une structure monocristalline (Hautcoeur, 1982). Etant donné que la superélasticité est la propriété pseudo-élastique d'intérêt dans le cadre d'une application endodontique, cela explique le choix de l'alliage sous forme de monocristal. De plus, sous cette forme, la transformation martensitique a lieu sous l'application d'une contrainte constante, contrairement aux formes polycristallines où la formation de cette phase a lieu sous contraintes croissantes (Humbeeck, 1999 ; Siredey, 2000).

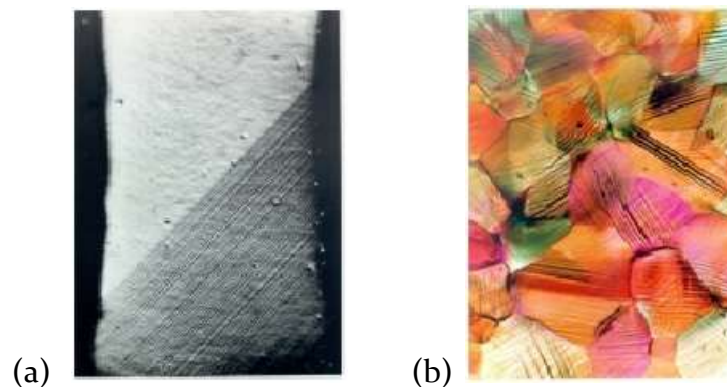


Figure 28 : Martensite orientée a) dans un monocristal d'un alliage de cuivre (b) dans un polycristal d'un alliage de cuivre (Malard, 2009)

2. Etude des éléments constituant l'alliage

a. le cuivre

i. Incidences dans l'alliage monocristallin

De nombreux alliages à base cuivre sont susceptibles de présenter l'effet mémoire de forme : CuZn, CuAl, CuSn, CuZnAl, CuAlNi, CuAlMn, CuAlBe. Tous ces alliages ont des structures et des comportements voisins (Malard, 2012). La martensite se retransforme en austénite avec une hystérésis en contrainte : en effet, les contraintes de début et de fin de transformation inverse, diffèrent des contraintes de début et de

fin de transformation directe. L'apport de cuivre va permettre de réduire l'hystérésis et les contraintes de déformation de la martensite (Hsu et coll., 1991).

De manière générale, les propriétés bactéricides et antifongiques du cuivre sont reconnues dans le domaine médical et utilisées dans les milieux hospitaliers pour combattre le risque de maladies nosocomiales (clanches de porte, barres de lit). Les surfaces en cuivre permettent d'éradiquer par contact 90% à 100 % des micro-organismes tels que le staphylocoque doré résistant à la méthicilline (SARM) en milieu hospitalier (Casey et coll., 2010). Ainsi, en mars 2008, le Ministère de l'Environnement américain a consentit d'enregistrer le cuivre comme premier et unique métal possédant des propriétés antimicrobiennes.

Les propriétés anti-bactériennes potentielles de l'alliage CuAlBe monocristallin seraient par conséquent entièrement assurées par le cuivre.

Des études cliniques ont révélé que les surfaces de cuivre métalliques ainsi que les alliages ayant une teneur en cuivre d'au moins 70 % éliminent en quelques heures plusieurs organismes pathogènes incluant des souches bactériennes d'entérocoques, mais aussi le VIH et des levures comme le *Candida albicans* (Prado et coll., 2012).

Dans d'autres études *in vitro*, on observe que l'effet bactéricide du cuivre par contact (*contact-killing* étudié dans le chapitre II 2.e.) augmente avec la quantité de cuivre contenu dans l'alliage (Wilks et coll., 2005), avec la température du milieu (Elguindi et coll., 2009) et avec le degrés d'humidité relative (Michels et coll., 2009). A la lumière de ces données, étant donné que l'alliage monocristallin expérimental implique 87,88% de cuivre et se produit en milieu humide à 37°C, les conditions sembleraient donc être plutôt encourageantes en terme d'efficacité antibactérienne.

Nous avons détaillé dans le Chapitre II 2.e, les mécanismes du *contact killing* : les qualités bactéricides intrinsèques du cuivre sont basées sur l'atteinte indirecte de l'ADN bactérien (Thian et coll., 2012), sur l'atteinte de l'intégrité de la paroi membranaire ainsi que sur d'autres constituants de surface, par des réactions mêlant diverses formes ioniques du cuivre. Un phénomène de stress oxydatif intracellulaire, provoqué par les radicaux libres de l'oxygène produits, contribueraient aussi à suppléer l'action du cuivre (Grass et coll., 2011).

Nous approfondirons l'aspect chimique des réactions antibactériennes qu'impliquerait le cuivre de l'alliage CuAlBe et leurs conséquences, dans la partie "3.b. Propriétés antibactérienne de l'alliage CuAlBe".

ii. Incidence sur l'organisme humain

Le cuivre est un oligoélément essentiel à la vie. Le corps humain en contient 100 mg pour un individu de 75kg. La dose quotidienne recommandée est de 1,5mg à 3 mg tous apports confondus (aliments et boissons). Bien que ce soit un produit essentiel au corps humain, il devient mortel à forte dose ; sa dose létale (DL), est de 15 mg/kg. La cuprémie est habituellement comprise entre 64 et 156 µg/dL de cuivre dans le plasma.

Une carence en cuivre peut entraîner l'anémie, une perte de cheveux, un ralentissement de la croissance et augmente le facteur de risque cardiovasculaire. En revanche une intoxication aiguë va se révéler par des nausées, des diarrhées et des irritations gastriques (Médecine du Travail et de l'Environnement, 2002).

Les métallo-enzymes sont un exemple représentatif de l'implication des ions métalliques dans le fonctionnement normal du métabolisme humain. Ces enzymes participent à des processus cellulaires multiples (division, nutrition...) et sont donc indispensables à l'activité des cellules. Par exemple, la céruloplasmine est une enzyme qui possède dans sa structure du cuivre, qui lui permet de fixer par la suite le fer. Le cuivre issu des alliages dentaires (issus des amalgames par exemple), va diffuser dans le sang sous forme de nanoparticules, puis va alors entrer en compétition avec le cuivre métabolique, prendre sa place au sein de la structure de l'enzyme et la bloquer. En effet, la structure du cuivre métabolique n'étant pas la même que le cuivre issu des amalgames, elle seule est capable de se lier avec le fer au sein de l'enzyme (Rodilla et coll., 1996).

b. l'aluminium

i. Incidences dans l'alliage monocristallin

L'aluminium permet d'obtenir plus facilement la transformation martensitique (Baron, 1998). Il possède de nombreuses propriétés intéressantes : contrairement au

cuivre qui est un métal plutôt mou, l'aluminium contribue à augmenter la résistance de l'alliage par sa dureté, sa rigidité (qui approche celle de l'acier) et permet un allongement à la rupture (Copperalliance, 2004).

Les alliages Cu-Al sont d'autant plus stables, que leur composition chimique est proche du point eutectoïde (Al% massique $\approx 11,5\%$) (Belkahla, 1990). On comprend donc le choix d'une implication à 11,6% au sein de l'alliage expérimental.

ii. Incidence sur l'organisme humain

L'organisme d'un sujet sain contient au total de 30 à 50 mg d'aluminium (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, 1999), surtout présent dans l'os (50 %), le poumon (25 %) et le foie (20 à 25 %). Ces apports sont d'origines exogènes ; l'aluminium ne constitue pas un élément indispensable au métabolisme humain et ne fait donc pas partie des oligoéléments contrairement au cuivre.

Plus de 95 % de l'aluminium ingéré est éliminé dans les fèces et 83 % de l'aluminium non éliminé par cette voie, sera éliminé par les urines. Avec une fonction rénale normale, la dose d'aluminium éliminée varie de 3 à 20 $\mu\text{g/L}$ d'urine (Valkonen et Aitio, 1997).

L'aluminium peut perturber la capacité du corps à assimiler et à faire usage du calcium, du phosphore et du fluor. Etant donné l'implication du calcium et du phosphore dans la composante minérale osseuse et celle du fluor dans le fonctionnement des pompes protoniques des cellules osseuses, cela peut conduire à une fragilité et une déformation de la structure osseuse (Rodriguez, 1990 ; Zhu, 1990).

La toxicité de l'aluminium peut aussi avoir comme conséquence une réduction de la fonction hépatique et une insuffisance rénale par perturbation des fonctions des différentes cellules ; on répertorie aussi des cas d'anémie (Short, 1980).

L'aluminium est particulièrement néfaste pour le système nerveux. C'est un neurotoxique mis en cause dans l'étiologie de la maladie d'Alzheimer (Shore, 1983).

Concernant les effets possibles mutagènes et cancérigènes de l'aluminium, il a été classé dans les cancérigènes de groupe 1 : il représente en lui-même un agent

cancérogène pour les cellules du corps (CIRC, IARC 1987) mais son implication possible chez l'homme suite à une exposition cutanée ou à une exposition par inhalation est soumise à discorde (INEIR, 2005).

Cependant, l'aluminium est utilisé dans de nombreux vaccins pour sa fonction adjuvante ; c'est-à-dire pour le renforcement de la stimulation de la réponse immunitaire, qui conduit à une production plus rapide et élevée d'anticorps spécifiques. Cependant, lors de l'injection intramusculaire, l'aluminium s'accumule dans les macrophages des cellules musculaires sous forme d'agglomérats de particules aluminiques, entraînant une « myofasciite à macrophages ». Les symptômes chez ces patients sont des douleurs musculaires et des asthénies chroniques (GERMMAD, 2001).

c. le béryllium

i. Incidences dans l'alliage monocristallin

L'ajout de béryllium au système Cu_3Al ne modifie ni la structure, ni la nature de la transformation martensitique. La qualité de l'effet mémoire n'est pas affectée mais concernant la superélasticité, il induit une diminution de la température de transformation martensitique (M_s). En effet, un troisième élément est souvent ajouté aux alliages Cu-Zn et Cu-Al qui présentent des températures de transformation M_s très élevées, pour ramener le point M_s à la température souhaitée.

En endodontie, la température ambiante est la seule pouvant concorder avec une application clinique de l'alliage CuAlBe monocristallin.

Par l'ajout de béryllium, on peut ainsi adapter un alliage de base Cu-Al aux conditions d'utilisation recherchées, en permettant à la transformation martensitique de se produire à température ambiante.

Dans le système binaire Cu-Al, pour obtenir une température de M_s au voisinage de la température ambiante, il faut une concentration d'environ 14% en masse d'aluminium. Or pour cette valeur, la phase martensitique est très fragile et l'alliage est inutilisable.

L'ajout d'un troisième élément permet de baisser très fortement la température de transformation martensitique, pour un pourcentage d'aluminium donné.

On peut ainsi rester libre de choisir la quantité d'aluminium que va contenir l'alliage. L'emploi du béryllium dans le système Cu-Al est donc une solution pour obtenir une transformation martensique à température ambiante et doter l'alliage d'une superélasticité intéressante, répondant à une contrainte appliquée (Belkahla, 1990).

Selon la quantité de béryllium ajoutée, la température de transformation martensitique se rapproche de la température ambiante. L'addition d'une très faible quantité de béryllium permet de réduire très fortement la température M_s , sans entraîner de modification sur la structure de la martensite (l'ajout de 0,1% de béryllium diminue la température M_s de 90°C) (figure 29).

Deuxièmement, il offre la possibilité de faire varier, par traitement thermique, (bétatisation) la taille de grains d'environ 70µm à plus d'un millimètre (Y. Gao, 2005). Mais cette dernière propriété n'a d'intérêt que pour les polycristaux, car permet d'améliorer les propriétés mécanique en diminuant la taille des grains et ainsi les frictions inter et intra grains.

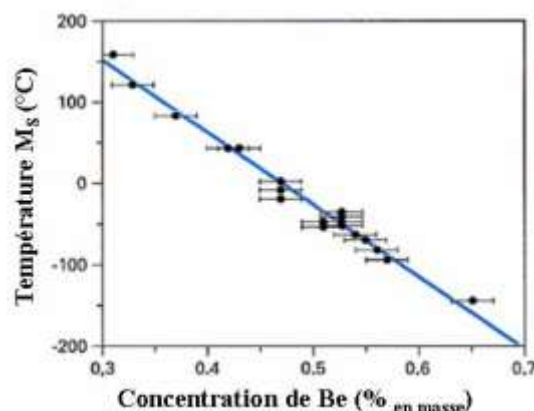


Figure 29 : Influence de la teneur massique en béryllium sur la température M_s de l'alliage CuAlBe à 11,8% en masse d'Al (Belkahla, 1990)

ii. Incidence sur l'organisme humain

Le béryllium était déjà présent en odontologie puisqu'il est utilisé dans les alliages tels le nickel-chrome (couronnes, connections en prothèse amovible) pour sa

capacité à faciliter l'adhésion à la céramique. Il a été interdit dans cet usage depuis 2002 en raison de sa toxicité avérée.

En effet c'est un matériau toxique sous la forme de poussières et de vapeurs. L'inhalation de particules peut causer une sensibilisation de l'organisme par des réactions allergiques et/ou des maladies chroniques pulmonaires comme la béryllose pulmonaire (Fireman et coll., 2006).

Cependant, s'il est présent à moins de 0,1% dans l'alliage, le fabricant n'a pas l'obligation de l'inscrire dans les fiches signalétiques. Il est alors dit « biocompatible ou de pureté médicale » ; mais cela n'implique pourtant pas qu'il soit sans danger pour les personnes qui le manipuleraient lors de sa fabrication (meulage, usinage), ou lors des procédés qui toucheraient à son état de surface et qui seraient susceptibles de créer des poussières volatiles (INERIS, 2008).

En ce qui nous concerne, le béryllium est présent à 0,52% dans notre alliage. Les particules de béryllium éventuellement relargués au cours du travail endodontique ne peuvent pas être avalées ou inhalées, si le champ opératoire a été correctement posé.

3. Interêts potentiels cliniques de l'alliage CuAlBe monocristallin

La présence majoritaire d'*Enterococcus faecalis* dans les réseaux canaux des dents sujettes à échecs endodontiques (Ozbek et coll., 2009), nous encourage à trouver une solution pour en réduire la charge bactérienne et ainsi espérer éliminer l'étiologie majoritairement désignée des échecs de traitement. Le problème est que cette bactérie, nous l'avons vu, est extrêmement résistante en milieu hostile (pauvre en nutriments, en oxygène et au pH basique) (Portenier et coll., 2003) et résiste par conséquent aux solutions traditionnellement déployées en endodontie.

L'idée innovante serait alors d'utiliser le peroxyde d'hydrogène, efficace contre la bactérie, mais en le combinant avec un alliage de cuivre, qui potentialiserait son efficacité bactéricide. On obtiendrait ainsi une synergie pendant le débridement chimio-mécanique. En effet comme nous l'avons abordé, le cuivre sous forme oxydé,

Cu^{2+} est un activateur de la production de radicaux libres (Hartemann et coll., 1995) responsables des dommages sur l'ADN, sur la paroi bactérienne et donc responsable d'un effet bactéricide majoré.

En augmentant l'effet bactéricide du peroxyde d'hydrogène par le cuivre, cela permettrait d'inclure le peroxyde d'hydrogène à des concentrations compatibles avec la sécurité du patient, en écartant les risques de brûlures et d'irritations muqueuses causées par les concentrations supérieures à 3% (Lenntech, 2012).

L'alliage CuAlBe monocristallin est un AMF de plus en plus étudié, car il présente des propriétés intéressantes, exploitables dans de nombreux domaines industriels : une stabilité thermique supérieure aux AMF Cu-Zn-Al, une mise en oeuvre plus facile que la famille Cu-Al-Ni par l'absence de précipités γ fragilisants et des propriétés mécaniques supérieures à celle des AMF Cu-Zn-Al (Guénin 1995 ; Moniroli, 2001). En relation avec notre sujet, nous allons nous pencher sur les propriétés directement en rapport avec un usage endodontique.

Nous pourrions imaginer quelles perspectives d'avenir l'éventuelle implication clinique d'une telle association pourrait promettre : si l'alliage s'assimilait un jour à un concept d'instrument de finition canalaire ou d'aiguille d'irrigation, pourrait-il détrôner le Nickel-Titane ?

a. Propriétés mécaniques du CuAlBe monocristallin

i. La résistance à la fatigue du CuAlBe monocristallin

L'alliage CuAlBe monocristallin présente l'avantage d'une déformation élastique nettement supérieure au Nickel-Titane (NIMESIS, 2012), mais les alliages à base de cuivre sont en revanche très sensibles à la corrosion/oxydation et leur utilisation est limitée à des applications sous contraintes relativement faibles par rapport aux limites du NiTi, en raison de leur forte anisotropie élastique, entraînant une faible tenue en fatigue (Kaouache, 2006).

L'étude du comportement en fatigue des alliages à mémoire de forme est essentielle si le matériau est soumis à un fonctionnement cyclique répété. C'est la résistance à la fatigue qui va conditionner la résistance avant la rupture du matériau.

En endodontie, étant donné que les instruments sont utilisées en rotation continue, ils subissent cette fatigue par cyclage mécanique. Le passage inverse de la martensite à l'austénite n'est plus totale au cours des cycles et le matériau perd progressivement ses propriétés pseudo élastiques (Saint-Sulpice et coll., 2009). Avec le temps, la formation des plaquettes de martensite s'accompagne de défauts nommés dislocations, qui vont s'accumuler au cours des cycles et faire évoluer le comportement du matériau (Carma, 2001). On va observer des défauts de surface par perte de coalition (Gall et coll., 2001) et au niveau des interfaces martensite/austénite sur un monocristal.

La fatigue du CuAlBe se traduit donc par un changement de structure du matériau, par son durcissement, une évolution de la déformation plastique, l'amorçage de fissures, leurs propagations puis la rupture du matériau (Kaouache, 2006).

Dans une étude, on représente l'évolution de la courbe contrainte/déformation lors du cyclage en fatigue d'un monocristal de CuAlBe, à déformation imposée à 6% et à une température de 80°C. Les essais se font en déflexion sur un ressort de CuAlBe. Au fur et à mesure des cycles, on note que la superélasticité se détériore car les cycles deviennent fermés et la contrainte qui induit la transformation superélastique diminue. Un monocristal de CuAlBe ayant subi une usure par fatigue ne tolère donc plus des contraintes aussi importantes qu'à l'état neuf (figure 30) (Alhamany, 2005).

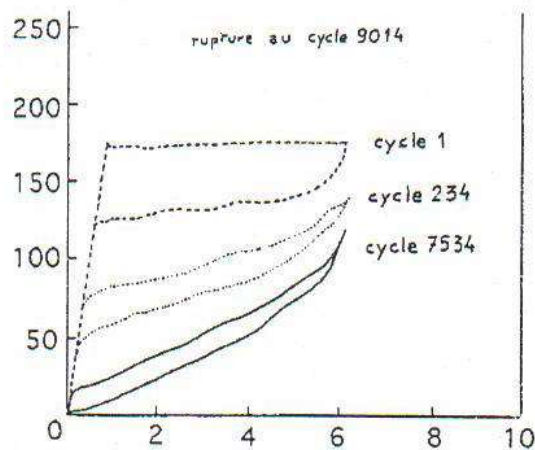


Figure 30 : Evolution des courbes contrainte/déformation (σ, ϵ) lors du cyclage en fatigue de CuAlBe monocristallin (Abdelilah ,2005)

La structure monocristalline de CuAlBe résiste mieux au cyclage mécanique que la forme polycristalline, en raison de l'absence des contraintes inter-cristaux (Siredey et coll., 2000) et de l'absence de joints de grain, qui constituent une source supplémentaire d'initiation de fissures.

Une étude de résistance thermoélastique menée à 50°C et 30°C a montré que l'alliage CuAlBe résistait mieux au cyclage mécanique à une température de 30°C, présentant un nombre de cycles avant rupture quasiment doublé (Casciati et Marzi 2010). Les résultats de cette étude souligneraient alors l'avantage de travailler en bouche avec des instruments en CuAlBe, puisque la température buccale avoisine les 35°C.

En revanche, plusieurs auteurs ont constaté la diminution de la contrainte de transformation σ_t dans le CuAlBe monocristallin au fur et à mesure du cyclage (Entemeyer, 1996 ; Siredey, 2000 ; Moreau, 1998 ; Lu et coll., 1996).

Concernant des essais de résistance à la fracture en torsion, il s'avère que le CuAlBe monocristallin ne soit pas aussi performant que le NiTi (Sittner et coll., 2003). Cela signifie que dans les canaux courbes et fins, étant donné que les contraintes en torsion sont plus importantes sur l'instrument, la fracture se produira plus rapidement sur un instrument en CuAlBe que sur un en NiTi.

Synthétiquement, nous pouvons établir que mis à part une qualité de déformation supérieure au NiTi, (grâce à une flexibilité supérieure) les propriétés mécaniques du CuAlBe monocristallin, bien qu'étant les plus satisfaisantes au sein des

alliages de la même famille, ne sont encore pas aussi performantes que celles du Nickel-Titane.

Les traitements de surface de l'alliage CuAlBe, ainsi que la réduction de la taille des grains, sont des procédés à l'étude qui tendent à améliorer les propriétés mécaniques, mais ne concernent que les formes polycristallines.

ii. La superélasticité du CuAlBe monocristallin

C'est la propriété mécanique d'intérêt pour un usage en thérapeutique endodontique. C'est ce qui permet au matériau de se déformer face aux contraintes intra-canales, puis de reprendre sa position initiale en fin de travail. La transformation martensitique se produit sous la contrainte, à température constante, à partir de 27°C (Baron M.P., 1998). L'alliage CuAlBe monocristallin possède une aptitude à la déformation d'une part supérieure à sa version polycristalline, mais d'autre part supérieure au Nickel-Titane (figure 31) (NIMESIS, 2012).

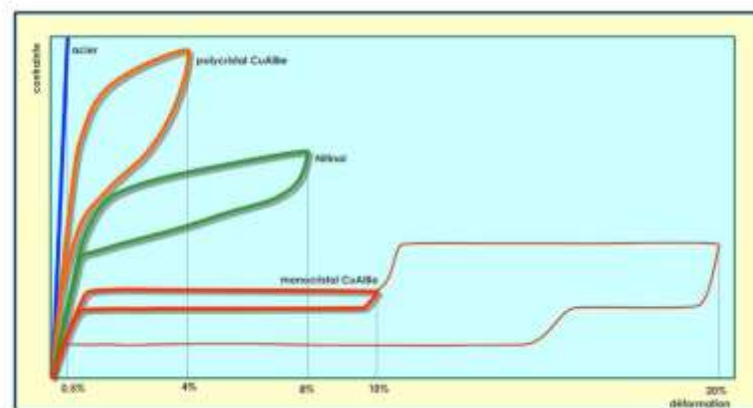


Figure 31 : Différence de comportement en traction d'alliages superélastiques comparativement à l'acier (NIMESIS, 2012).

iii. La résistance mécanique du CuAlBe monocristallin

La résistance mécanique de l'alliage CuAlBe est moins bonne que celle du Nickel-Titane. Sa dureté et sa rigidité sont assurées par la présence d'aluminium. Plus le pourcentage d'aluminium est important, plus le matériau est résistant.

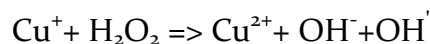
En effet, un pourcentage d'aluminium trop faible induit une martensite désordonnée ; inversement, pour des concentrations trop riches en aluminium, il se forme de la

martensite γ' et des précipités γ_2 qui fragilisent aussi l'alliage (Guénin, 1996). C'est l'ajout de béryllium qui permet l'obtention d'un bon compromis.

b. Propriétés antimicrobiennes de l'alliage CuAlBe monocristallin

Nous avons abordé les mécanismes biologiques du *contact killing* dans le II. D.2.e. Plusieurs réactions faisant interagir diverses formes ioniques du cuivre sont proposées dans la littérature afin de traduire l'aspect chimique de ce phénomène bactéricide : ce sont ces réactions que nous allons détailler, afin de comprendre leur enchainement et le résultat de leur synergie.

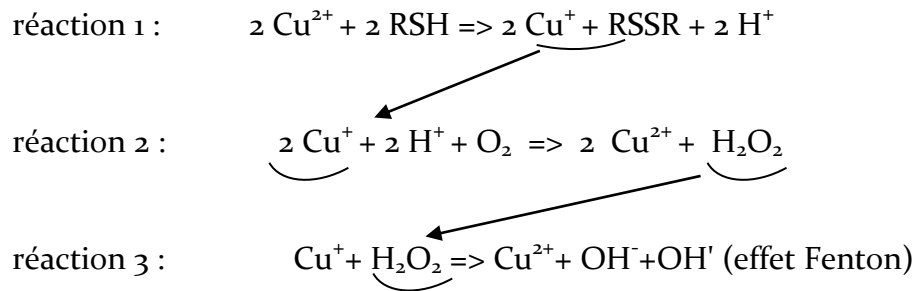
L'effet Fenton serait le mécanisme en chef de la mort cellulaire par contact avec le cuivre ; cette réaction se produit entre le cuivre et le peroxyde d'hydrogène intracellulaire selon la formule :



C'est une réaction d'oxydation avancée aboutissant à la formation du radical hydroxyle OH^\cdot , qui est le deuxième oxydant le plus puissant, après le fluor. Les radicaux hydroxyles OH^\cdot produits sont particulièrement délétères sur l'ADN bactérien, car ils sont capables d'engendrer des mutations génétiques et des dégradations sur les brins nucléiques. D'autre part, ils engendrent des altérations de la paroi bactérienne en agissant sur les lipides et protéines de membranes (Yoshida et coll., 1993).

Comme dans les cellules eucaryotes, le glutathion permet aux cellules bactériennes de résister au stress oxydant et participe à la détoxification cellulaire (Smirnova et Oktyabrsky, 2005). Les propriétés oxydo-réductrices du couple $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ participent également dans des réactions bactéricides par l'oxydation de groupes sulfhydriles présents sur les cystéines du glutathion (Grass et coll., 2011). L'oxydation des groupes sulfhydriles conduit à la synthèse d'un glutathion aberrant, qui par conséquent ne remplit plus son rôle de protection cellulaire.

Par ailleurs, le Cu^+ produit à l'issue de la réaction 1 va constituer l'un des réactifs de la réaction 2 ; ce qui permet leur enchainement :



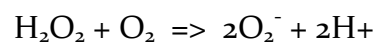
Nous remarquons que la réaction 2 produit du peroxyde d'hydrogène : elle permet donc d'entretenir l'effet Fenton, ainsi que par conséquent la production de radicaux hydroxyles OH'.

En revanche, il n'a toujours pas été clairement établi dans quelle mesure l'enchaînement des trois réactions décrites ci dessus se produit dans un cadre biologique, donc sans apport de peroxyde d'hydrogène extérieur. En effet, les cellules tentent de garder le peroxyde d'hydrogène intracellulaire à un taux le plus bas, afin de ne pas être débordées par un stress oxydant qui leur serait fatal.

L'effet Fenton ne peut donc pas être le principal mécanisme naturel sur lequel repose la toxicité par le cuivre ; bien qu'il soit fréquemment revendiqué comme tel (Macomber et coll.,2009).

Dans notre étude expérimentale, l'alliage CuAlBe monocristallin est utilisé en association avec du peroxyde d'hydrogène qui constitue le milieu réactionnel : dans nos conditions, ce dernier sera donc présent par introduction externe. L'effet Fenton se produira donc aisément.

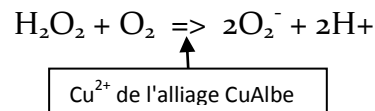
De plus, l'oxydation du peroxyde d'hydrogène conduit à la formation de l'ion superoxyde O_2^- suivant la réaction suivante :



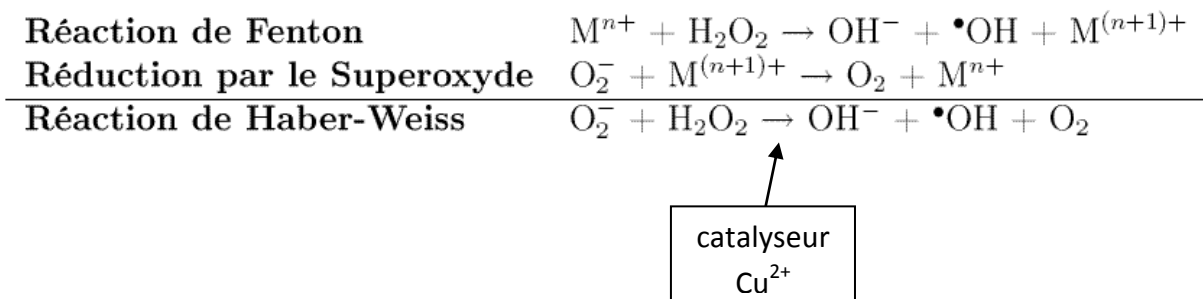
L'ion superoxyde appartient aux espèces réactives oxygénées, plus communément nommées "radicaux libres". Il est naturellement produit dans toutes les cellules des êtres vivants respirant le dioxygène et il est dangereux pour les cellules vivantes au même titre que les autres radicaux libres.

Les radicaux libres produits lors de nos manipulations seraient donc issus de l'effet Fenton, mais aussi de l'oxydation du peroxyde d'hydrogène.

Par ailleurs, des études sur *Escherichia coli* ont révélée que combiner le peroxyde d'hydrogène avec des métaux, notamment des alliages de cuivre, permettait d'augmenter l'efficacité bactéricide du peroxyde d'hydrogène, tout en diminuant sa concentration : le cuivre sous forme oxydé Cu^{2+} , est un activateur de la production des radicaux libres émis par le peroxyde d'hydrogène qui engendrent des dommages sur l'ADN et sur la paroi bactérienne. Le cuivre composant l'alliage aurait alors aussi le rôle de potentialiser l'effet du peroxyde d'hydrogène (Hartemann et coll., 1995) :



Pour finir, la toxicité de l'ion superoxyde peut également s'exprimer par le biais de la réaction de Haber-Weiss : l'ion superoxyde a la possibilité de réagir avec le peroxyde d'hydrogène de la réaction de Fenton, pour aboutir ici encore à la synthèse du radical hydroxyle OH^\bullet hautement réactif. Cette réaction est catalysée par les ions de certains métaux comme le cuivre ou le fer, qui augmenterait ainsi l'effet de la réaction (Sawyer et Donald, 2014).



Nous saisissons donc que l'efficacité bactéricide de la combinaison entre l'alliage CuAlBe monocristallin et le peroxyde d'hydrogène résiderait dans l'association synergique de l'ensemble des réactions présentées ci-dessus.

c. Biocompatibilité du CuAlBe monocristallin

La biocompatibilité d'un matériau est régie par deux mécanismes : les effets du matériau sur le milieu et les effets du milieu sur le matériau. Ces interactions se déroulent non seulement autour du matériau mais également à distance, suivant les

éléments relargués. De plus, la résistance à la corrosion/oxydation d'un alliage et la toxicité des métaux qui le composent sont des éléments déterminants de biocompatibilité. Il est impératif de noter que la biocompatibilité de l'alliage a ses propres caractéristiques, différentes de celles de ses composants isolés.

Nous avons pu détailler dans la partie précédente, les incidences biologiques de chacun des composants de l'alliage. L'aluminium et le béryllium sont les principaux responsables de la considération actuelle de l'alliage, comme étant non biocompatibles. Cette considération est d'autant plus marquée, que les études le comparent au nickel-titane mieux connu, mais dont le relargage de nickel pose toujours des problèmes dans l'usage intra-corporel (stent, implant articulaire...) (Patoor, 2006).

L'aluminium par les controverses actuelles, soulève le problème de cancérogénicité, de toxicité et dégénérescence cellulaire à moyen/long terme (Alzheimer, sclérose en plaque...).

Le béryllium présente un danger principal de par ses formes volatiles d'intoxications : vapeur ou poussière. Ces formes sont difficilement maîtrisables et facilement contractables par l'opérateur, notamment par inhalation.

IV. ÉTUDE DU RELARGAGE D'ÉLÉMENTS MÉTALLIQUES EN MILIEU HUMIDE

A. Objectifs de notre travail

Nous avons établi dans la partie précédente les intérêts théoriques potentiels que représenterait l'alliage CuAlBe monocristallin, appliqué à une activité clinique endodontique. Ses propriétés mécaniques remarquables en termes de superélasticité, supérieures au NiTi (NIMESIS,2012), présenteraient un avantage notoire dans le travail des canaux en technique de rotation continue. De plus, les propriétés antibactériennes portées par le cuivre présent à plus de 70% au sein de l'alliage, laissent espérer une diminution des échecs de traitement causés par *Enterococcus faecalis* (Prado et coll., 2012), désigné souvent comme responsable principal de ces échecs (Moller et coll., 2004).

Dans la pratique endodontique, bien que le peroxyde d'hydrogène ne soit plus utilisé seul en solution intracanalair à cause d'un spectre limité aux bactéries anaérobies strictes et facultatives (Karunakaran et coll., 2011), il s'avère posséder une efficacité contre *Enterococcus faecalis*.

Par ailleurs, la combinaison entre le peroxyde d'hydrogène et des alliages de cuivre augmenterait l'efficacité bactéricide du peroxyde d'hydrogène, tout en diminuant sa concentration (Hartemann et coll., 1995) ; ce qui contribuerait à pouvoir utiliser le peroxyde d'hydrogène dans des concentrations compatibles avec la sécurité du patient.

L'ensemble de ces données supposent que l'alliage agirait au contact du peroxyde d'hydrogène. La libération d'éléments métalliques ioniques suite au pouvoir oxydant du peroxyde d'hydrogène sur l'alliage CuAlBe monocristallin, pourrait avoir des conséquences directes sur la santé du patient.

Le milieu réactionnel contient les ions métalliques qui remontent vers la surface coronaire lors de l'irrigation en endodontie. L'ensemble ne sera pas déversé dans le milieu buccal pendant ces phases d'irrigation, qu'à la seule condition d'utiliser un champ opératoire étanche, qui isolerait la dent du reste de l'organisme. En revanche, si

la pose correcte du champ opératoire n'est pas respectée, le patient risquerait alors d'ingérer les résidus relargués.

D'autre part, s'il se produit une injection accidentelle de l'irrigant dans les tissus périapicaux, les résidus métalliques risqueraient de diffuser dans le sang via le périapex. Nous savons que la présence de métaux dans l'organisme, en concentration suffisamment importante peut avoir différentes conséquences : des influences chroniques par intoxication aux métaux lourds, qui conduisent au développement de symptômes neurologiques ou de maladies inflammatoires chroniques ; soit des phénomènes de sensibilisations rapides de types allergiques, irritations locales, et légères inflammations (Lebedev et coll., 2011).

Les éléments ioniques relargués sont aussi capables de créer des colorations dentaires par tatouages des tissus dentinaires ou amélaire, dans le cas où une irrigation suffisante (effet de chasse) ferait défaut.

On parle alors de dyschromies par colorations exogènes (Faucher, 2001). Selon la classification de Nathoo, la coloration entraînée par le relargage de métaux correspondrait à un type N₁ : "*le chromogène adhère à la surface dentaire et colore directement la dent*" (Nathoo, 1997). Effectivement, les ions métalliques sont capables de se combiner à la pellicule exogène acquise et produire une coloration de surface ; on décrit une coloration verte pour ce qui concerne l'oxydation du cuivre présent dans les alliages utilisés en art dentaire (Hattab, 1992).

D'autre part, il existe des colorations dentinaires internes suite au dépôt de chromogènes métalliques (corrosion, oxydation) qui pénètrent dans le tissu dentinaire via les canalicules ; les colorations engendrées sont permanentes et sont donc très difficiles à éliminer (Bonnet et Louis, 2003). Selon le métal en cause, la coloration diffère (Watts et Addy, 2001).

Les amalgames à haute teneur en cuivre (HCSC, cuivre >12%) sont les plus performants en terme de propriétés mécaniques et électrochimiques : la résistance à la corrosion ainsi que la diminution du rejet de mercure est améliorée par l'adjonction de cuivre en quantité supérieure (SFBD, 2009). Les tatouages dentinaires gris-bleutés issus de la corrosion des amalgames seraient cependant dus à l'oxydation de l'argent et non pas au cuivre qu'ils contiennent (Vanherle et Coll., 2000).

Les taux de relargage ionique sont plus faibles pour les alliages nobles à base d'or (Au-Ag-Cu >10%), utilisés pour certains inlays-cores esthétiques, que pour les autres alliages. Toutefois, la libération de cuivre y est souvent mise en évidence en induisant une coloration rouge dentinaire (Shepard et coll., 1983). De plus, la dissolution de cuivre apparaît augmentée lorsque sa proportion dans l'alliage est supérieure ou égale à celle de l'or (Wataha et Malcom., 1996).

Le laiton, alliage de cuivre et de zinc, se rencontre encore sous forme de "screw-post" dorés, mais ne devraient plus être utilisés en bouche compte tenu de leur corrodabilité intense (Archien et Cheylan, 2005).

Tous ces éléments nous ont amené à mesurer, au cours de plusieurs manipulations *in vitro*, le dosage des éléments éventuellement relargués à partir du CuAlBe monocristallin en contact avec le peroxyde d'hydrogène.

Au cours des diverses manipulations, nous faisons varier plusieurs paramètres afin d'étudier leur incidence sur le relargage des éléments ioniques : la concentration en peroxyde d'hydrogène, le temps de contact, la qualité du fil d'alliage et la nature de l'alliage. Les résultats du dosage des éléments nous permettront d'évaluer leurs possibles incidences sur l'organisme humain, suite à une accidentelle contamination.

Pour parvenir à des mesures et émettre des hypothèses concordantes avec une possible application clinique, il était nécessaire d'effectuer des manipulations préliminaires afin d'obtenir les milieux réactionnels en adéquation avec notre problématique : obtenir l'effet bactéricide maximal de la combinaison peroxyde d'hydrogène/alliage CuAlBe monocristallin sur *Enterococcus faecalis*, tout en faisant usage de concentrations en peroxyde d'hydrogène compatibles avec la santé du patient.

C'est pourquoi, nous avons réalisé dans un premier temps les manipulations relatives à l'étude de l'effet bactéricide du peroxyde d'hydrogène associé à l'alliage CuAlBe sur *Enterococcus faecalis*. Ce sont ces milieux réactionnels obtenus par contact entre le peroxyde d'hydrogène et l'alliage, qui nous ont servis ensuite de support pour mesurer le relargage d'ion cuivre et aluminium à diverses concentrations de peroxyde d'hydrogène, dans diverses conditions.

Les valeurs des concentrations et les temps de contacts ont donc été choisis dans l'optique de garantir un effet bactéricide, tout en recherchant la biocompatibilité requise pour pouvoir transposer les résultats à un concept novateur en endodontie.

A l'issu de ce travail nous espérons pouvoir caractériser les risques encourus par le patient lors d'une possible application clinique et présenter un avis éclairé sur la biocompatibilité ou non, d'un tel prototype endodontique.

B. Matériels et méthodes

1. Matériels

a. Préparation des réactifs et des milieux

Les réactifs et les milieux sont préparés suivant une procédure spécifique propre au laboratoire.

➤ Milieu CASO agar

Les cultures d'*Enterococcus faecalis* sont réalisées sur milieu gélosé CASO-Agar.

Sa composition (MERCK, Darmstadt, ALLEMAGNE) pour 1 L d'eau déminéralisée est la suivante :

Peptone de caséine 15 g

Peptone de farine de soja 5 g

Chlorure de sodium 5 g

Agar-agar 15 g

Le milieu est préparé en réhydratant 40 g de poudre CASO-Agar dans 1 L d'eau déminéralisée. Il est stérilisé par autoclavage pendant 15 min à 121°C, son pH est contrôlé après autoclavage, il doit être de $7,3 \pm 0,2$.

Le milieu peut se conserver, à 5 ± 3 °C, 6 mois en bouteille, et un mois maximum une fois qu'il a été coulé en boîte de pétri (20 mL pour une boîte de pétri de 90mm).

➤ Tampon PBS (phosphate buffered saline) pH 7.4

Cinq pastilles de tampon PBS (SIGMA, St. Quentin Fallavier , FRANCE, P-4417) sont diluées dans 1 L d'eau apyrogène stérile (Braun-Fandre, 610277). Le milieu est stérilisé par filtration sur une cloche Sterivex de 0,22 µm de porosité (Millipore, Île-de-France, FRANCE, SVGPB1010). Le milieu est stocké à 5 ± 3 °C pendant 1 mois maximum.

➤ HEPES (ou acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique)

Un volume de 100 mL d'une solution fille à 40mM est préparé par dissolution de 9.532g d'HEPES en poudre (SIGMA, St. Quentin Fallavier , FRANCE, H-4034) dans 100 mL d'eau apyrogène stérile (B-Braun Medical). La solution est stérilisé par filtration sur filtre Millex de 0.22µm de pore (Millipore, Île-de-France, FRANCE, SLGPO33RS). Elle est ensuite stockée 15 jours maximum à $5^{\circ} \pm 3^{\circ}$ C. L' HEPES favorise la genèse de radicaux libres.

➤ Eau peptonée saline (EPS)

L'EPS est préparée à partir de 1 g de peptone de caséine et de 8.5 g de chlorure de sodium et d'eau déminéralisée qsp 1000 mL. Elle est utilisée pour la croissance des cultures bactériennes, comme diluant pour le dénombrement des micro-organismes sur milieu de culture, sous la recommandation des normes AFNOR.

➤ Catalase de foie de bœuf

Une solution à 1 mg/mL est réalisée extemporanément à partir de catalase (SIGMA, St. Quentin Fallavier, FRANCE, C-1345) solubilisée dans du tampon PBS. La solution est stérilisée par filtration sur filtre Millex de 0.22µm de pore (Millipore, Île-de-France, FRANCE, SLGPO33RS).

➤ Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Nous disposons au laboratoire d'une solution mère d'H₂O₂ (Sigma Aldrich, St. Quentin Fallavier, FRANCE, H-1009) d'une concentration de 14.8M (35%). Deux dilutions sont effectuées, l'une au 1/10^e et l'autre au 1/100^e, afin de permettre l'utilisation de faibles concentrations d'H₂O₂ lors de l'expérimentation. Etant donné l'instabilité du peroxyde d'hydrogène, ces dilutions sont effectuées juste avant les manipulations.

➤ La souche bactérienne : *Enterococcus faecalis*

La souche bactérienne utilisée est la souche référencée d'*Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (American Type Culture Collection). Cette souche connue, nous permet d'obtenir des résultats plus homogènes et plus standards qu'avec d'autres souches ayant pu subir des mutations génomiques.

Dans un travail précédemment réalisé au laboratoire, la souche a déjà été aliquotée. Pour ce faire, la souche de référence a été remise en culture sur gélose CASO et placée à l'étuve à 36°C ± 1°C pendant 44h ± 4h. Cela permet d'obtenir un lot de semences de longue conservation de première génération qui est stocké en chambre froide à -75°C ± 5°C durant deux ans maximum dans un bouillon de congélation contenant du glycérol. Une semence de longue durée a été décongelée puis aliquotée en un nombre d'aliqots suffisants, permettant la réalisation de toute l'expérimentation. Ces aliqots, de deuxième génération, sont conservés au congélateur à -20°C ± 2°C dans le même milieu.

➤ Les tiges d'alliage

L'alliage utilisé est un alliage à mémoire de forme (AMF), monocristallin, constitué de 87.88% de cuivre, 11.6% d'aluminium et 0.52% de Béryllium, produit sous forme de tiges de 5cm de long et 1mm de diamètre, par l'entreprise NIMESIS Technology (Metz, FRANCE).

Des témoins cuivre (99.999%) et aluminium (99.999%) également sous forme de tiges d'alliage pur de 1mm de diamètre ont été également utilisés. Ils sont présents afin de démontrer l'avantage de l'utilisation de l'alliage, par rapport à des fils monométalliques purs.

2. Méthodes

a. Préparation de la solution bactérienne

Placer un aliquot de deuxième génération à l'étuve à $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant $24\text{h} \pm 4\text{h}$ afin de le décongeler et de relancer la croissance. Réaliser deux étalements de 100 μL sur gélose CASO, ainsi qu'un isolement. L'isolement est réalisé par la technique de l'épuisement et permet de vérifier la pureté de la souche bactérienne utilisée avant de l'utiliser. Ce contrôle doit être fait systématiquement pour chaque aliquot utilisé. Les trois boîtes sont placées à $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant $44\text{h} \pm 4\text{h}$. On obtient alors une souche de troisième génération.

Suspendre le tapis bactérien, à l'aide d'un racleur stérile, dans 10 mL d'eau d'EPS. On mesure la densité optique de la solution bactérienne obtenue. On cherche à avoir une absorbance comprise entre 0.2 et 0.3 unités de DO par l'intermédiaire de dilutions adéquates. Cela nous permet de doser théoriquement la concentration de notre suspension bactérienne en suivant la norme : $A_{620\text{nm}} 0.2 > A_{\text{essai}} > 0.3$ UA pour obtenir 10^8 à 10^9 bactéries/mL (Norme AFNOR).

➤ Titration de la souche

Le titre bactérien théorique à été obtenu grâce à la méthode précédente consistant à mesurer l'absorbance à 620 nm de la suspension bactérienne. Afin d'obtenir le titre réel de la souche, une titration par un dénombrement par incorporation est réalisé. Pour ce faire, des dilutions décimales en cascade sont effectuées, à partir de la solution bactérienne dont l'absorbance est comprise entre 0,2 et 0,3. On choisi les dilutions afin de pouvoir dénombrer le nombre de colonies

présentes ; aux trois dilutions 10^{-5} , 10^{-6} et 10^{-7} le nombre de colonies se situe entre 10 et 300. Pour les dilutions à 10^{-1} et 10^{-2} on se situe à plus de 10 000 colonies et pour la dilution 10^{-3} on estimait à plus de 1000 colonies. Pour chacune de ces dilutions, deux dénombrements par incorporation sont réalisés. Les boîtes sont placées à l'étuve à $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant $44\text{h} \pm 4\text{h}$, au bout desquelles le dénombrement est effectué. Bien sûr avant chaque titration, un contrôle de routine de la pureté de la souche est effectué par étalement.

b. Effet bactéricide du complexe alliage-peroxyde d'hydrogène

➤ Procédure de nettoyage des tiges

Les tiges d'alliages et témoins ne peuvent pas être stérilisées car cela entraînerait leur trop forte oxydation, ce qui modifierait leurs propriétés. C'est pour cette raison que le protocole de décontamination et de nettoyage suivant a été mis en place :

- Mettre des gants et les passer à l'alcool,
- Tremper les tiges 15 minutes dans une solution à 20 mg/L de chlore (ajouter directement dans les tubes) :
 - Berlingot de 250 mL d'eau de javel à 9.6% diluée au $\frac{1}{4}$ avec de l'eau du robinet ou déminéralisée,
 - Stocker la solution d'eau de javel dans un flacon à l'abri de la lumière (type flacon brun), noter la date de préparation,
- Rincer abondamment à l'eau du robinet (10 minutes en agitant plusieurs fois),
- Tremper 2h dans une solution d'Aquet à 1% (Sigma Aldrich, St. Quentin Fallavier, FRANCE)
- Rincer abondamment à l'eau du robinet (10 minutes en agitant plusieurs fois),
- Changer de gants et les passer à l'alcool,
- Gratter à l'aide d'un tampon abrasif (scratch vert),
- Changer de gants et les passer à l'alcool,
- Rincer trois fois à l'eau Milli-Q® (eau ultra pure),
- Rincer deux fois à l'eau apyrogène stérile (eau FANDRE, France)

- Sécher à l'étuve à 46°C (sur du papier aluminium rincé à l'alcool),
- Changer de gants et les passer à l'alcool,
- Stocker dans un récipient stérile (flacon de prélèvement de 60mL),
- Noter PROPRES, le type de tige, le nombre d'utilisation, ainsi que la date de nettoyage.

➤ Mode opératoire

La tige d'alliage est déposée au fond d'un tube à essai. On ajoute ensuite le tampon PBS, 1 mL d'HEPES, le volume nécessaire de peroxyde d'hydrogène, en fonction de la concentration finale voulue, et enfin 1 mL de suspension bactérienne. Le volume final du milieu expérimental est de 10 mL, on ajuste le volume de PBS en fonction du volume d'H₂O₂. Après chaque ajout, une agitation au vortex est effectuée. L'ordre d'addition des différents réactifs doit être respecté.

On place les tubes dans un bain marie à 37°C ± 1°C durant 2 minutes ou 30 secondes selon le temps de contact voulu.

Une fois le temps de contact écoulé, on ajoute 1 mL de catalase à 1 mg/mL (à raison de 25mg de catalase déshydratée, diluées dans 25mL de PBS) afin de neutraliser le peroxyde d'hydrogène. On prélève 1 mL de la suspension et après agitation, on effectue un étalement par incorporation dans 20 mL de gélose CASO.

Les boîtes ainsi coulées sont mises à incuber dans une étuve à 37°C ± 1°C pendant 44h ± 4h, le dénombrement peut être ensuite effectué.

Le nombre réel de bactéries en UFC/mL est ensuite calculé à partir du nombre de colonies obtenues, divisé par le volume réel étalé, en prenant compte de la dilution effectuée.

C. Étude du relargage d'éléments métalliques Cu et Al en milieu oxydant par le spectrophotomètre d'émission atomique à plasma d'argon (SEA-DCP)

1. Objectifs

L'objectif de notre étude est de pouvoir connaître la concentration des éléments spécifiques Cu et Al présents dans la solution obtenue, après relargage suite à la réaction entre le peroxyde d'hydrogène, la solution bactérienne et le fil de CuAlBe.

Le béryllium, très volatile, ne pourra pas être dosé en solution à cause de son caractère fortement toxique et donc de la dangerosité encourue lors de sa manipulation.

La concentration spécifique des éléments cuivre et aluminium issus de l'alliage seront recherchés et mesurés séparément, pour chaque paramètre testé.

Nous avons insisté dans la partie "**A. Objectifs de notre travail**", sur la portée biomédicale des résultats obtenus : lors d'un traitement endodontique, le milieu contient potentiellement des ions métalliques qui risquent de diffuser dans les tissus périodontaires suite à une injection non intentionnelle. Les risques d'ingestions sont eux évitables, si l'opérateur respecte scrupuleusement la pose du champ opératoire étanche autour de la dent traitée, ainsi que la mise en place d'une aspiration efficace.

Selon les taux de relargage obtenus, il sera possible d'évaluer les possibles impacts biologiques d'un tel accident.

2. Principe de fonctionnement du spectrophotomètre d'émission atomique à plasma d'argon (SEA-DCP)

C'est une technique analytique qui est basée sur la mesure quantitative de l'émission optique d'un rayonnement, obtenu après excitation des atomes introduits dans un plasma d'argon. Cette intensité lumineuse est convertie par l'appareil en un certain nombre d'impulsions électriques, caractéristiques d'une concentration de l'élément étudié, dont la longueur d'onde aura été présélectionnée.

En effet, lors d'un apport extérieur de haut niveau d'énergie (apport thermique), les atomes ou les molécules sont excités et doivent repasser à des niveaux plus bas d'énergie en émettant des radiations ; l'état excité les déstabilise et leur but est de revenir à un état fondamental, pour retrouver un équilibre atomique.

Les atomes excités se désintègrent donc pour revenir à un niveau énergétique plus bas. Ils se destituent ainsi du surplus d'énergie en produisant un rayonnement photonique d'énergie $h\nu$ et dont la longueur d'onde λ , est spécifique de l'élément dosé. L'intensité de ce rayonnement, convertie en impulsions électriques reconnues par le spectrophotomètre, est proportionnelle à la concentration de l'élément en solution.

Dans le cas des éléments Cu et Al, une haute énergie est nécessaire pour stimuler l'émission énergétique : la technique d'émission à plasma d'argon répond à ce besoin.

L'état d'extraction des éléments doit être obligatoirement liquide. Le liquide est injecté au niveau d'un nébuleuseur, à travers un flux d'Argon porté à une très haute température (de 7000°C à 8000°C). Le liquide sera ainsi projeté sous forme de gouttelettes : c'est le phénomène de nébulisation.

La haute température est créée par un arc électrique à l'aide de trois électrodes (une cathode de tungstène et deux anodes en graphite). Cet arc électrique apporte les conditions suffisantes pour la dissociation des molécules de l'échantillon et pour l'excitation des atomes (voir figure 32).

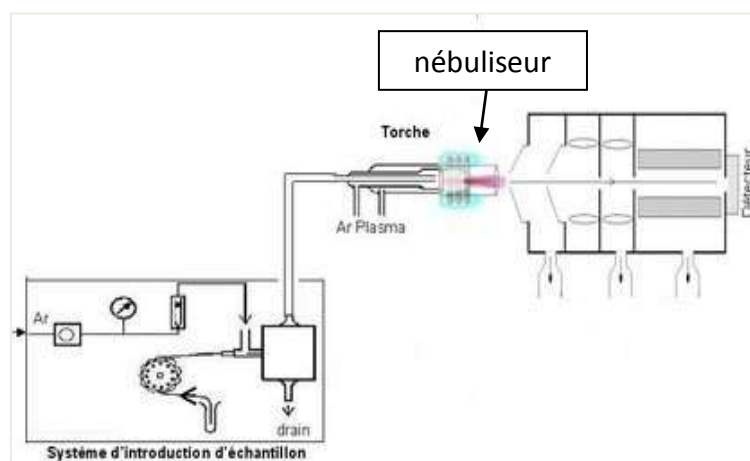


Figure 32 : schématisation d'un spectrophotomètre d'émission atomique à plasma d'argon (d'après Bernard Faivre, 2013)

3. Avantages de la méthode de dosage :

L'intérêt de cette méthode analytique pour le dosage de nos éléments cuivre et aluminium est lié à plusieurs points :

-la température utilisée comme source d'excitation est suffisamment élevée pour permettre la rupture de toutes les liaisons chimiques et c'est donc la totalité de l'élément sous sa forme atomique qui est dosé : c'est donc une méthode très précise.

-la limite de détection est très basse

-la méthode présente une linéarité correcte, ce qui permet de réaliser des dosages dans une gamme de concentration étendue. Pour nous, les gammes de concentrations seront étalonnées pour la fourchette [$0\mu\text{g.L}^{-1}$ - $10\ 000\mu\text{g.L}^{-1}$].

-les mesures sont très reproductibles et les déviations standards de l'ordre de quelques $\mu\text{g.L}^{-1}$

4. Étalonnage de l'appareil et réalisation des dosages

Pour pouvoir mesurer la concentration en solution de l'élément recherché, il est nécessaire avant toute mesure, de procéder à un étalonnage du spectrophotomètre relatif à l'élément cherché.

Entre les mesures de deux éléments différents, il faudra étalonner à nouveau le spectrophotomètre pour obtenir les nouveaux dosages et fixer la nouvelle longueur d'onde spécifique à l'élément cherché.

Les longueurs d'ondes de chaque élément, associées à des gammes de concentrations, sont répertoriées dans un classeur. Cette longueur λ sera sélectionnée sur le spectrophotomètre, par réglage de fentes qui vont réguler le passage d'un faisceau lumineux. Ainsi réglée, elle restera fixe tout au long des mesures pour cet élément.

Chaque élément chimique possède une (ou plusieurs) longueur d'onde précise ; celles choisies selon les concentrations attendues sont :

Eléments chimiques	Longueur d'onde (nm)	Limite de détection ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
Aluminium	396,15	2,0
Cuivre	327,40	2,0

L'étalonnage se fait à l'aide de 2 solutions aqueuses : un point haut (concentration maximale de l'élément préparée à partir d'une solution étalon ultra-pure de l'élément) puis un point bas (concentration nulle de l'élément ; préparée avec de l'eau ultra-pure). Cela va servir à obtenir une courbe d'étalonnage (figure 33).

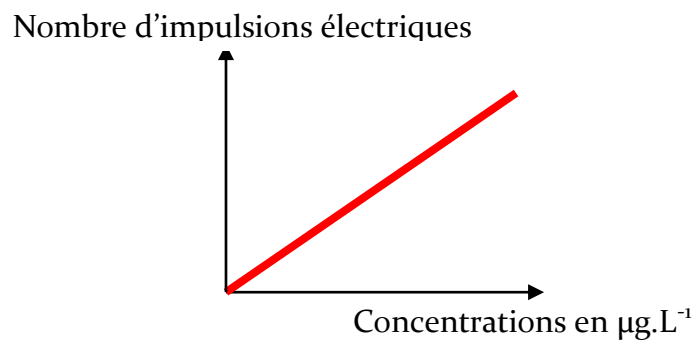


Figure 33 : allure d'une courbe d'étalonnage obtenue pour un élément donné

Ainsi, lors du passage des différentes solutions testées dans le nébuliseur, il va y avoir l'émission d'un rayonnement d'intensité I , perçue par le spectrophotomètre sous forme d'impulsions électriques. Ce nombre d'impulsions électriques correspond directement à une concentration, par report des mesures sur la courbe d'étalonnage obtenue pour l'élément recherché.

5. Conditions de mesure

Afin de pouvoir mesurer le taux de relargage des éléments métalliques en milieu oxydant, il nous est nécessaire de nous remettre dans les conditions expérimentales relatives à notre problématique initiale.

En effet, l'objectif de première intention est de cibler l'intérêt potentiel de l'alliage CuAlBe monocristallin dans les échecs endodontiques et particulièrement ceux causés par *Enterococcus faecalis*. Ainsi, les travaux précédemment réalisés sur l'efficacité

bactéricide du complexe ont testés différentes concentrations de peroxyde d'hydrogène combiné à l'alliage, pour trouver la concentration la plus efficace contre la bactérie, tout en garantissant la sécurité pour le patient (absence d'irritations et brûlures causé par le peroxyde d'hydrogène).

Pour recréer des conditions en adéquation avec nos objectifs, ces concentrations en peroxyde d'hydrogène seront donc utilisées comme base pour notre étude. Une fois ces milieux d'intérêts obtenus, nous chercherons à y mesurer la quantité d'éléments métalliques présents, après réaction avec le peroxyde d'hydrogène et la souche bactérienne.

Selon les quantités retrouvées, nous pourrons émettre des hypothèses quant à leur éventuelle incidence sur les tissus périodontaires et sur l'organisme.

Cela explique pourquoi chacune de nos mesures au spectrophotomètre est précédée d'une manipulation, faisant réagir diverses concentrations efficaces de peroxyde d'hydrogène combiné à l'alliage sur la souche bactérienne et ce, pendant deux temps de contact : 2 minutes et 30 secondes ; temps de contact choisis suite aux travaux précédents de laboratoire, car transposables à la durée d'un traitement endodontique, tout en conservant l'effet bactéricide souhaité.

Les résultats de bactéricidie obtenus à l'issue de ces manipulation doivent permettre de vérifier que nous trouvons les mêmes taux d'abattelements que les travaux précédents et arrivons aux mêmes constatations. Les résultats obtenus à chaque fois sont bien ceux escomptés : plus le temps de contact et la concentration augmentent, plus l'effet bactéricide du complexe alliage/ peroxyde d'hydrogène est efficace.

D. Résultats

Nous avons réalisé dans un premier temps les manipulations relatives à l'étude de l'effet bactéricide du peroxyde d'hydrogène associé à l'alliage CuAlBe sur *Enterococcus faecalis*. Les milieux réactionnels obtenus par contact entre le peroxyde d'hydrogène et l'alliage nous ont servis ensuite de support pour mesurer les taux de cuivre et d'aluminium présents dans diverses conditions.

Le dosage des taux de béryllium relargués dans le milieu ne peut pas être réalisé du fait de son caractère volatile (Fireman et coll., 2006) et du fait de la dangerosité de la manipulation d'une solution pure de béryllium, nécessaire à l'étalonnage du spectrophotomètre. L'inhalation de particules peut causer une sensibilisation de l'organisme par des réactions allergiques et/ou des maladies chroniques pulmonaires comme la béryllose pulmonaire (Fireman et coll., 2006).

Les paramètres testés pour évaluer leur influence sur le relargage du cuivre et de l'aluminium sont :

- la concentration en peroxyde d'hydrogène et le temps de contact
- la qualité du fil : fil neufs/fil usés
- la nature de l'alliage et des témoins : CuAlBe ; Cu et Al

1. Étude de l'activité bactéricide du complexe CuAlBe-peroxyde d'hydrogène sur *Enterococcus faecalis*

Dans un premier temps, nous avons reproduit les expériences réalisées par les travaux de laboratoire précédents, évaluant l'effet bactéricide du complexe $H_2O_2/CuAlBe$ sur *Enterococcus faecalis* à diverses concentrations de peroxyde d'hydrogène : 9,1mM (0,03%) ; 17mM (0,05%) ; 88,8mM (0,27%) ; 833mM (2,5%) ; 888mM (2,7%) et à différents temps de contacts : 30 secondes et 2 minutes.

L'influence de l'état d'oxydation du fil d'alliage CuAlBe, sur l'effet bactéricide du complexe $H_2O_2/CuAlBe$, a aussi été testée.

Les résultats obtenus concordent bien avec ceux des études précédemment menées au laboratoire :

-l'effet bactéricide du complexe $H_2O_2/CuAlBe$ croit avec l'augmentation de la concentration en peroxyde d'hydrogène ;

-l'effet bactéricide du complexe $H_2O_2/CuAlBe$ croit avec l'augmentation du temps de contact ;

-l'effet bactéricide du complexe $H_2O_2/CuAlBe$ diminue lors de l'utilisation de fils usés, donc oxydés.

2. Étude du relargage de l'élément cuivre en fonction de la concentration en peroxyde d'hydrogène et du temps de contact

Il est important de signaler que les moyennes ont été établies en retirant aux résultats par catégorie, le « bruit de fond ». C'est un phénomène expliquant qu'en l'absence de peroxyde d'hydrogène et d'alliage, on obtienne tout de même au spectrophotomètre un résultat d'impulsions lumineuses pour un élément recherché.

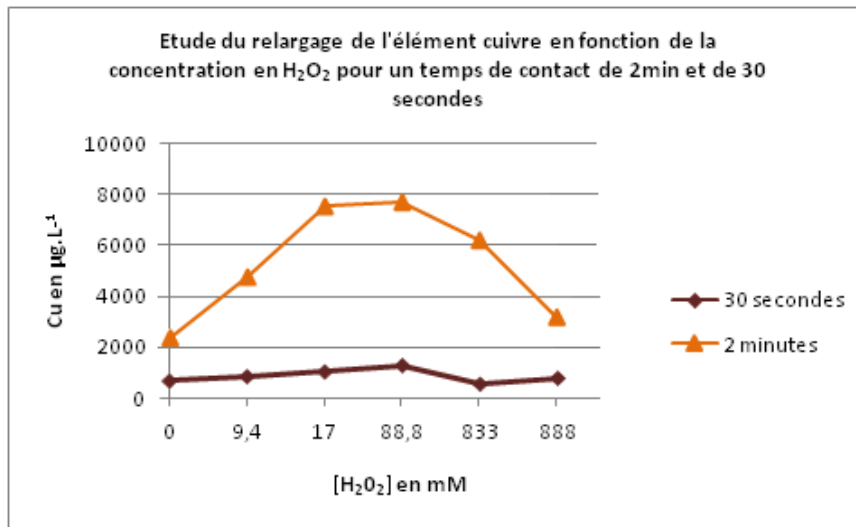


Figure 34 : Etude du relargage de l'élément cuivre en fonction de la concentration de H_2O_2 et du temps de contact 2 minutes, 30 secondes, fils neufs

a. Temps de contact de 2 minutes

A 9,4mM de H_2O_2 , le relargage est de 4732 $\mu g.L^{-1}$ et pour 17mM on observe 7500 $\mu g.L^{-1}$ soit une augmentation de 58%.

En revanche, en passant de 17mM de H_2O_2 à 88,8mM de H_2O_2 , soit en multipliant par 5 la concentration, on passe de 7500 $\mu g.L^{-1}$ à 7665 $\mu g.L^{-1}$ soit une augmentation seulement de 2%.

Le taux de relargage semblerait s'équilibrer et devenir plus constant lors du passage à ce niveau de concentration. On remarquera que le résultat à 88,8mM de H_2O_2 est d'ailleurs le taux maximum de relargage de l'expérience à 2 minutes.

En passant dans des gammes de concentrations élevées de H_2O_2 comme 833mM et 888mM, le relargage décroît fortement pour atteindre des taux mêmes inférieurs à ceux obtenus à 9,4mM :

- ⇒ A 833mM de H_2O_2 on observe 6171 $\mu\text{g.L}^{-1}$ soit une diminution de 24% par rapport à 88,8mM de H_2O_2 ;
- ⇒ A 888mM de H_2O_2 , on observe 3164 $\mu\text{g.L}^{-1}$ soit une diminution de 49% par rapport à 833mM de H_2O_2 et 59% par rapport à 88,8 mM de H_2O_2 ;

On remarque un comportement particulier du relargage de l'élément cuivre : les taux mesurés ne semblent pas suivre l'accroissement de concentration du peroxyde d'hydrogène.

b. Temps de contact de 30 secondes

Analysons les résultats :

- ⇒ à 9,4mM on note un relargage de 853 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de cuivre.
- ⇒ à 17mM on note 1045 $\mu\text{g.L}^{-1}$ soit une augmentation de 18%.
- ⇒ à 88,8mM on note 1302 $\mu\text{g.L}^{-1}$, soit une augmentation de 20% ; c'est le point maximum de l'expérience
- ⇒ à 833mM, on observe une diminution du relargage avec 546 $\mu\text{g.L}^{-1}$ soit une baisse de 58% du cuivre en solution, par rapport au cuivre relargué à 88,8mM.
- ⇒ à 888mM, on note un taux de 784 $\mu\text{g.L}^{-1}$; même si cela représente une légère augmentation par rapport au résultat trouvé à 833mM, il demeure inférieur de 8 % au taux qu'on retrouve à la plus petite concentration (9,4mM) et inférieur de 40% par rapport au résultat à 88,8mM.

Les taux de relargage de cuivre augmentent jusque 88,8mM de H_2O_2 , où se situe le point maximum de relargage de cuivre. Dans les gammes de concentrations importantes de H_2O_2 (833mM et 888mM), les taux diminuent à nouveau pour se retrouver à des niveaux inférieurs que pour les gammes des petites concentrations.

Enfin en comparant les données avec comme facteur variant « temps de contact », on observe que le taux de relargage est nettement inférieur à 30 secondes (867 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en moyenne), qu'à 2 minutes (5265 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en moyenne).

3. Étude du relargage de l'élément aluminium en fonction de la concentration en peroxyde d'hydrogène et du temps de contact

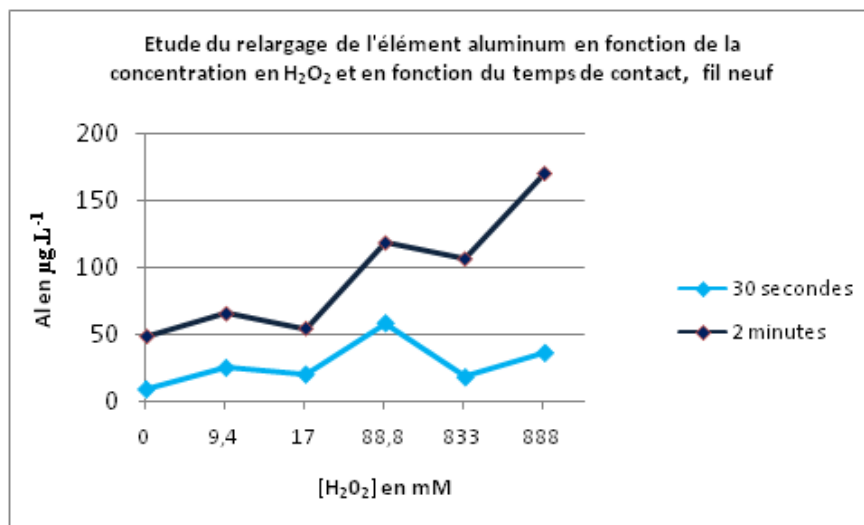


Figure 35 : Etude du relargage de l'élément aluminium en fonction de la concentration de H₂O₂ et du temps de contact 2 minutes et 30 secondes, fils neufs

a. Temps de contact de 2 minutes

- ⇒ à 9,4mM et 17mM de H₂O₂, les taux de relargage d'aluminium sont relativement similaires avec une moyenne de 60 $\mu\text{g.L}^{-1}$;
- ⇒ à 88,8mM on note une augmentation de 54 % avec un résultat de 118 $\mu\text{g.L}^{-1}$;
- ⇒ lors du passage à 833mM le résultat est quasi invariant avec une baisse de 10% par rapport au résultat à 88,8mM de H₂O₂ ;
- ⇒ à 888mM on observe une augmentation de 44% avec 170 $\mu\text{g.L}^{-1}$ par rapport au résultat à 833mM de H₂O₂.

La tendance générale en ce qui concerne l'aluminium pour ce temps de contact serait une augmentation du relargage lors du passage des petites concentrations de H_2O_2 à la gamme des concentrations plus importantes en H_2O_2 .

b. Temps de contact de 30 secondes

A ce temps de contact :

- ⇒ pour les petites concentrations 9,4mM et 17mM de H_2O_2 , les taux de relargage sont relativement constant et faibles, avec un moyenne de 22,5 $\mu g.L^{-1}$.
- ⇒ à 88,8mM on note un point culminant à 58 $\mu g.L^{-1}$
- ⇒ à 833mM on note une baisse à 18 $\mu g.L^{-1}$.
- ⇒ à 888mM il est de 36 $\mu g.L^{-1}$.

On observe que globalement, les taux de relargage d'aluminium pour les concentrations 88,8mM de H_2O_2 et 888mM de H_2O_2 sont plus élevés que pour les petites concentrations en H_2O_2 .

4. Étude du relargage des éléments cuivre et aluminium en fonction de l'état du fil d'alliage et du temps de contact

a. Temps de contact de 2 minutes pour l'élément cuivre

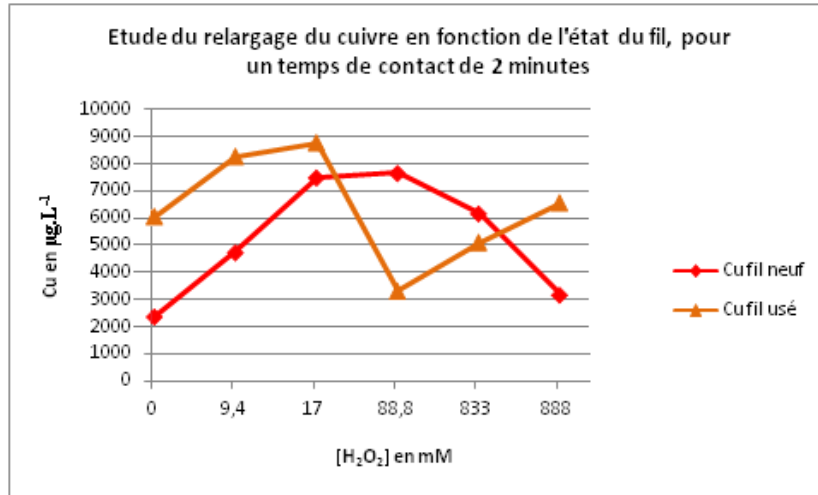


Figure 36 : Étude du taux de relargage de l'élément cuivre pour un temps de contact de 2 minutes en fonction de la qualité du fil

Toutes concentrations confondues, le relargage d'ions métalliques semble supérieur lorsque le fil a subi des usages multiples et donc que son état de surface est altéré par les oxydations successives.

• Fils neufs :

- => à 9,4mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 4732 µg.L⁻¹
- => à 17mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 7500 µg.L⁻¹
- => à 88,8mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 7665 µg.L⁻¹
- => à 833mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 6171 µg.L⁻¹
- => à 888mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 3164 µg.L⁻¹

• Fils usés :

- => à 9,4mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 8278 µg.L⁻¹
- => à 17mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 8781 µg.L⁻¹
- => à 88,8mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 3335 µg.L⁻¹
- => à 833mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 5125 µg.L⁻¹
- => à 888mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 6577 µg.L⁻¹

b. Temps de contact de 30 secondes de l'élément cuivre

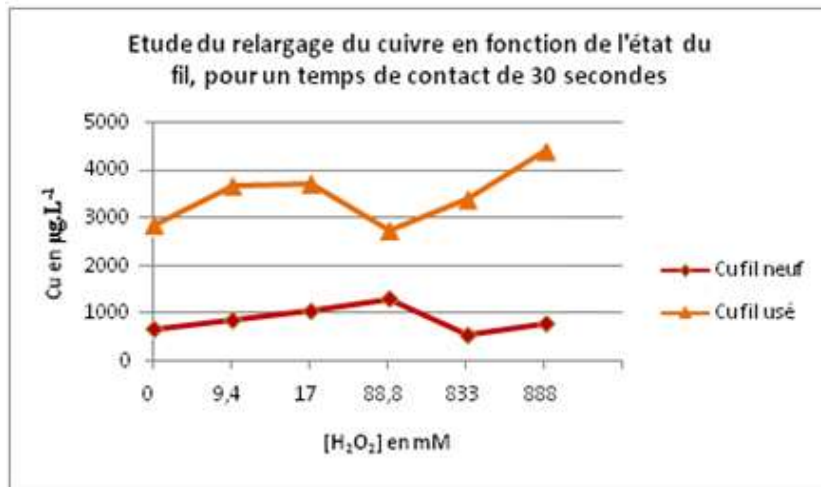


Figure 37 : Étude du relargage de l'élément aluminium en fonction de l'état du fil pour un temps de contact de 30 secondes

Toutes concentrations confondues, le relargage d'ions métalliques serait plus important lorsque le fil a subi des usages multiples et donc que son état de surface est altéré par les oxydations successives. Par ailleurs, les taux de relargage sont plus importants à 2 minutes qu'à 30 secondes quel que soit l'état du fil :

- Fils neufs :

- => à 9,4mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 853 µg.L⁻¹
- => à 17mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 1045 µg.L⁻¹
- => à 88,8mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 1302 µg.L⁻¹
- => à 833mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 546 µg.L⁻¹
- => à 888mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 784 µg.L⁻¹

- Fils usés :

- => à 9,4mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 3684 µg.L⁻¹
- => à 17mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 3727 µg.L⁻¹
- => à 88,8mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 2746 µg.L⁻¹
- => à 833mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 3399 µg.L⁻¹
- => à 888mM de H₂O₂ le relargage de cuivre est de 4409 µg.L⁻¹

On remarque que le cuivre est l'élément quantitativement le plus relargué quel que soit l'état du fil et le temps de contact.

c. Temps de contact de 2 minutes pour l'élément aluminium

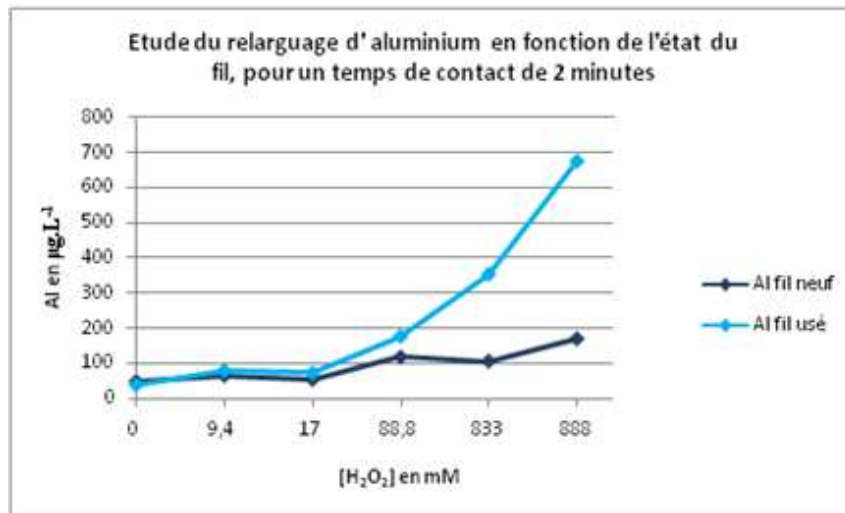


Figure 38 : Étude du taux de relargage de l'élément aluminium pour un temps de contact de 2 minutes en fonction de la qualité du fil

- Fils neufs :
 - => à 9,4mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 65 µg.L⁻¹
 - => à 17mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 54 µg.L⁻¹
 - => à 88,8mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 118 µg.L⁻¹
 - => à 833mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 106 µg.L⁻¹
 - => à 888mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 170 µg.L⁻¹
- Fils usés :
 - => à 9,4mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 78 µg.L⁻¹
 - => à 17mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 72 µg.L⁻¹
 - => à 88,8mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 176 µg.L⁻¹
 - => à 833mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 354 µg.L⁻¹
 - => à 888mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 677 µg.L⁻¹

Toutes concentrations confondues, le relargage d'ions métalliques serait plus important lorsque le fil a subit des usages multiples et donc que son état de surface est altéré par les oxydations successives.

d. Temps de contact de 30 secondes pour l'élément aluminium

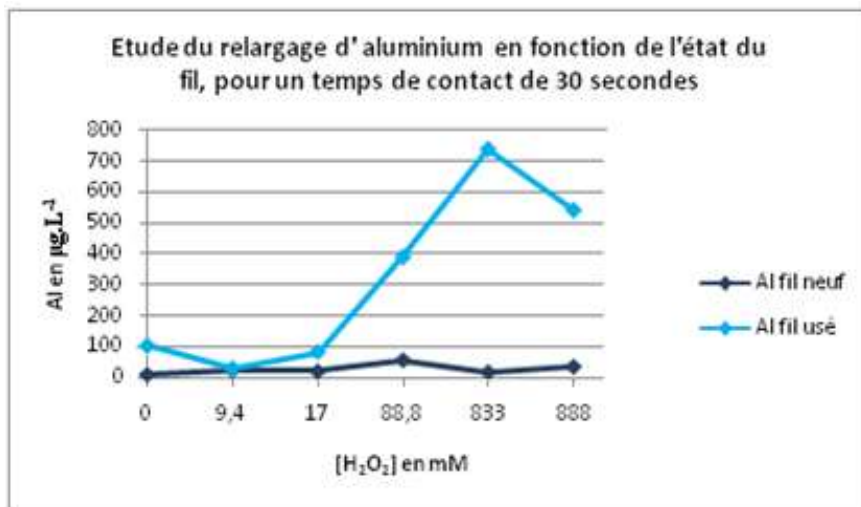


Figure 39 : Étude du relargage de l'élément aluminium en fonction de la qualité du fil pour un temps de contact de 30 secondes

- Fils neufs :
 - => à 9,4mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 25 µg.L⁻¹
 - => à 17mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 20 µg.L⁻¹
 - => à 88,8mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 58 µg.L⁻¹
 - => à 833mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 18 µg.L⁻¹
 - => à 888mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 36 µg.L⁻¹
- Fils usés :
 - => à 9,4mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 27 µg.L⁻¹
 - => à 17mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 81 µg.L⁻¹
 - => à 88,8mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 390 µg.L⁻¹
 - => à 833mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 740 µg.L⁻¹
 - => à 888mM de H₂O₂ le relargage d'aluminium est de 542 µg.L⁻¹

Toutes concentrations confondues, le relargage des ions métalliques serait plus important lorsque le fil a subit des usages multiples et donc que son état de surface est altéré par les oxydations successives.

Par ailleurs, les taux de relargage sont plus importants à 2 minutes qu'à 30 secondes quel que soit l'état du fil.

5. Étude du taux de relargage du cuivre et de l'aluminium en fonction de la nature du fil témoin

La concentration de 50mM (0,15%) de peroxyde d'hydrogène a été choisie d'après les études précédentes, où les manipulations ont été réalisées avec des petites concentrations de peroxyde d'hydrogène tel que 50mM, en contact avec l'alliage CuAlBe.

Pour notre part, nous avons réalisé des tests avec des fils de cuivre et d'aluminium purs en guise de témoins, pour comparer le relargage de leurs éléments, avec ceux issus de l'alliage CuAlBe, en contact avec 50mM de peroxyde d'hydrogène, à deux temps de contact : 30 secondes et 2 minutes.

- a. Temps de contact de 2 minutes entre le peroxyde d'hydrogène, un fil pur et un fil d'alliage CuAlBe

- L'élément Cuivre

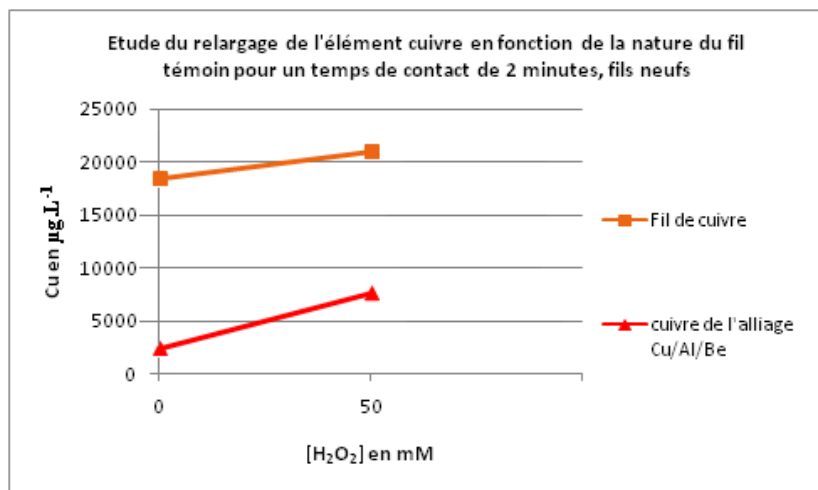


Figure 40 : Étude du relargage de cuivre en fonction de la nature du fil pour un temps de contact 2 minutes, fils neufs

A 50mM de peroxyde d'hydrogène, le cuivre issu du fils pur s'élève à 20 933 µg.L⁻¹ et le cuivre relargué de l'alliage CuAlBe s'élève à 7582 µg.L⁻¹.

On remarque que le taux de relargage de cuivre est plus important pour le fil de cuivre pur que pour l'alliage CuAlBe, puisqu'il est 3 fois plus élevé.

- L'élément Aluminium

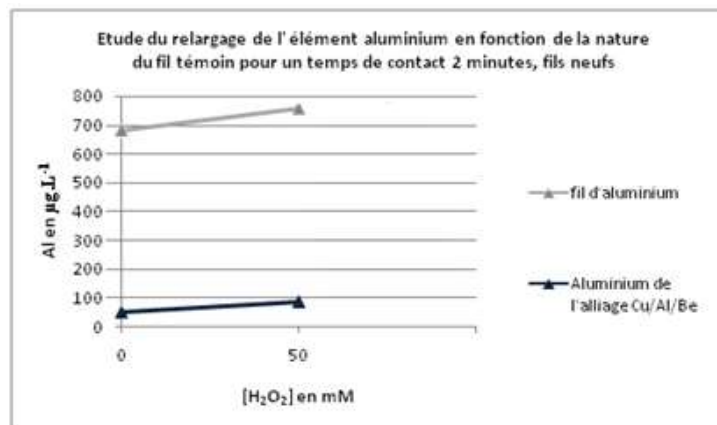


Figure 41 : Étude du relargage de l'élément aluminium en fonction de la nature du fil, pour un temps de contact 2 minutes, fils neufs

A 50mM de peroxyde d'hydrogène, l'aluminium issu du fils pur s'élève à 758 µg.L⁻¹ et l' aluminium relargué de l'alliage CuAlBe s'élève à 86 µg.L⁻¹.

Concernant l'aluminium, nous pouvons faire la même constatation que pour le cuivre : le relargage est près de 9 fois supérieur pour le fil d'aluminium pur, par rapport à l'alliage CuAlBe.

- b. Temps de contact de 30 secondes entre le peroxyde d'hydrogène, un fil pur et un fil d'alliage CuAlBe

- L'élément cuivre

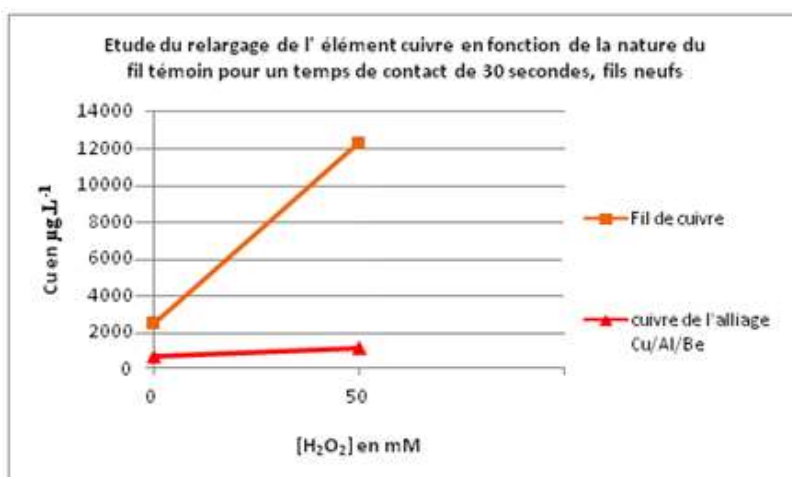


Figure 42 : Étude du relargage de cuivre en fonction de la nature du fil, pour un temps de contact 30 secondes, fils neufs

A 50mM de peroxyde d'hydrogène, le cuivre issu du fils pur s'élève à 12340 $\mu\text{g.L}^{-1}$ et le cuivre relargué de l'alliage CuAlBe s'élève à 1173 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

On remarque que le taux de relargage de cuivre est 10,5 fois plus important sous forme de fil de cuivre pur que sous forme d'alliage CuAlBe.

- L'élément aluminium

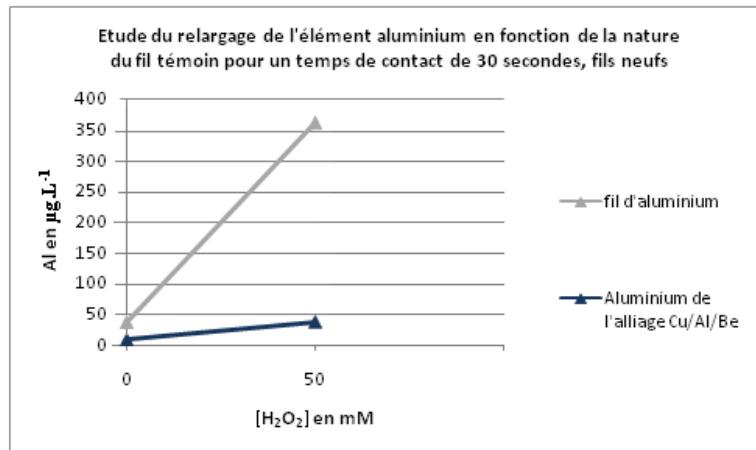


Figure 43 : Étude du relargage de l'élément aluminium en fonction de la nature du fil, pour un temps de contact 30 secondes, fils neufs

A 50mM de peroxyde d'hydrogène, l'aluminium issu du fils pur s'élève à 363 $\mu\text{g.L}^{-1}$ et l'aluminium relargué de l'alliage CuAlBe s'élève à 39 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Concernant l'aluminium, nous pouvons faire cette même constatation : le relargage est augmenté de 9 fois pour la forme monométallique, par rapport au fil d'alliage.

Nous observons alors que pour les 2 temps de contact, les fils d'alliage CuAlBe semblent moins subir l'oxydation du milieu oxydant que les fils purs de chaque élément cuivre et aluminium.

E. Discussion

Nous souhaitons trouver un moyen pour diminuer au maximum la charge bactérienne d'*Enterococcus faecalis*, bactérie majoritairement retrouvée dans les réseaux canaux d'échecs endodontiques (Ozbek et coll., 2009).

Le problème principal est que cette bactérie est extrêmement résistante en milieu hostile (pauvre en nutriments, en oxygène et au pH basique) (Portenier et coll., 2003).

Par conséquent, cette bactérie résiste aux solutions désinfectantes et aux médications intracanales traditionnelles comme l'hypochlorite de sodium (Sundqvist et Byström, 1985) et l'hydroxyde de calcium (Chai et coll., 2007 ; Mc Hugh et coll., 2004).

La solution étudiée serait d'utiliser le peroxyde d'hydrogène combiné avec des métaux et en particulier le cuivre, qui permettrait de potentialiser l'efficacité bactéricide du H₂O₂ seul (Hartemann et coll., 1995). De ce fait les concentrations en H₂O₂ utilisées pourraient être diminuées. Ceci permettrait de sécuriser d'avantage le patient quant aux risques de brûlures muqueuses et d'irritations causées par les concentrations en H₂O₂ supérieures à 3% (979mM) (Lenntech, 2012).

Par ailleurs, le recours à l'alliage CuAlBe monocristallin présente un intérêt de par ses propriétés antibactériennes, mais aussi dans l'expression de ses propriétés superélastiques : l'alliage CuAlBe monocristallin possède une aptitude à la déformation d'une part supérieure à sa version polycristalline, mais d'autre part supérieure aussi au Nickel-Titane (NIMESIS, 2012).

Cette propriété permet à l'alliage une résistance accrue lors de son usage dans les canaux courbes, grâce à une déformation majorée en flexion, par rapport aux alliages élastiques classiques.

Même si les tests en fatigue du CuAlBe ne sont pas aussi concluant que ceux des NiTi (Kaouache, 2006), la superélasticité majorée du CuAlBe par rapport aux NiTi et ses propriétés antibactériennes exclusives, nous amène à nous interroger sur l'avenir prometteur de l'application clinique d'un tel concept.

Nous avons donc testé le complexe peroxyde d'hydrogène/alliage CuAlBe sur notre souche d'*Enterococcus faecalis* à des concentrations considérées comme sûres et

efficaces, prédéfinies dans des travaux précédemment réalisés au laboratoire. Le support de l'alliage est matérialisé par un fil d'un diamètre de 1mm ; fil servant de base à l'usinage d'un instrument novateur en endodontie, ou à la réalisation d'aiguille d'irrigation.

L'intérêt de notre travail se porte sur l'étude du relargage des éléments cuivre et aluminium en faisant varier différentes conditions d'expérimentation. En effet le fil d'alliage subit une oxydation par le peroxyde d'hydrogène, oxydation pouvant varier sous l'effet de paramètres tel que le temps de contact, la concentration en peroxyde d'hydrogène, la qualité et la nature du fil.

Nous savons que les alliages à base de cuivre sont plus sensibles aux réactions d'oxydation que les NiTi (Kaouache, 2006). Notre préoccupation est donc de déterminer les taux des métaux relargués et de déduire si les concentrations présentent un risque pour la santé du patient, en cas de contamination accidentelle. La présence de métaux dans l'organisme, en concentration élevée, peut conduire à des processus d'inflammation, d'allergies, de mutations génétiques voir même devenir cancérogènes (Cordata et coll., 2002).

Nous nous sommes penchés sur les deux métaux constituant majoritairement notre alliage : le cuivre présent à 87,7% dans l'alliage et l'aluminium présent à 11,6% dans l'alliage. Le béryllium présent à 0,52% ne peut être dosé en solution, du fait de son caractère volatile (Fireman et coll., 2006) et de la dangerosité de l'utilisation d'une solution pure lors de l'étalonnage du spectrophotomètre.

Nous remarquerons avant tout, que quelle que soit la concentration en peroxyde d'hydrogène et le temps de contact étudié, les ions cuivreux se révèlent être les plus relargués en solution : 70 fois plus que l'aluminium pour 2 minutes de contact et 32 fois plus que l'aluminium pour 30 secondes de contact.

Ceci peut être dû à sa composition nettement majoritaire au sein de l'alliage.

- ❖ Le premier paramètre étudié a été l'influence de la concentration en peroxyde d'hydrogène et du temps de contact :

Concernant le cuivre, le relargage ne semble pas suivre linéairement la croissance des concentrations en peroxyde d'hydrogène. Au contraire, on observe pour les 2 temps de contact, un relargage élevé de cuivre dans les petites gammes de concentration (9,4mM et 17mM). On note un pic de relargage à 88,8mM de H₂O₂ suivi d'une décroissance dans des concentrations plus hautes (833mM de H₂O₂ et 888mM de H₂O₂).

L'explication que nous pourrions proposer à ces résultats, serait que en augmentant la concentration en H₂O₂, on tendrait vers l'équilibre de la réaction d'oxydation entre l'alliage et le peroxyde d'hydrogène. Avant l'équilibre, la vitesse de réaction est proportionnelle à la concentration des réactifs et le relargage augmente (équation de Butler-Volmer).

Puis on aboutit à l'équilibre, la densité du courant d'échange se modifie, la vitesse d'oxydation est alors considérée comme quasi nulle et la concentration des espèces cuivre est la même à la surface du fil, qu'à l'intérieur du milieu oxydant (Ailor et coll., 1971).

A 88,8mM de H₂O₂, le taux de cuivre relargué serait maximum car nous nous situerions au stade d'avancement de la réaction où les réactifs (peroxyde d'hydrogène et fil d'alliage) et produits (ions métalliques) seraient en équilibre. Passé cette concentration, le cuivre serait en défaut et son relargage tendrait à diminuer.

Une autre explication de cette croissance non linéaire pourrait résider dans l'organisation et le comportement du réseau cristallin de l'alliage CuAlBe en milieu oxydant. Nous savons que l'alliage appartient à la famille des alliages à mémoire de forme (AMF). Or, à l'échelle cristalline, lors de contraintes thermiques (bain marie à 36°C), les déformations du réseau sont de l'ordre de 5% à 10% pendant la transformation martensitique (Bouvet et coll., 2002). On obtient une structure de plus faible symétrie constituée de variantes. Dans le grain du cristal CuAlBe monocristallin, on peut observer sous microscope 24 variantes différentes, ce qui constitue une source d'hétérogénéité (Patoor et coll., 2006). Ainsi, au cours de la réaction d'oxydation, le réseau cristallin déformé modifierait l'exposition de ses atomes de cuivre et

d'aluminium au milieu environnant, ce qui différencierait alors les taux de relargage de chaque élément.

Concernant l'aluminium, on observe pour les deux temps de contact, une augmentation parallèle entre la concentration et les taux de relargage.

Le résultat à 833mM de H₂O₂, pour 30 secondes de contact, semblerait contredire ces constatations, sauf s'il ne pouvait être expliqué par un temps de contact peut être non respecté (retiré trop vite du bain marie) ou par le fait de l'usinage du fil et donc de l'impossibilité de contrôler le pourcentage exact de composition du fil en élément aluminium.

L'effondrement inattendu du taux de relargage à 833mM est d'ailleurs retrouvé aussi pour le même fil, concernant cette fois le cuivre, à 30 secondes de contact également.

Enfin, on note la même observation que pour le cuivre : le relargage est en moyenne plus importants à 2 minutes (93,5 µg.L⁻¹) qu'à 30 secondes (27,7 µg.L⁻¹).

Nous pouvons proposer une hypothèse pour expliquer la différence de comportement entre l'aluminium et le cuivre :

Etant donné que la réaction d'oxydation se fait plus rapidement sur l'aluminium (potentiel de -1,66V) que sur le cuivre (potentiel de +0,34V), le fil relarguerait plus vite l'aluminium pendant la réaction d'oxydant du fil d'alliage avec peroxyde d'hydrogène. En effet dans un couple formé de deux métaux, c'est le métal le moins noble, ici l'aluminium (potentiel d'oxydo-réduction le plus bas ; avec -1,66V) qui est anodique et subit donc l'oxydation. Le cuivre lui est cathodique (potentiel d'oxydo-réduction de +0,34V) et subit donc une oxydation retardée. L'intérêt d'associer l'aluminium au cuivre, est alors d'augmenter la résistance à l'oxydation du cuivre (site gouvernemental ; *Centre d'information du cuivre*, 2008).

L'aluminium plus sensible à l'oxydation du peroxyde d'hydrogène, relarguerait alors continuellement les ions aluminium, de façon parallèle à l'augmentation des concentrations en H₂O₂.

❖ Le deuxième paramètre étudié a été la qualité du fil :

A 30 secondes, quel que soit l'élément (cuivre ou aluminium) étudié, les quantités d'ions relargués sont en moyenne beaucoup moins importantes avec des fils neufs, que lors de l'utilisation de fils usés. Pour un temps de contact supérieur (2 minutes), cette constatation reste vraie et les taux augmentent d'autant plus.

L'état du fil engendre de nombreuses conséquences : dans les études précédemment menées, il a été démontré que l'état d'oxydation jouait un rôle important sur l'efficacité bactéricide du complexe peroxyde d'hydrogène/alliage. En effet, plus l'état d'oxydation du fil devenait important, moins l'effet bactéricide semblait efficace.

Si le concept aboutissait un jour à une concrétisation clinique, le contrôle de l'état du fil se révèle être primordial et sous entend de définir un certain nombre de cycles d'usage, qui déterminerait un seuil au-delà duquel l'alliage ne serait plus considéré comme efficace. Les interrogations se portent aussi sur le recours à une instrumentation à usage unique : favorable en terme d'efficacité antibactérienne, mais aussi en terme de garantie des performances mécaniques maximales du CuAlBe ; une manière de palier à sa sensibilité à la fatigue cyclique.

En plus de la relation entre l'état du fil et la détérioration de l'effet bactéricide, se pose la question de la biocompatibilité des métaux relargués avec l'organisme :

- ⇒ Le taux maximum de cuivre enregistré, suite à 2 minutes de contact, avec usage de fils neufs, est de $7665 \mu\text{g.L}^{-1}$. Avec des fils usés, on obtient jusque $8781 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le même temps.
- ⇒ Le taux maximum d'aluminium enregistré après 2 minutes de contact est de $170 \mu\text{g.L}^{-1}$ avec des fils neufs et de $677 \mu\text{g.L}^{-1}$ avec des fils usés.
- ⇒ Le taux maximum de cuivre enregistré, suite à 30 secondes de contact, avec usage de fils neufs, est de $1302 \mu\text{g.L}^{-1}$. Avec des fils usés, on obtient jusque $4409 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le même temps.
- ⇒ Le taux maximum d'aluminium enregistré après 30 secondes de contact est de $58 \mu\text{g.L}^{-1}$ avec des fils neufs et de $542 \mu\text{g.L}^{-1}$ avec des fils usés.

- L'élément aluminium :

Concernant l'aluminium, la présence biologique dans le sang d'ions aluminium est relativement faible (Priest et coll., 1998). L'absorption maximum d'ions aluminium relargués aurait lieu par le biais d'une ingestion accidentelle (Priest et coll., 2004) ; mais ceci est impossible de par la présence du champ opératoire et une aspiration chirurgicale dans des conditions normales d'utilisation. Concernant un individu jeune en bonne santé, pesant 60kg, les apports journaliers d'aluminium ingérés s'élèvent à 0,2 mg pour l'eau et 2,5 à 13 mg/j pour les aliments. La dose hebdomadaire tolérée tous apports confondus est de 420mg/semaine.

Par voie orale, la dose létale 50 (DL 50) varie de 162 à 980 mg/kg à prise unique (Short, 1980).

Or, le dosage maximum d'ions aluminium mesurés pendant nos manipulations est de 677 $\mu\text{g.L}^{-1}$ avec des fils usés pour un temps de contact de 2 minutes avec le peroxyde d'hydrogène. Même en sélectionnant les paramètres les plus défavorables des conditions de mesures, avec un temps de contact long et une qualité de fil altérée, nous demeurons donc malgré tout en dessous de la dose toxique.

Etant donné ces paramètres et les faibles quantités d'aluminium relargués, le choix d'un fil neuf plutôt qu'un fil faiblement usé, ne sera pas motivé d'après les données biologiques de l'aluminium mais bien d'après la différence d'effet bactéricide engendrée. En effet, il ne transparaîtrait pas de risque de toxicité secondaire au relargage des ions aluminium, quel que soit l'état du fil. En revanche, la question de l'utilisation d'un fil neuf plutôt qu'un fil usé, se pose en raison d'une diminution de l'effet bactéricide du complexe CuAlBe/H₂O₂ lors de l'usage de fils d'alliage oxydés.

- L'élément cuivre :

Concernant le cuivre, sa clairance est de 100 $\mu\text{g.L}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}$ chez un individu de 60kg, en bonne santé. La dose quotidienne recommandée (donc tolérée) tout apport confondu est de 1,5mg à 3mg (site officiel de la Médecine du Travail et de l'Environnement 2002). Les cas d'intoxications aiguës par voie orale sont rares et généralement dus à des ingestions accidentelles de grandes quantités : de 0,4 à 100 g de sels de cuivre II et notamment de sulfate de cuivre (Chuttani et coll., 1965). Ces cas

d'intoxications aiguës correspondent également à des doses élevées de 35 à 200 mg/L, de cuivre (Hopper et Adams, 1958 ; Semple et coll., 1960).

Lors de nos manipulations, le taux maximum de cuivre enregistré est de 8781 $\mu\text{g.L}^{-1}$, pour 2 minutes de contact avec des fils usés.

Comme pour l'aluminium, même en sélectionnant les paramètres les plus défavorables des conditions de mesures, nous demeurons donc en dessous des doses toxiques.

Par ailleurs, des études ont montré que le risque principal d'oxydation du cuivre dans le milieu buccal, avait lieu suite à des prothèses amovibles portées en permanence (à cause des contacts muqueux multiples). Dans des cas d'intolérance aiguë, la réaction observée chez les patients est une sensibilisation de type I ou II, de type allergique immédiate (Eloy et Charton-Picard, 2001).

En revanche, une étude *in vitro* menée par Wataha consistait à mesurer la cytotoxicité d'une centaine d'alliages et de métaux purs. Sur la base de ces résultats, un classement en quatre groupes concernant la réponse cytotoxique a été établi : le pourcentage correspond au nombre de cellules vivantes après tests. Plus la valeur de ce pourcentage diminue et plus l'alliage est cytotoxique.

Le cuivre fait partie du groupe D (inférieur à 44 %), signifiant une réponse fortement cytotoxique avec un risque pour le milieu buccal : alliages à base or-cadmium; à base or-nickel; à base nickel; à base cuivre (Wataha et coll., 1991).

Dans le cadre de traitements prothétiques, les fréquences de relargage sont beaucoup plus importantes à cause de temps de contact bien supérieurs à ceux de notre expérience, par port permanent des prothèses et accentuées par un contact muqueux direct.

Etant donné que lors de nos manipulations, la majorité des éléments cuivre relargués n'entrent jamais en contact avec la muqueuse, ne sont jamais ingérés (aspiration, champ opératoire) et que le temps de contact n'excède jamais le temps d'irrigation, les risques précédemment cités, déjà minimes, sont alors encore moins inquiétants.

Cependant, par principe de sécurité, il conviendra d'opter pour les circonstances qui diminuent au maximum les taux de relargage : la concentration de peroxyde

d'hydrogène sera choisie en fonction de la bactéricidie la plus efficace, corrélée à un relargage moindre. L'état du fil serait préférable en qualité neuve, principalement pour la conservation d'une bactéricidie optimale, puis par critère de biocompatibilité.

En revanche, la quantité d'ions résiduels dans le canal dentaire après irrigation est inconnue. La nécessité d'une irrigation en guise de rinçage final, afin d'éliminer les résidus métalliques, est une option à envisager.

Enfin, pour éviter une injection accidentelle au delà du périapex, il conviendra d'utiliser des aiguilles d'irrigation à fenêtre d'ouverture latérale, de surveiller la remontée de l'irrigant lors des soins et surtout de connaître parfaitement la longueur de travail canalair (LT).

En revanche, il serait bon de s'interroger sur l'éventuelle intervention du cuivre relargué dans les phénomènes de dyschromies dentaires par colorations métalliques : même présents en une quantité supérieure à 12% dans les amalgames modernes, la survenue de colorations gris bleutés dans la dentine et au niveau des interfaces, est essentiellement due aux ions argent et non cuivre (Vanherle et coll., 2000). Cela prêterait à penser que l'usage de cuivre sous forme d'alliage, n'engendrerait apparemment pas de risque de colorations dentaires exogènes.

❖ Enfin le dernier paramètre à être étudié, a été la nature du fil témoin :

Lors de notre observation des milieux post-réactionnels, nous avons remarqué la présence d'un précipité de cuivre au fond des tubes ayant contenu les fils de cuivre pur, pour des temps de contact de 2 minutes ou 30 secondes à 50mM de H_2O_2 .

Il est notable que le relargage de cuivre, comme d'aluminium, est supérieur en milieu oxydant lorsque nous avons recours à un fil de cuivre ou d'aluminium purs. Sous forme d'alliage, l'addition d'aluminium au cuivre, confère à ce dernier une résistance accrue à l'oxydation, de par la différence du potentiel oxydo-réducteur des deux composés : +0,34V pour le cuivre et -1,66V pour l'aluminium. L'oxydation, nous l'avons remarqué précédemment, engendre une l'altération de l'état de surface du fil et augmente alors le relargage des ions métalliques.

Enfin, nous pouvons rajouter que la recherche sur les phénomènes de cytotoxicité, d'électro galvanisme, de sensibilisation immédiate et retardée, engendrés par les éléments métalliques, font de plus en plus débats au sein des populations médicales et du grand public. De nombreuses facettes sont encore au stade de recherche et l'interrogation des patients est grandissante. C'est aux praticiens d'avoir les éléments de réponse fondés sur les données acquises de la science, qui répondront aux inquiétudes des patients.

F. Conclusion de la recherche

Le peroxyde d'hydrogène s'est révélé efficace sur *Enterococcus faecalis*. Cependant, les concentrations d'usage thérapeutique situées de 30 volumes (3332 mM ; 10%) à 10 volumes (979 mM ; 3%), qui présentent un taux de bactéricidie intéressant (taux d'abattement supérieur à 99%), posent aussi des problèmes de biocompatibilité puisqu'elles engendrent des irritations et de légères brûlures muqueuses pour le patient. La solution à ce problème serait de combiner le peroxyde d'hydrogène avec un alliage à mémoire de forme riche en cuivre : l'alliage CuAlBe monocristallin.

Par ailleurs, l'alliage possède non seulement une activité anti-bactérienne inhérente au cuivre, mais aussi des propriétés mécaniques remarquables, notamment pseudoélastiques, d'intérêts considérables dans le domaine de l'endodontie.

C'est ainsi que différentes concentrations en peroxyde d'hydrogène ont été testées *in vitro* et définies comme efficaces sur *Enterococcus faecalis*. Les temps de contact ont aussi été sélectionnés pour être compatibles avec la durée d'un traitement endodontique (2 minutes et 30 secondes).

Le fil d'alliage étudié expérimentalement pourrait alors se prêter à un concept éventuel d'instruments de préparation canalaire, associés au peroxyde d'hydrogène au cours du travail dans les canaux.

C'est dans ces conditions que nous avons étendu la recherche, afin d'analyser le comportement de l'alliage en milieu oxydant : mesurer les taux de relargage des éléments métalliques et déduire les risques encourus par le patient.

L'alliage subit en effet une oxydation par le peroxyde d'hydrogène pendant le temps où ces deux réactifs sont en contact. L'effet orchestré est le relargage d'éléments métalliques cuivre et aluminium dans le milieu. Les ions métalliques relargués sont mesurés grâce à un spectrophotomètre d'émission atomique à plasma d'argon, qui a été préalablement étalonné pour mesurer des concentrations d'éléments métalliques situées dans la fourchette [$0 \mu\text{g.L}^{-1}$ - $10000 \mu\text{g.L}^{-1}$].

Le relargage du cuivre et de l'aluminium présente une tendance différente aux deux temps de contact (2 minutes et 30 secondes).

Le relargage de cuivre augmente en contact avec les petites concentrations en peroxyde d'hydrogène (9,1 mM et 17 mM), atteint un pic à 88,8mM, puis décroît avec les concentrations importantes (833 mM et 888 mM).

L'aluminium présente une évolution graduelle, parallèle à l'augmentation de la concentration en peroxyde d'hydrogène. Quantitativement parlant, le cuivre est l'élément le plus relargué (jusque 50 fois supérieur à l'aluminium) car majoritairement présent dans la composition de l'alliage.

Nous avons étudié les variations du relargage à travers trois paramètres : les différentes concentrations efficaces de peroxyde d'hydrogène ; les deux temps de contacts compatibles avec une application clinique et enfin l'état d'oxydation du fil, qui transcrit l'usure des instruments au cours des cycles de travail.

Les taux de relargage mesurés pour chaque paramètre, que nous avons confrontés aux données biologiques de la littérature, ne présenteraient aucune répercussion clinique sur la santé du patient dans nos circonstances d'expérimentation. Les niveaux de relargage apparaissent en effet bien en deçà du seuil d'incidence biologique.

De plus, l'absorption des éléments relargués ne se produirait qu'en cas accidentel de technique opératoire, étant donné que le protocole de soin s'effectue sous champ opératoire et aspiration chirurgicale. Par ailleurs, l'usage d'aiguille d'irrigation à fenêtrage d'ouverture latérale permet de réduire le risque d'injection accidentelle au delà du périapex. Ces mesures s'appliquent conformément aux principes de sécurité et d'hygiène de tout traitement endodontique. En supplément, il serait utile d'ajouter un

temps d'irrigation en guise de rinçage final, afin d'éliminer les éventuels résidus métalliques persistant après la fin du traitement endodontique.

En conclusion, dans nos conditions d'expérimentation, on ne supposerait alors pas de risque de toxicité secondaire aux métaux contenus dans l'alliage CuAlBe monocristallin. Cependant, ces propos sont à relativiser étant donné que les quantités de béryllium présentes dans le milieu sont inconnues mais seraient vraisemblablement minimales, du fait de la très faible proportion de cet élément contenu dans l'alliage (0.52%).

De plus, nos expériences ont été menées *in vitro* et non pas directement sur les tissus organiques dentaires et encore moins dans les conditions complexes et variables du milieu buccal.

L'influence de l'usinage des fils, l'étirement sous forme de tiges, sont autant de paramètres à approfondir avant de pouvoir se prononcer sur la biocompatibilité réelle de l'alliage CuAlBe monocristallin.

V. PERSPECTIVES

L'endodontie est une discipline complexe qui a connu de nombreuses évolutions en matière de protocole de désinfection et de préparation canalaire. Seuls les objectifs demeurent les mêmes : tendre vers un résultat thérapeutique optimal devant répondre à des exigences biologiques et mécaniques.

L'agent bactérien est le principal ennemi de l'endodontiste. Si la majorité des infections primaires sont solutionnées par les protocoles classiques de désinfection canalaire (Chavez de Paz, 2003), associant l'hypochlorite de sodium et l'EDTA, les infections secondaires et récurrentes sont au contraire parfois soumises à des échecs. Ce sont des biofilms multi-espèces qui sont retrouvés majoritairement dans les cas d'échecs de traitements endodontiques (Carr et coll., 2009 ; Siqueira et Rôças, 2008). Mais seul peu d'espèces bactériennes (6 à 12) sont retrouvées dans ces biofilms : il s'agit essentiellement d'*Enterococcus faecalis* (présente à 47%) (Stuart et coll., 2006).

Notre travail bibliographique a démontré que cette bactérie est résistante aux agents de désinfection classiquement utilisés. L'efficacité du peroxyde d'hydrogène est réelle mais son utilisation est aujourd'hui abandonnée du fait d'un spectre d'action trop étroit sur la multitude d'espèces bactériennes qui peuvent être présentes au sein de l'endodonte. De plus, le peroxyde d'hydrogène peut poser problème en terme de biocompatibilité, compte tenu du risque encourue par le patient lors de l'usage de solutions en H₂O₂ supérieures à 3% (Lenntech, 2012).

Des travaux sur sa combinaison avec des alliages de cuivre ont révélés la possibilité d'optimiser son action bactéricide, tout en diminuant les concentrations utilisées (Hartmann et coll., 1995). Ces données nous ont amené à étudier la perspective d'utiliser l'alliage CuAlBe monocristallin combiné au peroxyde d'hydrogène, pour aboutir à un compromis entre efficacité anti-bactérienne ciblée et sécurité pour le patient.

L'alliage CuAlBe monocristallin fait partie de la grande famille des AMF, comme le NiTi aux propriétés déjà bien connues dans le domaine. Bien que les propriétés mécaniques du CuAlBe soient les plus satisfaisantes au sein des alliages de cuivre de la même famille, elles ne sont pas aussi performantes que celles du NiTi, notamment en

terme de résistance à la fatigue (Kaouache, 2006). En revanche, sa superélasticité est supérieure à celle du NiTi et sa transformation martensitique qui débute à 27°C, est un point intéressant pour la possibilité d'une application en bouche ; la température buccale avoisinant les 35°C. Le domaine d'élasticité accrue du CuAlBe monocristallin présente un intérêt particulier dans notre domaine : il permettrait le travail dans les canaux (courbes ou non) puisque l'instrument est soumis aux contraintes pariétales et un usage en rotation continue serait aussi possible.

En revanche, étant donné sa plus faible tenue en fatigue que le NiTi, il faudrait d'avantage veiller aux conditions d'utilisation si les travaux aboutissaient à la conception d'instruments endodontiques. Le recours à des instruments à usage unique serait éventuellement une option à envisager, ou définir un certains nombres d'usages, pondérés par la difficulté du système canalaire à traiter.

Bien évidemment, si l'alliage voyait le jour sous forme d'aiguille d'irrigation, ses moindres performances en fatigue ne nous préoccuperaient plus.

Les propriétés antibactériennes de l'alliage CuAlBe rendues possibles par le cuivre présent dans l'alliage à plus de 70% (Prado et coll., 2012), constituent par ailleurs une différence marquante avec le NiTi, qui n'en possède pas de manière intrinsèque. Un instrument constitué de CuAlBe offrirait ainsi la perspective de rassembler dans le même temps de travail, la désinfection canalaire et la mise en forme des canaux.

Les différents travaux de recherche menés au laboratoire ont démontré d'une part, l'efficacité anti-bactérienne satisfaisante de la combinaison CuAlBe/H₂O₂ sur *Enterococcus faecalis*, dans des temps de contacts transposables en clinique (30 secondes et 2 minutes) et d'autre part, le recours possible à des concentrations en peroxyde d'hydrogène inférieures à 3% ; donc sans danger apparent pour le patient. Par exemple, un usage de 75 mM (0,22%) de peroxyde d'hydrogène pour un temps de contact de 30 secondes seulement, engendre un taux d'abattement d' *Enterococcus faecalis* de 98%. Ces résultats nous encouragent à penser que l'association CuAlBe-H₂O₂ saurait répondre aux attentes anti-bactériennes, concorderait avec les temps cliniques de traitement endodontique et avec une pratique sécuritaire pour le patient.

Concernant la quantité des éléments cuivre et aluminium relargués dans le milieu, il ne transparaîtrait pas de risque pour le patient, même dans le cas accidentel d'une ingestion d'irrigant, ou dans le cas d'une extrusion d'irrigant dans le périapex : toutes les mesures relevées dans nos conditions d'intérêts (concentration de H₂O₂, temps de contact et état d'usure de l'alliage) demeurent en dessous du seuil de toxicité chez l'homme.

Bien évidemment, cela ne signifie pas qu'il faille s'abstenir de la pose d'un champ opératoire étanche, d'une aspiration chirurgicale active, ainsi qu'au recours d'aiguilles d'irrigations à ouverture latérale. Bien au contraire, le respect de ces normes de traitement conforteraient le praticien et le patient, dans un usage raisonné de l'alliage selon les principes de sécurité. D'autant plus que le nombre de patients qui s'interrogent sur les produits et les matériaux utilisés en bouche est grandissant et qu'ils attendent des réponses éclairées de la part des praticiens.

Au regard de ces données, dans le meilleur des cas, les avantages du NiTi et du CuAlBe monocristallin inciteraient alors vers une pratique qui exploiterait leur complémentarité. Le NiTi demeurerait le matériau de préparation canalaire de première intention accompagné d'un protocole d'irrigation classique au NaClO, EDTA ; l'alliage CuAlBe couplé au peroxyde d'hydrogène, ne trouverait sa place qu'en fin de préparation canalaire sous la forme d'un instrument de finition, ou soit sous la forme d'une aiguille d'irrigation lors de la procédure de rinçage final.

Enfin, il faut rappeler qu'avant de mettre sur le marché un matériau destiné à des fins médicales, il doit répondre à un certain nombre de normes de biocompatibilité. Par conséquent, les dispositifs dentaires doivent être testés pour la cytotoxicité, l'irritation, la sensibilisation des muqueuses, les effets d'une éventuelle implantation, la génotoxicité et la carcinogénicité.

Ils existent trois niveaux successifs d'investigation : les tests *in vitro*, *in vivo* et pré-clinique chez l'homme ou le primate selon les normes internationales.

Les méthodes de cultures de cellules *in vitro* (pulpaire, épithéliales, conjonctives..) permettent de tester la cytotoxicité et la génotoxicité. Des résultats défavorables dans l'évaluation d'un matériau à ce stade impliqueraient invariablement

le rejet de ce matériau pour l'application envisagée et la nécessité de son amélioration (Klein et coll. 1998).

Ensuite, des tests *in vivo* sont réalisés après implantation du composé sur une espèce animale conformément à la réglementation sur ces expérimentations (norme ISO 10993, 2007 et norme NF S90-701, 1988). Ces tests évaluent la sensibilisation, la toxicité systémique et la cancérogénicité : le test "des comètes" mesure par électrophorèse les lésions causées sur les brins d'ADN exposés au composé chimique testé.

Enfin les tests pré-cliniques répondent, chez l'homme, à des protocoles précis et sont menés conformément à la loi Huriet (1988) sur la « protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales ».

VI. CONCLUSION

Les pratiques cliniques actuelles en endodontie sont basées sur une préparation canalaire chimio-mécanique où l'instrumentation est couplée à une irrigation dite active. L'instrumentation mécanisée en NiTi connaît un essor depuis 1993 en France ; les raisons motivées sont la reproductibilité, l'obtention de conicités plus régulières pour les préparations canalaires (Walia et coll., 1988), un risque de perforation diminué (Abou-Rass et coll., 1980) une trajectoire canalaire mieux maintenue (Marshall et Papin 1980) et assurément le gain de temps pour le praticien. Après plus de 20 ans de preuves, un nouvel alliage pourrait-il encore venir apporter d'autres intérêts novateurs pour notre pratique clinique ?

Au cours de nos travaux bibliographiques et du travail de recherche proposé, notre objectif n'était pas de nous interroger sur la capacité de l'alliage CuAlBe à détrôner le NiTi en endodontie, mais essayer d'appréhender, avec un œil critique et avant-garde, les intérêts de son éventuelle émergence.

Nous savons que mécaniquement parlant, l'alliage CuAlBe monocristallin ne peut prétendre aux mêmes performances que le NiTi. En revanche, son potentiel anti-bactérien cumulé à ses propriétés pseudoélastiques remarquables, rendrait sans nul doute son application en endodontie intéressante ; d'autant plus dans les cas d'échecs de traitement, avec une efficacité apparente sur *Enterococcus faecalis*, lorsqu'il est associé à du peroxyde d'hydrogène.

Une application clinique sous forme d'instrument, ou d'aiguille d'irrigation canalaire associé au peroxyde d'hydrogène, pourrait être utilisée en fin de traitement, en complément à l'instrumentation NiTi et aux protocoles classiques de désinfection canalaire, pour optimiser les chances de succès de traitement.

Ainsi, les deux alliages ne s'opposeraient pas avec des propriétés rivales, mais s'associeraient de manière complémentaire.

Cependant, nous ne pouvons pas nous prononcer sur l'avenir réel du CuAlBe monocristallin : l'impact du béryllium, les coûts production, l'usinage de l'alliage, son vieillissement, son comportement *in vivo* dans les canaux de racines naturelles... sont

autant d'investigations encore à mener, avant de le retrouver peut être un jour au sein de nos cabinets.

Pour conclure, le CuAlBe monocristallin présente des intérêts cliniques sans équivoques et quel qu'en sera le résultat, les travaux n'auront pas été vains :

" l'amélioration continue, c'est trouver de meilleures façons de faire les choses" (David Hoyle).

VII. BIBLIOGRAPHIE

- 1/ Abdullah M, Ling NGY, Gulabvila K, Moles DR. Susceptibility of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medications. *J Endod.* 2005;31(1):30-36.
- 2/ Adib V, Spratt D, Ng Y-L, Gulabivala K. Cultivable microflora associated with persistent periapical disease and coronal leakage after root canal treatment: a preliminary study. *Int Endod J.* 2004;37: 542-551.
- 3/ Ailor WH. Handbook on corrosion testing and evaluation the electrochemical. New York : J. Wiley ; 1971, 873 p.
- 4/ Al-Hadlag SM, Aljarbou FA. Evaluation of cyclic flexural fatigue of M-wire nickel-titanium rotary instruments. *J Endod.* 2010; 36(2): 305-307.
- 5/ Alhamany A. Comportement en fatigue des alliages a mémoire de forme cas du CuZnAl [Thèse de doctorat en sciences physiques]. Rabat : Université Mohammed V - Agdal ; 2005. 151p. Disponible sur: http://toubkal.imist.ma/bitstream/handle/123456789/151/THESE_ALHAMANY.pdf?sequence=3
- 6/ Ando N, Hoshino E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentin. *Int Endod J.* 1990; 23(1): 20-7.
- 7/ Appelbe OK, Sedgley CM. Effects of prolonged exposure to alkaline pH on *Enterococcus faecalis* survival and specific gene transcripts. *Oral Microbiol Immunol.* 2007; 22(3):169-74.
- 9/ Archien C, Cheylan JM. Biocompatibilité des métaux, alliages et céramiques dentaires. *Réal Clin.* 2005; 16(2):169-186.
- 10/ Bahia MG, Buono VTL. Decrease in the fatigue resistance of Nickel titanium rotary instrument after clinical use in curved root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005, 100(2): 249-55.
- 11/ Bassler BL. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Curr Opin Microbiol.* 1999;2(6):582-587.
- 12/ Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, Fillery E, Manzur A. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod.* 2007 ; 33(8) : 966-969.

- 13/ Baron MP. Etude du comportement des interfaces austenite/martensite et martensite/martensite de deux alliages à effet mémoire de forme : le CuZnAl et le CuAlBe [Thèse de doctorat en génie des matériaux]. Lyon : INSA ; 1998. 189 p. Disponible sur : <http://theses.insa-lyon.fr/publication/1998ISALoo82/these.pdf>
- 14/ Bauderer M, Reimann R, Hederstedt L. Contribution of catalase to hydrogen peroxide resistance in *Enterococcus faecalis*. *FEMS Microbiol Lett.* 2012;331(2):160-4.
- 15/ Baum LJ et Fiore-Donno G. Vues nouvelles sur le diagnostic différentiel des pulpopathies. *Méd Hyg (Genève)*. 1962;20(554/555):543-571.
- 16/ Baumgartner JC. Microbiological and molecular analysis of endodontic infections. *Endod Topics.* 2004;7(1):35-51.
- 17/ Baumgartner JC, Johal S, Marshall JG. Comparison of the Antimicrobial Efficacy of 1.3% NaOCl/BioPure MTAD to 5.25% NaOCl/15% EDTA for Root Canal Irrigation. *J Endod.* 2007; 33(1) : 48-51.
- 18/ Belkahla S. Elaboration et caractérisation de nouveaux alliages à mémoire de forme basse température type CuAlBe. [Thèse de doctorat en sciences appliquées]. Villeurbanne : INSA ; 1990. 132p.
- 19/ Ben Johnson W. Endodontie, le choc des technologies ; de vieilles réponses à de nouveaux problèmes. Congrès de l'Association Dentaire Française. 1994 ; Paris.
- 20/ Bergenholtz G, Horsted-Bindslev P, Reit C. Textbook of endodontology. Oxford : Blackwell Munksgaard ; 2003.
- 21/ Bergmans L, Van Cleynenbreugel J, Wevers M, Lambrechts P. Mechanical root canal preparation with NiTi rotary instruments: rationale, performance and safety. Status report for the American Journal of Dentistry. *Am J Dent.* 2001;14(5):324-33.
- 22/ Berutti E, Marini R, Angeretti A. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. *J Endod.* 1997;23(12):725-7.
- 23/ Berutti E, Negro AR, Lendini M, Pasqualini D. Influence of manual preflaring and torque on the failure rate of Pro Taper rotary instruments. *J Endod.* 2004;30(4) : 228-30.

- 24/ Berutti E, Chiandussi G, Paolino DS, Scotti N, Cantatore G, Castellucci A, Pasqualini D. Canal shaping with WaveOne Primary reciprocating files and ProTaper system : a comparative study. *J Endod.* 2012;38(4):505-509.
- 25/ Besnault C, Pradelle N, Delzangles B. Le retraitement endodontique. *Information Dentaire* n° 29-30, 1999;81(29-30):2095-2102.
- 26/ Blum H. Hypochlorit und seine Anwendung in der zahnärztlichen Praxis. *Dtsch Zahnärztl Wschr.* 1921;(24):21-24.
- 27/ Boessler C, Peters OA, Zehnder M. Impact of lubricant parameters on rotary instrument torque and force. *J Endod.* 2007 ; 33(3): 280-283.
- 28/ Bonnet E, Louis JJ. Techniques d'éclaircissement dentaire et projet esthétique. *Réalités Cliniques.* 2003 ;14(6): 393-407.
- 29/ Bouvet A, Geslin P, Kriz-Kuzemenska P, Blanc V, Devine C, Grimont F. Restricted association between biotypes and serotypes within group A streptococci. *J Clin Microbiol.* 1994;32(5): 1312-7.
- 30/ Braga LC, Faria Silva AC, Buono VT, de Azevedo Bahia MG. Impact of heat treatments on the fatigue resistance of different rotary nickel-titanium instruments. *J Endod.* 2014;40(9):1494-7. doi: 10.1016/j.joen.2014.03.007
- 31/ Broudin H. Modalités de l'irrigation en endodontie, le point en 2012. Thèse doctorante pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire. Université de Nantes; 2012, 81p.
- 32/ Bryce G, O'Donnell D, Ready D, Yuan-Ling NG, Pratten J, Gulabivala K. Contemporary Root Canal Irrigants Are Able to Disrupt and Eradicate Single- and Dual-Species Biofilms. *J Endod.* 2009;35(9):1243-1248.
- 33/ Buchanan LS. The standardized-taper root canal preparation - Part 1. Concepts for variably tapered shaping instruments. *International Endodontic Journal.* 2000; 33(6): 516-529.
- 34/ Bui TB, Baumgartner JC, Mitchell JC. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin. *J Endod.* 2008 ; 34(2) : 181-185.

- 35/ Bürklein S, Benten S, Schäfer E. Quantitative evaluation of apically extruded debris with different single-file systems: Reciproc, F360 and OneShape versus Mtwo. *Endod J.* 2014;47(5):405-9.
- 36/ Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *European Journal of Oral Science.* 1981; 89(4) :321-328.
- 37/ Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology.* 1983; 55(3):307-12.
- 38/ Casciati S, Alessandro M. Experimental studies on the fatigue life of shapememory alloy bars, *Smart Structures and Systems.* 2010;6(1):73-85.
- 39/ Carr Gary B, Richard S, Schwartz, Schaudinn C, Gorur A, Costerton JW. Ultrastructural Examination of Failed Molar Retreatment with Secondary Apical Periodontitis: An Examination of Endodontic Biofilms in an Endodontic Retreatment Failure. *J Endod.* 2009;35(9):1303-1309.
- 40/ Chaiw L, Hamimah H, Cheng SC, Sallam AA. Susceptibility of *Enterococcus faecalis* biofilm to antibiotics and calcium hydroxide. *J Oral Sci.* 2007;49(2):161-166.
- 41/ Cardoso MG, De Oliveira LD, Koga-Ito CY. Effectiveness of ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, and endotoxins in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;105(3):e85-e91.
- 42/ Caron G, Nham K, Bronnec F, Machtou P. Effectiveness of different final irrigant activation protocols on smear layer removal in curved canals. *J Endod.* 2010 ; 36(8) : 1361-1366.
- 43/ Casey AL, Adams D, Karpanen TJ, Lambert PA, Cookson BD, Nightingale P, Miruszenko L, Shillam R, Christian P, Elliott TS. Role of copper in reducing hospital environment contamination. *J Hosp Infect.* 2010;74(1):72-77.
- 44/ Chaves Craveiro de Melo M, Guiomar De Azevedo Bahia M, Lopes Bueno VT. Fatigue resistance of engine-driven rotary nickel-titanium endodontic instruments. *J Endod.* 2002; 28(11):765-69.
- 45/ Chàvez de Paz LE, Bergenholtz G, Svensäter G. The Effects of Antimicrobials on Endodontic Biofilm Bacteria. *J Endod.* 2010;36(1):70-77.

- 46/ Chàvez de Paz LE, Dahlén G, Molander A, Möller Ä, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *International Endodontic Journal*. 2003; 36(7):500-508.
- 47/ Cheung GS, Liu CS. A retrospective study of endodontic treatment outcome between nickel-titanium rotary and stainless steel hand filing techniques. *J Endod*. 2009;35(7):938-943.
- 48/ Chivatxaranukul P, Dashper SG, Messer HH. Dentinal tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*. 2008;41(10): 873-82.
- 49/ Chuttani HK, Gupta PS, Gulati S. Acute copper sulphate poisoning. *Am J Med*. 1965;39(5):849-854.
- 50/ Clifford J Ruddle. Hydrodynamic disinfection: tsunami endodontics. *Dent Today*. May 2007;26(5):110, 112, 114-7.
- 51/ Contardo L, Guenin G. Training and Two Way Memory Effect in Cu-Zn-Al Alloy. *Acta Metall and Mater*. 1990;38(7):1267-1272.
- 52/ Delzangles B. Préparation des canaux radiculaires. *Real Clin*. 1992;3(1):92-100.
- 53/ Delaey RV, Krishnan V, Tass H, Warlimont H. Thermoplasticity, pseudoelasticity and the memory effect associated with martensitic transformations. *Journal of materials science*. 1974; 9(9):1536-1544.
- 54/ Debelian GJ, Olsen I, Tronstad L. Anaerobic bacteremia and fungemia in patients undergoing endodontic therapy : *an overview*. *An Periodontol*. 1998;3(1): 281-287.
- 55/ De Deus G, Moreira EJ. Extended cyclic fatigue life of F2 ProTaper instruments used in reciprocating movement. *Int Endod J*. 2010; 43(12): 1063-1068.
- 56/ Delgado RJ, Gasparoto TH, Sipert CR, Pinheiro CR, Moraes IG, Garcia RJ. Antimicrobial effects of Calcium hydroxide and Chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2010;36 (8):1389-93.
- 57/ De Lillo A, Ashley FP, Palmer RM, Munson MA, Kyriacou L, Weightman AJ, Wade WG. Novel subgingival bacterial phylotypes detected using multiple universal polymerase chain reaction primer sets. *Oral Microbiol.Immunol*. 2006;21(1):61-68.

- 58/ Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev.* 2002; 15(2): 167-93.
- 59/ Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. *Journal of Endodontics.* 2006;32(6):527-31.
- 60/ Duerig T, Pelton A, Stöckel D. An overview of nitinol medical applications. *Materials science & engineering.* 1999; 273-275: 149-160.
- 61/ Duerig TW, Zadno R. An engineer's perceptive of pseudoelasticity. Duerig TW, Melton KN, Stöckel D, Wayman CM. in : *Engineering Aspects of Shape Memory Alloys.* London : Butterworth-Heinemann Ltd ; 1990, p. 369.
- 62/ Edie JW, Andreasen GF, Zaytoun MP. Surface corrosion of nitinol and stainless steel under clinical conditions. *Angle orthod.* 1981;51(4):319-24.
- 63/ Elguindi J, Wagner J, and Rensing C. Genes involved in copper resistance influence survival of *Pseudomonas aeruginosa* on copper surfaces. *J Appl Microbiol.* 2009;106(5):1448-1455.
- 64/ Entemeyer D. Etude micromécanique du comportement thermomécanique des alliages à mémoire de forme. Thèse de doctorat. Université de Metz; 1996, 244p.
- 65/ Espírito Santo C, Lam EW, Elowsky CG, Quaranta D, Domaille DW, Chang CJ, Grass G. Bacterial killing by dry metallic copper surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 2011; 77(3):794-802.
- 66/ Espirito Santo C, Taudte N, Nies DH, and Grass G. Contribution of copper ion resistance to survival of *Escherichia coli* on metallic copper surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74(4):977-986.
- 67/ Esposito PT, Cunningham CJ. A comparison of canal preparation with nickel-titan and stainless-steel instruments. *J Endod.* 1995;21(4):173-6.
- 68/ Estrela C, Sydney GB, Figueiredo JA. Antibacterial efficacy of intracanal medicaments on bacterial biofilm : a critical review. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(1):1-7.
- 69/ Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spano JC, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J.* 2002 ; 13(2) : 113-117.

70/ Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J.* 2002;35(3): 221-228.

71/ Fife D, Gambarini G, Britto LR. Cyclic fatigue testing of Protaper NiTi rotary instruments after clinical use. *Oral Surg. , Oral Med., Oral Patho., Oral Radio. and Endod.* 2004;97(2) : 251-6.

72/ Fouad AF. *Endodontic microbiology.* Ames :Wiley-Blackwell; 2009, 368 p.

73/ Gambarini G, Grande NM, Plotino G, Somma F, Garala M, De Luca M, et al. Fatigue resistance of engine-driven rotary nickel-titanium instruments produced by new manufacturing methods. *J Endod.* 2008;34(8):1003-5.

74/ Gall K, Sehitoglu H, Anderson R, Karaman I, Chumlyakov YI, et Kireeva IV. On the material behaviour of single crystal niti shape memory alloys and related polycrystalline phenomenon. *Materials Science and Engineering.* 2001;A317(1-2):85-92.

75/ Gao Y. Etude de la transformation martensitique d'un AMF Cu-Al-Be à grains fins par rayons X et neutrons. [Rapport de DEA LPMM]. Metz : ENSAM ; 2005. 8 p.

76/ Gavini G, Caldeira CL, Akisue E et coll. Resistance to flexural fatigue of reciproc R25 files under continuous rotation and reciprocating movement. *J Endod.* 2012;38(5):684-687.

77/ Giardino L, Ambu E, Savoldi E, Rimondi R. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite, MTAD, Tetraclean against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod.* 2007;33(7):852-855.

78/ Gito G. Nickel-titane ou acier inoxydable. *Inf Dent.* 1997, 41(48); 31-37.

79/ Gomes B, Souza S, Ferraz C, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J.* 2003;36(4):267-75.

80/ Gotthard R, Lehnert T : Alliages à mémoire de forme. Dans : Janot C, Ilschner B. *Traité des matériaux n°19 : Matériaux émergents,* .Lausanne : Presses polytechniques et universitaires romandes ; 2001, p. 81-105.

81/ Gouet JS. Désinfection endodontique : principes et méthodologie. *Rev Odont Stomat.* 2011;40(4):18-31.

- 82/ Grass G, Rensing C, Solioz M. Metallic Copper as an Antimicrobial Surface. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(5), 1541-1547.
- 83/ Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M. Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *Int Endod J.* 2003 ; 36 (6): 411-417.
- 84/ Guénin GA. Alliages à mémoire de forme. *Techniques de l'Ingénieur.* 1986 ; M530(10): 1-11.
- 85/ Haapasalo M, Udnaes T, Endal U. Persistent, recurrent and acquired infection of the root canal system post treatment. *Endod Topics.* 2003; 6(1):29-56.
- 86/ Haapasalo M, Qian W, Portenier, I, Waltimo T. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. *J Endod.* 2007; 33(8): 917-25.
- 87/ Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil JM. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endod Topics.* 2005; 10(1):77-102.
- 88/ Haapasalo M, YA Shen, Wei Qian. Irrigation in endodontics. *Dent Clin N Am.* 2010;54(2):291-312.
- 89/ Haikel Y, Serfaty R, Bateman G, Senger B, Allemann C. Dynamic and cyclic fatigue of engine-driven rotary nickel-titanium endodontic instruments. *J Endod.* 1999;25(6):434-40.
- 90/ Halkai R, Hedge MN et Halkai K. Evaluation of the presence of *Enterococcus faecalis* in root cementum : A confocal laser scanning microscope analysis *J Conserv Dent.* 2014; 17(2): 119-123.
- 91/ Harmond MF. Odontologie, Stomatologie, expérimentation in vitro de la biocompatibilité et du comportement des métaux. *Enjeux.* 1986 ; 74.
- 92/ Hartemann P, Blech MF. Efficacité bactéricide du peroxyde d'hydrogène sur *Escherichia coli*. *Annales médicales de Nancy et de l'Est.* 1995;34(2) :85-88.
- 93/ Harnw, Chen YH, Yuan K, Chung C, Huang P. Calculus-like deposit at apex of tooth with refractory apical periodontitis. *Endo Dent Traumat.* 1998;14(5):237-240. Cat

- 94/ Hargeaves KM, Cohen S. Pathways of the pulp. 10e éd. St. Louis : Mosby Elsevier ; 2011.
- 95/ Hautcoeur A. Les monocristaux : élaboration et mise en oeuvre. Journal de physique. 1982. Disponible sur : <http://geminterest.com/download/articles/article.monocristaux.pdf>
- 96/ Heithersay GS. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. J Br Endod Soc. 1975 ; 8(2) : 74-93.
- 97/ Hess W, Zurcher E. The anatomy of the root canals of the teeth of the permanent and deciduous dentitions. New York: William Wood ; 1929.
- 98/ Hope CK, Wilson M. Analysis of the Effects of Chlorhexidine on Oral Biofilm Vitality and Structure Based on Viability Profiling and an Indicator of Membrane Integrity. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(5):1461-1468.
- 99/ Hopper SH, Adams HS. Copper poisoning from vending machines. Public Health Rep. 1958;73(10), 910-914.
- 100/ Hottel TL, el-Refai NY, Jones JJ. A comparison of the effects of three chelating agents on the root canals of extracted human teeth. J Endod. 1999; 25(11): 716-7.
- 101/ Hornef M, Wick Mj, Rhen M, Normak S. Bactériale strategies for overcoming host innate and adaptative immune responses. Nat Immunol. 2002;11(3):1033-40.
- 102/ Hoshino E. Predominant obligate anaerobes in human carious dentin. J Dent Res. 1985;64(10): 1195-8.
- 103/ Hubbezoglu I, Zan R, Tunc T, Sumer Z, Antibacterial Efficacy of Aqueous Ozone in Root canals infected by Enterococcus faecalis Jundishapur. J Microbiol. 2014;7(7):e11411.
- 104/ Hubble TS, Hatton JF, Nallapareddy SR, Murray BE, Gillepsie MJ. Influence of Enterococcus faecalis proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. Oral Microbiol Immunol. 2003; 18(2): 121-126.
- 105/ Hülsmann M, Hahn W. Complications during root canal irrigation – literature review and case reports. Int Endod J. 2000;33(3):186-93.

106/ Humbeeck JV. Non medical application of shape memory alloys. *Material Science and Engineering*. 1999;273:134-48.

107/ Hsu YF, Wang WH, Wayman CM. Effects of thermal cycling on the martensitic transformation in two-phase α/β brasses. *Met Trans*. 1991;22:1473-8.

108/ Ingle JI, Bakland Leif K, Baumgartner JC. *Ingle's endodontics*. 6e éd. Hamilton : BC Decker ; 2008, 1474 p.

109/ Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2.0 % chlorhexidine gluconate and 5.25 % sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. *J Endod*. 1994 ; 20 (6): 276-278.

110/ Larsen J, Schonheyder HC, Singh KV, Lester CH, Olsen SS, Porsbo LJ, Garcia-Migura L, Jensen LB, Bisgaard M, Murray BE, Hammerum AM. Porcine and Human Community Reservoirs of *Enterococcus faecalis*. *Denmark Emerg Infect Dis*. 2011; 17(12): 2395-2397.

111/ Jordan L. Rocher P. *Le Nickel-Titane. ? : Société Francophone de Biomatériaux Dentaires ; 2009/2010. Disponible sur :*
<http://campus.cerimes.fr/odontologie/enseignement/chap16/site/html/cours.pdf>

112/ Jordan L, Filleul MP, Portier R. Les arcs orthodontiques à mémoire de forme : structures et propriétés. *Rev Orthop Dento Fac*. 1997; 31:199-211.

113/ Kakehashi S, Stanley R, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg*. 1965;20:340-349.

114/ Karunakaran E, Mukherjee J, Ramalingam B, Biggs CA. Biofilmology : a multidisciplinary review of the study of microbial biofilm. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2011;90(6) :1869-1881.

115/ Kaouache B. Analyse multiéchelles de la transformation martensitique induite par contrainte dans les AMFs. *Corrélation Contraintes-Microstructure. Thèse doctorante de l'ENSAM. Université de Metz; 2006, 210 p.*

116/ Kayaoglu G, Ortstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004;15(5): 308-20.

117/ Kazemi RB, Stenman E, Spangberg LS. A comparison of stainless steel and nickel titanium H-type instruments of identical design: torsional and bending tests. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2000;90(4):500-506.

- 118/ Kho P, Baumgartner JC. A Comparison of the Antimicrobial Efficacy of NaOCl/Biopure MTAD versus NaOCl/EDTA against *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics*. 2006;32(7):652-5.
- 119/ Kim HC, Kwak SW. Cyclic fatigue and torsional resistance of two new nickel-titanium instruments used in reciprocation motion: Reciproc versus WaveOne. *J Endod*. 2012; 38(4): 541-544
- 120/ Kim, EH, Rensing C, and McEvoy MM. Chaperone-mediated copper handling in the periplasm. *Nat Prod Rep*. 2010; 27(5):711-719.
- 121/ Kim HC, Kim HJ, Lee CJ, Kim BM, Park JK, Versluis A. Mechanical response of nickel-titanium instruments with different cross-sectional designs during shaping of simulated curved canals. *Int Endod J*. 2009 ; 42(7) : 593-602.
- 122/ Klein CL, Reclaru R, Van Kooten TG, Eschler PY, Susz C, and Kirkpatrick CJ. Cytotoxicité, une première évaluation biologique. *Proth Dent*. 1998;136: 15-21.
- 123/ Kolnick J. The Clinical use of the Er,Cr:YSGG laser in endodontic therapy. *ROOTS*. 2011; 1(3):14-18.
- 124/ Könönen E, Asikainen S, Saarela M, Karjalainen J, Jousimies-Somer H. The oral gram-negative anaerobic microflora in young children: longitudinal changes from edentulous to dentate mouth. *Oral Microbiol.Immunol*. 1994;9(3):136-141.
- 125/ Kowalski WJ, Kasper EL, Hatton JF, Murray BE, Nallapareddy SR, Gillespie MJ. *Enterococcus faecalis* Adhesin, Ace, Mediates Attachment to Particulate Dentin. *J Endod*. 2006;32(7): 634-37.
- 126/ Kum KY, Kazemi RB, Cha BY, Zhu Q. Smear layer production of K3 and ProFile Ni-Ti rotary instruments in curved root canals: a comparative SEM study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(4):536-541.
- 127/ Lasfargues JJ. Evolution des concepts de préparation : nouveaux concepts-nouvelles techniques. *Inf Dent*. 1997;22:1469-1489
- 128/ Laurichesse JM, Maestroni F, Breillat J. Concept actuel du traitement endodontique. Dans : Laurichesse JM, Maestroni F., Breillat J. *Endodontie clinique*. Paris : CDP ; 1986. p. 3-4.

- 129/ Lazazzera BA. Quorum sensing and starvation: signals for entry into stationary phase. *Curr Opin Microbiol.* 2000;3(2):177-182.
- 130/ Lebedev KA, Poniakina ID. The center of pathological (toxic) action of metals in an people organisms and role of galvanic currents in its induction. *Fiziol Cheloveka.* 2011; 37(4):90-7.
- 131/ Law A, Messer H. An evidence-based analysis of the antibacterial effectiveness of intracanal medicaments. *J Endod.* 2004 ; 30(10) : 689-694.
- 132/ Lee JH, Lee HW, Ahn JG, Chung HK, Song K. Proceedings, International Conference on Shape Memory and Superelasticity Technologies. Antwerp : Belgium ; 1999. p. 33.
- 133/ Lindhu U, Carlmark B, Grönquist SO, Lindvall A. Metal exposure from amalgam alters the distribution of trace elements in blood cells and plasma. *Clin Chem Lab Med.* 2001;39(2):134-142.
- 134/ Liu H, Ling J, Wang W, Huang. Biofilm formation capability of *Enterococcus faecalis* cells in starvation phase and its susceptibility to sodium hypochlorite. *J Endod.* 2010;36 (4): 630-5.
- 135/ Love RM. *Enterococcus faecalis*- a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endodont J.* 2001;34(5):339-405
- 136/ Love RM, Jenkinson HF. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(2): 171-83.
- 137/ Love RM, McMillan MD, Jenkinson HF. Invasion of dentinal tubules by oral streptococci is associated with collagen recognition mediated by the antigen I/II family of polypeptides. *Infect Immun.* 1997;65(12): 5157-64.
- 138/ Lu L, Lai MO, Lim AS. Mechanical fatigue of Cu-based shape memory alloy after different heat treatment. *Scripta Materialia.* 1996 ;34(1):157-162.
- 139/ Machtou P et Bronnec F. Dossier spécial irrigation endocanalaire. *AlphaOmega news France.* 2011 ; 141 : 5-7.
- 140/ Machtou P. Irrigation et désinfection en endodontie. Dans : Simon S, Machtou P, Pertot WJ et coll. *Endodontie.* Rueil-Malmaison: CdP; 2012, p219-235.

141/ Mac Spadden AC et JT. Une nouvelle approche pour la préparation et l'obturation canalaire : les instruments mécanisés en NiTi. Rev Fr Endo. 1993;12(1):9-19.

142/ Mac Spadden JT. Une nouvelle approche pour la préparation et l'obturation canalaire : les instruments mécanisés en NITI. Rev. Fr. Endo.1993; 12 (1):9-19.

143/ Macomber L, Imlay JA. The iron-sulfur clusters of dehydratases are primary intracellular targets of copper toxicity. Proc Natl Acad Sci USA. 2009; 106(20):8344-8349.

144/ Malard B. Caractérisation multiechelle par diffraction de neutrons et rayonnement synchrotron de la transformation martensitique sous contrainte dans un alliage à mémoire de forme CuAlBe. Thèse doctorante de l'ENAM. ENSAM CER Metz ; 2009, 196 p.

Disponible sur : <https://pastel.archives-ouvertes.fr/pastel-00004479>

145/ Martin B, Zelada G, Varela P, Bahillo JG, Magan F, Ahn S, Rodriguez C. Factors influencing the fracture of nickel-titanium rotary instruments. Int Endod J. 2003;36(4):262-6.

146/ Martin N, Mousset B, Duprez JN, Gregoire F, Hoyoux A, Linden A, Mainil J. Profils de résistance aux antibiotiques de souches d'Enterococcus spet d'Escherichia coli isolées dans les matières fécales de sangliers et cervidés sauvages Ann Méd Vét. 2007 ;151(2) :55-60.

147/ McHugh CP, Zhang P, Michalek S, Eleazer PD. pH required to kill Enterococcus faecalis in vitro. J Endod. 2004; 30(4): 218 -9.

148/ Michels, HT, Noyce JO, Keevil CW. Effects of temperature and humidity on the efficacy of methicillin-resistant Staphylococcus aureus challenged antimicrobial materials containing silver and copper. Lett Appl Microbiol. 2009;49(2):191-195.

149/ Miller C, Palenik CJ, Stamper KE. Factors affecting the aggregation of Actinomyces naeslundii during growth and in washed cell suspensions. Infect Immun. 1978;21(3):1003-9.

150/ Möller AJ, Fabricius L, Dahle'n G, Ohman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. Scandinavian Journal of Dental Research. 1981; 89(6) : 475-84.

- 151/ Mombelli A, McNabb H, Lang NP. Black-pigmenting gram-negative bacteria in periodontal disease. II. Screening strategies for detection of *P. gingivalis*. *J Periodontal Res.* 1991;26(4):308-313.
- 152/ Moniroli JP. Microscopie électronique. Paris : Edition Société française de la microscopie ; 2001.
- 153/ Moorer WR, Wesselink PR. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. *Int Endod J.* 1982;15(4):187-196.
- 154/ Moreau F. Etude par diffraction des rayons X des effets du cyclage pseudoélastique de l'alliage à mémoire de forme Cu-Al-Be. Thèse de doctorat en Génie physique et mécanique. Université de Metz ; 1998, 166 p.
- 155/ Morgan LF, Montgomery S. An evaluation of the crown-down pressureless technique *J Endod.* 1984;10(10): 491-498.
- 156/ Morse DR. Endodontic microbiology in the 1970s. *Int Endod J.* 1981;14(2):69-79.
- 157/ Mushak P. Metabolism and systemic toxicity of nickel. Dans: Nriagu JO. Nickel in the environment. New-York : John Wiley & Sons ; 1980, 833 p.
- 158/ Muller J. Alliage à mémoire de forme. *Mater et Tech.* 1988 ;7(8):7-16.
- 159/ Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the cause of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004; 15(6): 348-381.
- 160/ Nebot D, Curnier F. A propos des instruments en nickel- titane. *Inf Dent.* 1997 ; 31 : 2195-8.
- 161/ Noiry Y, Katsumoto T, Azakami H, Ebisu S. Effect of Er:YAG laser irradiation on biofilm-forming bacteria associated with endodontic pathogens in Vitro. *J Endod.* 2008;34(7):826-829.
- 162/ Norme ISO 10993 "Evaluation biologique des dispositifs médicaux", AFNOR ; 2007.
- 163/ Norme NF S90-701 "Matériel médico-chirurgical. Biocompatibilité des matériaux et dispositifs médicaux. Méthodes d'extraction". AFNOR ; Bulletin officiel N° 1999-1; 1988, 17 p.

164/ Oncag O, Hosgor M, Hilmioglu S, Zekioglu O, Eronat C, Burhanoglu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J.* 2003;36(6):423-32.

165/ Ortstavik D, Pitt Ford TR. Microbiology of apical periodontitis : Essential Endodontology Prevention and treatment of apical periodontitis. Oxford : Blackwell ; 1998. p. 106-130.

166/ Ozbek SM, Ozbek A, Erdorgan AS. Analysis of Enterococcus faecalis in samples from Turkish patients with primary endodontic infections and failed endodontic treatment by real-time PCR SYBR green method. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(5):370-4.

167/ Patoor E, Berveiller M. Les alliages à mémoire de forme. Paris : Hermes ; 1990, 65 p.

168/ Perez F, Bukiet F, Soler T, Guivarc'h M. Mise en forme canalaire et irrigation. *ID Inf Dent.* 2015 ; 97(32) : 48-62.

169/ Peters LB, Wesselink PR, Buijs JF, Van Winkelhoff AJ. Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. *J Endod.* 2001;27(2): 76-81.

170/ Peters OA, Schönenberger K, Laib A. Effects of four Ni-Ti preparation techniques on root canal geometry assessed by micro computed tomography. *Int Endod J.* 2001;34(3):221-30.

171/ Peters OA, Peters CI, Schönenberger K, Barbakow F. Protaper rotary root canal preparation : assessment of torque and force in relation to canal anatomy. *Int Endod J.* 2003;36(2) : 93-9.

172/ Pecora JD, Sousa-Neto MD, Estrela C. Soluções irrigadoras auxiliares do preparo do canal radicular. Dans: Estrela C, Figueiredo JAP. *Endodontia : princípios biológicos e mecânicos.* São Paulo: Artes Médicas ; 1999. p. 552-569.

173/ Picard B. Biocompatibilité des métaux dans le milieu buccal. *Actualités Odontostomatologiques.* 1984;145: 147-157.

174/ Piette E, Goldberg M. La dent normale et pathologique. Bruxelles : De Boeck Universite ; 2001.

175/ Pinheiro ET, Gomes BPF, Ferraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J.* 2003;36(1):1-11.

- 176/ Portenier I, Waltimo TMT, Haapasalo M. Enterococcus faecalis-the root canal survivor and "star" in post treatment disease. *Endodontic Topics*. 2003; 6(1):135-59.
- 177/ Prescott LM, Harley JP, Klein DA, Bacq-Calberg CM, Dusart J. Evaluation of the Bactericidal Effect of Er,Cr:YSGG, and Nd:YAG Lasers in Experimentally Infected Root Canals. Dans Lansing M, Prescott LM, John P, Harley JP, Donald A, Klein DA. *Microbiologie*. Bruxelles : Edition De Boeck; 2003, 1137 p.
- 178/ Pertot WJ, Webber J, Machtou P et Kuttlers. Mise en forme canalaire mono-instrumentale et mouvement réciproque : WaveOne® et Réciproc® *Inf Dent*. 2011;93(38):10-18.
- 179/ Pertot WJ, Machtou P, Webber J, et Lumley P. L'avenir de la mise en forme canalaire : rotation continue ou mouvement réciproque ? *Clinic*. 2008;29:153-159.
- 180/ Pruett YP, Clement DJ, Carns DL. Cyclic fatigue testing of Nickel- Titanium. *J Endod*. 1997; 23(2) : 77-85.
- 181/ Putters JL, Kaulesar Sukul DM, de Zeeuw GR, Bijma A, Besselink PA. Comparative cell culture effects of shape memory metal (nitinol), nickel and titanium: a biocompatibility estimation. *Eur Surg Res*. 1992;24(6):378-82.
- 182/ Qian-qian W, Cheng-fei Z, Xing-zhe Y. Clinical evaluation of different angulation radiograph in diagnosing multiple canals of mandibular first premolars in vivo. *West China journal of stomatology*. 2007;25(2):156-8.
- 183/ Ramta Bansal , Aditya Jain, Sunandan Mittal, Tarun Kumar, Neerja Jindal , Dilpreet Kaur. A Comparison Of The Antibacterial Efficiency Of MTAD (Mixture Of Tetracycline, Citric Acid And Detergent), 2.5% Sodium Hypochlorite And 2% Chlorhexidine Root Canal Irrigants Against Enterococcus Faecalis In Root Canals Of Single Rooted Mandibular Premolars - An In Vitro Study. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. 2013;5(3): 47-53.
- 184/ Rensing C, Grass G. Escherichia coli mechanisms of copper homeostasis in a changing environment. *FEMS Microbiol Rev*. 2003; 27(2-3):197-213.
- 185/ Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod*. 2010;36:(8)1277-1288.

- 186/ Ringel AM, Patterson SS, Newton CW, Miller CH, Mulhern JM. In vivo evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. *J Endod.* 1982;8(5):200-204.
- 187/ Roane JB, Sabala CL, Ducanson MG. The balance force concept for instrumentation of curved canals. *Journal of Endodontics.* 1985; 11(5): 201-211.
- 188/ Rowan MB, Nicholls JI, Steiner J. Torsionnal properties of stainless steel and nickel titanium endodontic files. *J Endod.* 1996;22(7) : 341-5.
- 189/ Rodilla V, Miles AT, Hawksworth GM. Metal toxicity and induction of metallothionein in cultured human proximal tubular cells. Dans : *Metal ions in Biology and Medicine* Vol. 4. Paris ;1986. p. 88-90.
- 190/ Rodriguez M, Felsenfeld AJ, Llach F. Aluminium administration in the rat separately affects the osteoblast and bone mineralization. *J Bone Miner Res.* 1990;5(1):59-67.
- 191/ Rosanova I, Mishendo BP, Zaitsev VV, et al. The effect of cells on biomaterial calcification : experiments with in vitro diffusion chambers. *J Biomed Mater Res.* 1991;25(2):277-80.
- 192/ Reynolds EF. *Martindale : the extra pharmacopoeia.* 31^e éd. London : Royal Pharmaceutical Society ; 1996. p. 1134-35.
- 193/ Saji G, Bettina B, Anil K, Saji G. Possibilities of Gutta-Percha- centered Infection in Endodontically Treated Teeth: An In Vitro Study. *J Endo.* 2010;36(7):1241-1244.
- 194/ Samyn JA, Nicholls JI, Steiner JC. Comparison of stainless steel and nickel-titanium instruments in molar root canal preparation. *J Endod.* 1996;22(4),177-89.
- 195/ Sattapan B, Palamara JE, Messer HH. Torque during canal instrumentation using rotary nickel titanium files. *J Endod.* 2000, 26(3) : 156-60.
- 196/ Saunders WP, Saunders EM. Coronal leakage as a cause of failure in root canal therapy : a review. *Endodontics and Dental Traumatology.* 1994; 10(3) : 105-108.
- 197/ Sawyer Donald T, Joan SV. How super is superoxide? *Acc. Chem. Res.* 1981;14(12):393-400.

- 198/ Schaffer E, Cand AD, Danesh G. Bending properties of rotary Nickel Titanium instruments. *Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol., Oral Radiol. and Endod.* 2003, 96(6) : 757-63.
- 199/ Semple AB, Parry WH, Phillips DE. Acute copper poisoning: An outbreak traced to contaminated water from a corroder geyser. *Lancet.* 1960;(2)700-701.
- 200/ Senges C, Wrbas KT, Altenburger M, Follo M, Spitzmüller B, Wittmer A, Hellwig E, Al-Ahmad A. Bacterial and *Candida albicans* adhesion on different root canal filling materials and sealers American Association of Endodontists. *J Endod.* 2011;37(9):1247-52.
- 201/ Shabahang S, Torabinejad M. Effect of MTAD on *Enterococcus faecalis* - contaminated root canals of extracted human teeth. *J Endod.* 2003;29(9):576 -9.
- 202/ Shen Y, Gao Y, Qian W, Ruse ND, Zhou X, Wu H et al. Threedimensional numeric simulation of root canal irrigant flow with different irrigation needles. *J Endod.* 2010 ; 36(5) : 884-889.
- 203/ Shen Y, Qian W. Fatigue testing of controlled memory wire nickel-titanium rotary instruments. *J Endod.* 2011; 37(7): 997-1001.
- 204/ Shepard FE, Moon PC, Grant GC, Fretwell LD. Allergic contact stomatitis from a gold alloy-fixed partial denture. *J Am Dent Assoc.* 1983 ; 106(2) : 198-199.47.
- 205/ Shore D, Wyatt RJ. Aluminium and Alzheimer diseases. *J Nerv Ment Dis.* 1983;171(9):553.
- 206/ Short AI, Winney RJ, Robson JS. Reversible microcytic hypochromic anaemia in dialysis patients due to aluminium intoxication. *Proceedings of the European Dialysis & Transplant Association.* 1980; 17:226-33.
- 207/ Shovelton DH. The presence and distribution of micro-organisms within non-vital teeth. *Brit Dent J.* 1964; 117: 101-7.
- 208/ Simon S, Pertot WJ. *Endodontie volume 1 : traitements.* Paris : Ed. CdP ; 2008.
- 209/ Siqueira JF. Chemomechanical Reduction of the Bacterial Population in the Root Canal after Instrumentation and Irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% Sodium Hypochlorite. *J Endod.* 2000 Jun;26(6):331-4

- 210/ Siqueira JF, Rocas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008;34(11):1291-1301.
- 211/ Siqueira JF, Guimarães-Pinto T, Rôças IN. Effects of chemomechanical preparation with 2,5% sodium hypochlorite and intracanal medication with calcium hydroxide on cultivable bacteria in infected root canals. *J Endod.* 2007;33(7):800-5.
- 212/ Siquiera Jr, Isabela N. Rôças. Endodontic Microbiology. Dans : Mahmoud Torabinejad, Richard E Walton. Principles and practice of endodontics. 3^{ie} édition. Saint-Louis : Saunders ; 2002. 580 p.
- 213/ Siqueira JF, Sen BH. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004 ; 97 (5): 632-641.
- 214/ Siqueira JF, de Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod.* 1996 ; 22(12) : 674-676.
- 215/ Siqueira JF, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide : a critical review. *Int Endod J.* 1999 ; 32(5) : 361-369.
- 216/ Siredey N, Eberhardt A. Fatigue behavior of Cu-Al-Be shape memory single crystals. *Materials Science and Engineering.* 2000;290:171-179.
- 217/ Sirbu Sorin. Twisted Files changed the world of endodontics - case report. *Endodontics International.* 2013;9(1):20-24.
- 218/ Sittner P, Hashimoto K, Kato M, Tokuda M. Stress induced martensitic transformations in tension/torsion of CuAlNi single crystal tube. *Scripta Materialia.* (2003) 48(12):1153-9.
- 219/ Smirnova GV, Oktyabrsky ON. Glutathione in Bacteria. *Biokhimiya.* Nov 2005;70(11):1199-211.
- 220/ Smith CS, Setchell DJ, Harty FJ. Factors influencing the success of conventional root canal therapy – A five years retrospective study. *Int Endod J.* 1993;26(6) : 321-333.
- 221/ Sonntag D. Geometrie von Nickel-Titan Instrumenten; mehr als nur PR?. *DAZ Forum.* 2006; 87(9-11):5-7.

- 222/ Spangberg L, Engström B, Langeland K. Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1973 ; 36(6) : 856-871.
- 223/ Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod.* 2006; 32(2):93-8.
- 224/ Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol.* 1992; 7(5): 57-62.
- 225/ Sundqvist G. Taxonomy, ecology and pathogenicity of the root canal flora. *Oral surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1994; 78(4) : 522-6.
- 226/ Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Dissertation. University of Michigan , 1976, 94 p.
- 227/ Orstavik D, Pitt Ford T. *Essential Endodontology : prevention and treatment of apical periodontitis.* 2nd Edition. Oxford : Blackwell Science ; 2008, 488 p.
- 228/ Sundqvist G, Figdor D. Life as a endodontic pathogen. Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. *Endodontic topics.* 2003;6(3): 3-28.
- 229/ Svensater G, Bergenholtz G. Biofilms in Endodontic infections. *Endodontic Topics.* 2004 : 9(1) ; 27-36.
- 230/ Thompson SA. An overview of nickel-titanium alloys used in dentistry. *International Endodontic Journal.* 2000;33(4):297-310.
- 231/ Thompson SA, Dummer PM. Shaping ability of Profile .04 taper series 29 rotary nickel-titanium instruments in simulated root canals. Part1. *Int Endod J.* 1997;30(1):1-7.
- 232/ Torabinejad M, Shabahang S, Aprecio RM, Kettering JD. The antimicrobial effect of MTAD: an in vitro investigation. *J Endod.* 2003;29(6):400 -3.
- 233/ Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, Bakland LK, Shabahang S. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. *J Endod.* 2003;29(4):233-9.
- 234/ Tronstad L, Sunde PT. The evolving new understanding of endodontic infections. *Endodontic Topics.* 2003;6(1):57-77.

235/ Ullman CJ, Peters OA. Effect of cyclic fatigue on static fracture loads in Protaper nickel-titanium rotary instruments J Endod. 2005;31(3):183-6.

236/ Vanherle G, Lambrechts B, Van Meerbeek B. L'amalgame dentaire en l'An 2000. Réalités Cliniques. 2000;11(4):393-405.

237/ Van der Sluis LW, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR. Passive ultrasonic irrigation of the root canal : a review of the literature. Int Endod J. 2007 ; 40(6) : 415-426.

238/ Van der Sluis L, Wu MK, Wesselink P. Comparison of 2 flushing methods used during passive ultrasonic irrigation of the root canal. Quintessence Int. 2009 ; 40(10) : 875-879.

239/ Van der Sluis LW, Vogels MP, Verhaagen B, Macedo R, Wesselink PR. Study on the influence of refreshment/activation cycles and irrigants on mechanical cleaning efficiency during ultrasonic activation of the irrigant. J Endod. 2010 ; 36 (4): 737-740.

240/ Van Humbeeck J, Stalmans R, Chandrasekaran M, Delaey L. On the stability of shape memory alloys. Dans: Duerig TW ua. Engineering aspects of shape memory alloys. London: Butterworth-Heinemann; 1990. p. 96-105.

241/ Varela-Patino P, Ibanez-Párraga A, Rivas-Mundiña B, Cantatore G, Otero XL, Martin-Biedma B. Alternating versus continuous rotation : a comparative study of the effect on instrument life. J Endod. 2010;36(1):157-159.

242/ Venø Poulsen L. Microbial biofilm in food processing. Lebensm Wiss u-technol. 1999;32:321-326.

243/ Vincent M, Gevrey AM, Thiebaud F, Engels-Deutsch M, Ben Zineb T. Shape Memory alloy for Endodontic canal preparation : The single crystal CuAlBe. European Cells and Materials. 2015; 30(5):p18.

244/ Vivacqua-Gomes N, Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Influence of irrigants on the coronal microleakage of laterally condensed gutta-percha root fillings. Int Endod J. 2002;35(9):791-5.

245/ Vulcain JM, Calas P. Haute élasticité en rotation à conicité variable : le HERO 642. Cahiers ADF. 1998;(2): 5-11.

- 246/ Yeung, Poon RW, Chu PK, Chung CY, Liu XY, Lu WW, Chan D, Chan SC, Luk KD, Cheung KM. Surface mechanical properties, corrosion resistance, and cytocompatibility of nitrogen plasma-implanted nickel-titanium alloys: a comparative study with commonly used medical grade materials. *J Biomed Mater Res.* 2007;82(2):403-14.
- 247/ Walia HM, Brantley WA, Gerstein H. An initial investigation of the bending and torsional properties of Nitinol root canal files. *J Endod.* 1988;14(7):346-351.
- 248/ Wang CS, Arnold RR, Trope M, Teixeira FB. Clinical efficiency of 2 % chlorhexidine gel in reducing intracanal bacteria. *J Endod.* 2007 ; 33(11) : 1283-1289.
- 249/ Warnes SL, Green SM, Michels HT, and Keevil CW. Biocidal efficacy of copper alloys against pathogenic enterococci involves degradation of genomic and plasmid DNA. *Appl Environ Microbiol.* 2010;76(16):5390-5401.
- 250/ Wataha JC, Malcom CT. Effect of alloy surface composition on release of elements from dental casting alloys. *J Oral Rehabil.* 1996 ; 23(9) : 583-589.
- 251/ Watts A, Addy M. Tooth discolouration and staining : a review of the literature. *British dental journal.* 2001;190(6):309-316.
- 252/ Wever DJ, Veldhuizen AG, Sanders MM, Schakenraad JM, van Horn JR. Cytotoxic, allergic and genotoxic activity of a nickel-titanium alloy. *Biomaterials.* 1997;18(16): 1115-20.
- 253/ Wever DJ, Veldhuizen AG, de Vries J, Busscher HJ, Uges DR, van Horn JR. Electrochemical and surface characterization of a nickel-titanium alloy. *Biomaterials.* 1998;19(7-9): 761-9.
- 254/Widu F, Drescher D, Junker R, Bourauel C. Corrosion and biocompatibility ; *J Mater Sci Mater Med.* May 1999;10(5):275-81.
- 255/ Williamson AE, Cardon JW, Drake DR. Antimicrobial susceptibility of monoculture biofilms of a clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2009 ; 35(1) : 95-97.
- 256/ Wilks SA, Michels H, Keevil CW. The survival of *Escherichia coli* O157 on a range of metal surfaces. *Int J Food Microbiol.* 2005; 105(3):445-454.

257/ Wu Ming H. Fabrication of Nitinol Materials and Components Proceedings of the International Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies, Kunming, China, 2001 p285-292. Dans : Mattila H. Intelligent Textiles and clothing. Cambridge :Woodhead Publishing, 506 p.

258/ Yared GM, Kulkarni GK. An in vitro study of the Torsionnal properties of new and used Nickel-Titanium files in plastic blocks. Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol., Oral Radiol. and Endod. 2003;96(4):466-71.

259/ Yoshida, Y, Furuta S, Niki E. Effects of metal chelating agents on the oxidation of lipids induced by copper and iron. Biochim Biophys Acta. 1993; 1210(1):81-88.

260/ Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. J Endod. 2005;31(11):817-20.

261/ Zehnder M. Root Canal Irrigants. J Endod. 2006 May;32(5):389-98.

262/ Zerella JA, Fouad AF, Spangberg LS. Effectiveness of a calcium hydroxide and chlorhexidine digluconate mixture as disinfectant during retreatment of failed endodontic cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005;100(6):756-61.

263/ Zou L, Shen Y, Li W. Penetration of Sodium Hypochlorite into Dentin J Endod. 2010;36(5):793-796.

Références bibliographiques électroniques

1/ Abbott JA, Jessica L. Barr, Gerald C. Dietz Jr, Gerald N, Glickman and Shepard S Goldstein. American Association of Endodontists. Rotary Instrumentation: an endodontic perspective [en ligne]. 2008 [consulté le 5 Février 2016]. Disponible sur : https://www.aae.org/uploadedfiles/publications_and_research/endodontics_colleagues_for_excellence_newsletter/wintero8ecfe.pdf.

2/ Archambaud M, Clave D. Fiche technique Enterococcus faecalis [en ligne]. 2007 [consulté le 12 novembre 2015]. Disponible sur : <http://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques/Enterococcus%20faecalis%20%28Edition%202007%29.pdf>

3/ Centre d'information sur le cuivre et ses alliages. [en ligne]. [consulté le 12 avril 2013].
Disponible sur : http://www.cuivre.org/contenu/docs/doc/pdf/metallurgie/09_corrosion.pdf

4/ Copperalliance. Les Cupro-Aluminium [en ligne]. 2004 [consulté le 14 Novembre 2015].
Disponible sur : http://admin.copperalliance.eu/docs/librariesprovider18/proprietes-du-cuivre-et-alliages/les-proprietes-du-cuivre-et-de-ses-alliages/05_cupro_aluminium.pdf?sfvrsn=2

5/ European commission. European Union Risk Assessment Report (EURAR) : Hydrogen peroxide [en ligne]. 2003 [consulté le 12 Aout 2015]. Disponible sur : <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC26024/EUR%20200844%20oEN.pdf>

6/ INERIS (Institut national de l'environnement industriel et des risques). Aluminium et dérivés [en ligne]. 2005 [consulté le 12 août 2015].
Disponible sur : <http://www.ineris.fr/substances/fr/substance/getDocument/2707>

7/ INRS (Institut national de recherche et de sécurité). Peroxyde d'hydrogène et solutions aqueuses : fiche toxicologique n°123 [en ligne]. 2015 [consulté le 13 décembre 2015].
Disponible sur : http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_123

8/ Institut de Veille Sanitaire, GERMMAD. Myofasciite à macrophages : rapport d'Investigation exploratoire [en ligne]. 2001 [consulté le 22 septembre 2015].

Disponible sur :

http://www.invs.sante.fr/publications/myofasciite/rapport_myofasciite.pdf

9/ Lagoudas Dimitri C. Introduction to Shape Memory Alloys [en ligne]. 1992 [consulté le 14 Novembre 2015].

Disponible sur :

<http://www.fisica.unige.it/~rocca/Didattica/Material%20Science/VIII%20-%20Intro%20to%20Shape%20Memory%20Alloys.pdf>

10/ Vilamajo Giol M. Opinion des experts- Le peroxyde d'hydrogène dans la désinfection et l'entretien de l'hygiène des installations d'eau en élevage [en ligne]. 2008 [consulté le 12 mars 2013]. Disponible sur : https://www.3trois3.com/opinion-des-experts/le-peroxyde-dhydrogene-dans-la-desinfection-et-lentretien-de-lhygie_802/

Table des matières

I. INTRODUCTION.....	16
II. LES ÉCHECS ENDODONTIQUES	18
A. Le traitement endodontique	18
1. Rappels fondamentaux	18
2. Procédure de traitement.....	20
B. Les infections endodontiques	23
1. Définitions	23
2. La colonisation bactérienne de l'endodonte.....	24
3. Formation et organisation du biofilm.....	27
4. Évolution de la flore endodontique selon le stade de l'infection bactérienne.	29
5. Topographie des flores endodontiques.....	30
a. Les biofilms intracanaux monocouches et/ou multicouches	30
b. Les biofilms extra-radicaux fixés sur la racine	31
c. Les bactéries non fixées présentes dans les tissus périapicaux	31
C. La flore microbienne associée aux infections endodontiques secondaires, persistantes et récurrentes.....	32
1. Étiologies des échecs de traitement endodontique.....	32
2. La flore microbienne associée aux échecs de traitement endodontique	32
3. <i>Enterococcus faecalis</i> , cause principale des infections endodontique secondaire, persistantes et récurrentes	34
a. Origine	34
b. Rôle dans les échecs de traitement en endodontie.....	36
c. Colonisation de l'endodonte par <i>Enterococcus faecalis</i>	36
d. Métabolisme et capacité de résistance dans l'endodonte.....	38
D. Action des solutions antibactérienne actuelles sur les microorganismes résistants	39
1. Propriétés recherchées pour une solution d'irrigation canalaire	40
2. Les principaux agents actuels en endodontie : cibles et efficacité	41
a. L'hypochlorite de sodium NaClO : l'irrigant de première intention	41
b. L'EDTA : complément à l'hypochlorite de sodium	44
c. Le Digluconate de chlorhexidine	46

d.	L'hydroxyde de calcium.....	48
3.	Moyens de lutte contre <i>Enterococcus faecalis</i>	49
a.	La préparation canalaire.....	49
b.	Le laser	50
c.	L'eau ozonée.....	50
d.	Efficacité de divers agents canaux sur <i>Enterococcus faecalis</i>	51
i.	L'hypochlorite de sodium : action sur <i>Enterococcus faecalis</i>	51
ii.	Le MTAD : action sur <i>Enterococcus faecalis</i>	52
iii.	Le peroxyde d'hydrogène : action sur <i>Enterococcus faecalis</i>	53
e.	Activité antibactérienne du cuivre et ses alliages sur <i>Enterococcus faecalis</i>	55
III.	UTILISATION DES ALLIAGES À MÉMOIRE DE FORME (AMF) EN ENDODONTIE	59
A.	Les principes fondamentaux des AMF en endodontie	59
1.	Apparition des AMF en endodontie.....	59
2.	La mémoire de forme et la superélasticité.....	60
3.	Une caractéristique commune : la transformation martensitique	62
a.	Aspect thermodynamique de la transformation	62
b.	Aspect cinématique de la transformation	64
B.	Le Nickel-Titane : la référence en endodontie	66
1.	Naissance de l'instrumentation canalaire mécanisée : principes et préceptes.....	66
2.	Composition du NiTi en endodontie	69
3.	Les principaux profils de lames : géométrie et influence.....	70
4.	Performances physiques du Nickel-Titane	79
a.	La flexibilité.....	79
b.	L'efficacité de coupe	80
c.	Résistance à la fracture du nickel titane	80
5.	Propriétés anti-microbiennes du nickel-titane	82
6.	Biocompatibilité du nickel-titane	83
C.	L'alliage CuAlBe monocristallin	84
1.	Composition et structure cristalline de l'alliage CuAlBe monocristallin	85
2.	Etude des éléments constituant l'alliage	86
a.	le cuivre	86

i.	Incidences dans l'alliage monocristallin	86
ii.	Incidence sur l'organisme humain	88
b.	l'aluminium	88
i.	Incidences dans l'alliage monocristallin	88
ii.	Incidence sur l'organisme humain	89
c.	le béryllium	90
i.	Incidences dans l'alliage monocristallin	90
ii.	Incidence sur l'organisme humain	91
3.	Interêts potentiels cliniques de l'alliage CuAlBe monocristallin.....	92
a.	Propriétés mécaniques du CuAlBe monocristallin	93
i.	La résistance à la fatigue du CuAlBe monocristallin	93
ii.	La superélasticité du CuAlBe monocristallin.....	96
iii.	La résistance mécanique du CuAlBe monocristallin.....	96
b.	Propriétés antimicrobiennes de l'alliage CuAlBe monocristallin.....	97
c.	Biocompatibilité du CuAlBe monocristallin	99
IV.	ÉTUDE DU RELARGAGE D'ÉLÉMENTS MÉTALLIQUES EN MILIEU HUMIDE .	101
A.	Objectifs de notre travail.....	101
B.	Matériels et méthodes	104
1.	Matériels.....	104
a.	Préparation des réactifs et des milieux.....	104
2.	Méthodes.....	107
a.	Préparation de la solution bactérienne	107
b.	Effet bactéricide du complexe alliage-peroxyde d'hydrogène.....	108
C.	Étude du relargage d'éléments métalliques Cu et Al en milieu oxydant par le spectrophotomètre d'émission atomique à plasma d'argon (SEA-DCP).....	110
1.	Objectifs	110
2.	Principe de fonctionnement du spectrophotomètre d'émission atomique à plasma d'argon (SEA-DCP)	110
3.	Avantages de la méthode de dosage :	112
4.	Etalonnage de l'appareil et réalisation des dosages	112
5.	Conditions de mesure.....	113
D.	Résultats	114

1. Étude de l'activité bactéricide du complexe CuAlBe-peroxyde d'hydrogène sur <i>Enterococcus faecalis</i>	115
2. Étude du relargage de l'élément cuivre en fonction de la concentration en peroxyde d'hydrogène et du temps de contact	116
a. Temps de contact de 2 minutes	116
b. Temps de contact de 30 secondes.....	117
3. Étude du relargage de l'élément aluminium en fonction de la concentration en peroxyde d'hydrogène et du temps de contact	118
a. Temps de contact de 2 minutes	118
b. Temps de contact de 30 secondes.....	119
4. Étude du relargage des éléments cuivre et aluminium en fonction de l'état du fil d'alliage et du temps de contact.....	120
a. Temps de contact de 2 minutes pour l' élément cuivre.....	120
b. Temps de contact de 30 secondes de l' élément cuivre	121
c. Temps de contact de 2 minutes pour l'élément aluminium.....	122
d. Temps de contact de 30 secondes pour l' élément aluminium	123
5. Étude du taux de relargage du cuivre et de l'aluminium en fonction de la nature du fil témoin.....	124
a. Temps de contact de 2 minutes entre le peroxyde d'hydrogène, un fil pur et un fil d'alliage CuAlBe	124
b. Temps de contact de 30 secondes entre le peroxyde d'hydrogène, un fil pur et un fil d'alliage CuAlBe	125
E. Discussion	127
F. Conclusion de la recherche	135
V. Perspectives.....	138
VI. Conclusion	142
VII. Bibliographie	144

NASREDDINE Greyce - Intérêts potentiels de l'utilisation de l'alliage Cuivre-Aluminium-Béryllium en Endodontie.

Nancy 2016 : 171 pages. 43 figures ; 1 tableau.

Th. : Chir.-Dent. : Nancy 2016

Mots-clefs :

- Enterococcus faecalis*
- Alliage CuAlBe monocristallin
- Bactéricidie
- Biocompatibilité

Résumé :

Les solutions actuelles de traitement endodontiques proposent la combinaison d'une détersion mécanique et chimique en utilisant des instruments de préparation mécanique et une solution d'irrigation (NaClO). Cependant, des échecs de traitement existent et *Enterococcus faecalis* est souvent désignée comme principale responsable de ces situations. L'alliage CuAlBe monocristallin nettement plus superélastique que le NiTi possède également des propriétés antimicrobiennes qui pourraient être utiles en endodontie. Ce travail dresse un état de l'art sur ce sujet et propose, par l'intermédiaire d'une expérimentation, l'utilisation d'un tel AMF en endodontie.

Membres du jury :

Pr. Jean-Marc MARTRETTE	Professeur des universités	Président
<u>Dr. Marc ENGELS-DEUTSCH</u>	<u>Maître de Conférences des universités</u>	<u>Directeur de thèse</u>
Dr. Marin VINCENT	Assistant hospitalo-universitaire	Juge
Pr. Tarak BEN ZINEB	Professeur des universités	Juge

Adresse de l'auteur :

Greyce NASREDDINE
8, rue Bertrand Auerbach
54600 Villers les Nancy

Jury : Président : J.M. MARTRETTE – Professeur des Universités
Juges : M. ENGELS-DEUTSCH – Maître de Conférence des Universités
M. VINCENT – Assistant Hospitalier Universitaire
T. BEN ZINEB – Professeur des Universités

Thèse pour obtenir le diplôme D'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire

Présentée par: **Mademoiselle NASREDDINE Greyce**

né(e) à: **NANCY (Meurthe-et-Moselle)**

le **14 janvier 1990**

et ayant pour titre : « **Intérêts potentiels de l'utilisation de l'alliage Cuivre-Aluminium-Béryllium monocristallin en Endodontie** ».

Le Président du jury

J.M. MARTRETTE



Le Doyen,
de la Faculté d'Odontologie

J.M. MARTRETTE



Autorise à soutenir et imprimer la thèse 9112

NANCY, le 24 MARS 2016

Le Président de l'Université de Lorraine

P. MUTZENHARDT



