



## LES TECHNIQUES de SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION DÉMONTRENT CLINIQUEMENT QUE ZENDIUM™ FAVORISE L'ÉQUILIBRE DU MICROBIOME BUCCAL\*

**Une nouvelle étude *in vivo* met en évidence la pertinence d'un dentifrice contenant des enzymes et des protéines pour favoriser l'équilibre du microbiome buccal.**

Une nouvelle étude d'envergure portant sur les microbiomes, publiée dans la revue *Scientific Reports* et présentée à la séance générale et à l'exposition du congrès de l'IADR/AADR/CADR à San Francisco, démontre l'efficacité du dentifrice Zendium™ pour favoriser l'équilibre du microbiome buccal.\*

Les données de l'étude clinique menée sur 14 semaines<sup>1</sup> ont démontré que le dentifrice contenant des enzymes et des protéines augmente de manière significative les bactéries associées à la santé et réduit les bactéries responsables des maladies dans le microbiome de la plaque\*, générant une communauté microbienne plus étroitement liée à la santé, comparé au niveau de référence\*. Pour la première fois, il apparaît qu'un dentifrice peut entraîner une évolution favorable significative du microbiome buccal.

Cette recherche pionnière a fait appel aux techniques de séquençage de nouvelle génération, en collaboration avec les centres de recherche sur le génome les plus reconnus et a utilisé la banque de données sur le microbiome buccal humain (*Human Oral Microbiome Database*) afin de caractériser le microbiome de la plaque dentaire.

« La bouche est colonisée par le second microbiome le plus diversifié du corps humain, et aujourd'hui, les techniques moléculaires les plus avancées nous ont permis de mieux comprendre comment favoriser l'équilibre du microbiome », explique le Dr Alison Green, Directrice de Recherche Bucco-Dentaire chez Unilever. « Les dentistes reconnaissent de plus en plus que l'équilibre du microbiome a des implications importantes dans la prévention de la santé bucco-dentaire<sup>2</sup> ».

Les bactéries associées à la santé et à la maladie coexistent dans le biofilm de la plaque dentaire et les nouvelles données indiquent que c'est leur abondance relative qui est la clé de la santé buccale<sup>2,3</sup>. De nombreux facteurs, tels que l'alimentation, le tabagisme, le stress, les traitements médicamenteux et les changements hormonaux peuvent influencer l'équilibre du microbiome buccal, pouvant le modifier avec une prédominance des bactéries associées aux maladies<sup>2,3</sup>. Ce déséquilibre, ou dysbiose, peut augmenter le risque de problèmes buccaux dentaires tels que les caries, les maladies parodontales et l'halitose<sup>2,3,4,5</sup>. Le Professeur Martine Bonnaure Mallet (PU-PH Université Rennes 1 & directeur équipe Microbiologie EA1254) ajoute : « Notre connaissance grandissante de l'écologie du microbiome buccal nous conduit vers une nouvelle approche de la gestion de la santé bucco-dentaire, qui consisterait à rétablir une symbiose dans la bouche plutôt que d'essayer d'éliminer toutes les bactéries ». « Il est important que les professionnels de la santé bucco-dentaire intègrent complètement l'idée d'un microbiome buccal équilibré, et sa pertinence pour la santé bucco-dentaire ».

La formule de Zendium contient des enzymes et des protéines naturelles reflétant certaines de celles présentes dans la salive, connues pour contribuer à un microbiome sain<sup>6</sup>. Cette étude démontre une évolution positive du microbiome de la plaque en utilisant le dentifrice Zendium et prouve que son système enzymatique et protéinique peut aider la cavité buccale à se protéger naturellement.

\*Fait référence au microbiome de la plaque dentaire et à l'abondance relative d'espèces bactériennes ayant un lien établi avec la santé ou les pathologies des gencives au bout de 14 semaines d'utilisation biquotidienne du dentifrice Zendium comparé au niveau de référence.

### Notes pour l'éditeur

Demandes des médias : Veuillez contacter Catherine Gaillard / Valérie Taborin (Unilever France)

### À propos des méthodes d'étude clinique

Les technologies de génomique ont révolutionné la microbiologie en permettant aux scientifiques d'acquérir des connaissances sans précédent sur le microbiome buccal, sa composition et la fonction de chaque bactérie.

En s'appuyant sur des techniques de séquençage de nouvelle génération, l'ADN des bactéries a été extrait à partir d'échantillons de plaque et préparé pour permettre l'analyse du microbiome au niveau des espèces. L'identification des espèces a été effectuée avec des Centres de Recherche sur le génome de renommée mondiale en s'appuyant sur la Banque de Données du Microbiome Buccal Humain (*Human Oral Microbiome Database*). Enfin, l'analyse bio informatique des données a permis de classer les espèces bactériennes en fonction de leur association avec la santé des gencives ou les maladies des gencives selon la littérature scientifique.

La publication intégrale est disponible ici : <http://www.nature.com/articles/srep43344>

### À propos de Zendium

Le dentifrice Zendium contient une combinaison d'enzymes et de protéines naturelles reflétant certaines de celles présentes dans la salive. Les enzymes : l'amyloglucosidase, la glucose oxydase et la lactoperoxydase fonctionnent en cascade pour accroître la teneur en peroxyde d'hydrogène dans la salive et catalyser la formation d'hypothiocyanite, un composant antimicrobien naturel essentiel de la bouche. Les protéines : le lysozyme, la lactoferrine et le colostrum comme source d'IgG fonctionnent en harmonie avec le système lactoperoxydase pour naturellement protéger la bouche. Zendium contient une quantité standard de fluorure (1 450 ppm de fluorure de sodium) et ne contient pas de SLS (Sodium Lauryl Sulfate), offrant ainsi une approche douce de l'hygiène bucco-dentaires qui convient à tous les patients.

### Références

- <sup>1</sup> Adams SE, et al. *Sci Rep* 2017; 7:1-11 (epub)
- <sup>2</sup> Kilian M, et al. *Br Dent J.* 2016; 221(10):657-666.
- <sup>3</sup> Marsh PD. *J Oral Microbiol* 2014; 6:26176.
- <sup>4</sup> Zaura E, et al. *BMC Microbiol* 2009; 9:259.
- <sup>5</sup> Marsh PD. *Br Dent J.* 2012; 212(12):601-6.
- <sup>6</sup> van't Hof W, et al AV. *Monogr Oral Sci* 2014; 24:40-51.

# ÉTUDE CLINIQUE RANDOMISÉE ÉVALUANT LES EFFETS D'UN DENTIFRICE CONTENANT DES ENZYMES ET DES PROTÉINES SUR L'ÉCOLOGIE DU MICROBIOME DE LA PLAQUE DENTAIRE

Adams SE, Arnold D, Murphy B, Carroll P, Green AK, Smith AM, Marsh PD, Chen T, Marriott RE and Brading MG. *Scientific Reports* 2017; 7:43344.

## Résumé

Il est désormais admis que les nombreuses espèces constituant le microbiome buccal jouent un rôle déterminant dans la formation et le maintien de la santé bucco-dentaire. Pouvoir utiliser une taxonomie pour l'identification des espèces d'une communauté est essentiel pour en comprendre sa diversité et son association avec la santé et les pathologies.

Nous rapportons l'ensemble des effets de l'utilisation d'un dentifrice contenant des enzymes et des protéines sur l'écologie du microbiome de la plaque dentaire en comparaison à un dentifrice témoin. Les résultats présentés ici démontrent qu'un dentifrice contenant des enzymes et des protéines peut accroître les défenses naturelles de la salive afin de favoriser une évolution globale de la communauté, entraînant une multiplication des bactéries associées à la santé gingivale ainsi qu'une diminution des bactéries associées aux parodontopathies. L'analyse statistique montre des augmentations significatives des 12 taxons impliqués dans la santé gingivale, notamment les *Neisseria* spp., ainsi qu'une diminution significative des 10 taxons liés aux parodontopathies, notamment les *Treponema* spp. Les résultats indiquent qu'un dentifrice contenant des enzymes et des protéines peut entraîner une évolution significative de l'écologie du microbiome buccal (au niveau des espèces), générant ainsi une communauté plus étroitement liée à la santé.

## CONTEXTE GÉNÉRAL

Les êtres humains vivent en symbiose avec leur microbiote commensal, et cette relation est essentielle pour la santé.<sup>1</sup> En général, elle maintient l'homéostasie : la présence d'une communauté microbienne d'une grande diversité prévient le développement d'une seule espèce potentiellement pathogène.<sup>2</sup> Cependant, lors d'une rupture de la symbiose, par exemple en cas de mauvaise hygiène buccale, une dysbiose ainsi que des pathologies bucco-dentaires peuvent apparaître.<sup>3</sup>

La salive joue un rôle important pour prévenir la dysbiose et maintenir la santé de la cavité buccale. Les enzymes salivaires et les protéines exercent une pression sélective sur le microbiote, contribuant ainsi à le protéger contre les agents pathogènes.<sup>2,4</sup>

Il s'agit en particulier du système lactoperoxydase, activé par le peroxyde d'hydrogène, qui oxyde le thiocyanate pour produire de l'hypothiocyanite, un antimicrobien naturel.<sup>5,6</sup>

Le peroxyde d'hydrogène joue lui-même un rôle dans la santé buccale : il inhiberait la croissance bactérienne de la plaque dentaire, et il contribue à la production d'oxygène grâce à la catalase.<sup>7</sup> D'autres composants salivaires sont également essentiels aux défenses naturelles de la salive comme le lysozyme et la lactoferrine, des antimicrobiens particulièrement actifs lorsqu'ils sont associés au système lactoperoxydase.<sup>8,9</sup>

Les produits d'hygiène buccale ont été conçus dans le but de renforcer le système de défense naturel de la salive, et ainsi de contrôler la communauté microbienne buccale. Zendium™ contient trois enzymes (amyloglucosidase, glucose oxydase et lactoperoxydase) et trois protéines (lysozyme, lactoferrine et immunoglobuline G). Il a été prouvé que les taux de lysozyme et de peroxyde d'hydrogène étaient supérieurs après un brossage avec le dentifrice Zendium par rapport au dentifrice témoin.<sup>10</sup>

Jusqu'à récemment, les études relatives aux effets des dentifrices sur le microbiome buccal étaient limitées par les techniques traditionnelles basées sur la culture.

Une grande partie du microbiote résidant ne peut pas être cultivée en laboratoire et demeure par conséquent indétectée.<sup>11</sup>

Cependant, les dernières avancées en matière de technologie de séquençage de l'ADN permettent de mesurer les modifications du microbiome buccal au niveau de la communauté, tandis que certaines banques de données telles que Human Oral Microbiome Database, (HOMD) permettent l'évaluation au niveau des espèces, ce qui s'avère essentiel en raison des différentes fonctions des espèces étroitement liées au sein du même genre.

L'objectif de cette étude était de comprendre les effets de l'utilisation d'un dentifrice sur l'écologie du microbiome buccal au niveau des espèces, en comparant un dentifrice fluoré contenant des enzymes et des protéines à un dentifrice fluoré n'en contenant pas..

## PLAN DE L'ÉTUDE ET MÉTHODOLOGIE

L'étude a été menée par un tiers indépendant. Les sujets, âgés de  $\geq 18$  ans, n'avaient pas suivi de traitement antibiotique ni fait l'objet d'un détartrage ou polissage au cours du mois précédent le début de l'étude, et ne présentaient aucun signe de caries non traitées ou de parodontopathies significatives.

L'étude a été réalisée selon un plan parallèle, randomisé et en double aveugle. Pendant la période d'inclusion, chacun des sujets ( $n = 111$  ayant terminé l'étude) s'est brossé les dents deux fois par jour avec un dentifrice fluoré (1 450 ppm F) pendant 4 semaines.

Au terme de cette période d'inclusion, un échantillon de référence de la plaque dentaire a été prélevé au maxillaire supérieur, puis les patients ont été randomisés soit dans le groupe de brossage biquotidien avec Zendium (« dentifrice test ») soit dans le groupe avec dentifrice fluoré (dentifrice témoin), sur une période de 14 semaines. Au terme de cette période de test, un autre échantillon de plaque dentaire a été prélevé.

L'ADN a été extrait des échantillons de plaque dentaire pour amplification par PCR et séquençage.

La classification au niveau des espèces a été réalisée au Forsyth Institute de Cambridge (Massachusetts, USA), grâce aux banques de données HOMD, HOMD-extended (HOMDEXT) et GreenGenes Gold.

## RÉSULTATS PRINCIPAUX

Au total, 220 échantillons de plaque dentaire ont été analysés. À partir de 37,9 millions de points de données individuels, l'analyse bio-informatique a identifié 414 espèces.

- **L'analyse au niveau des espèces des échantillons prélevés à l'inclusion (niveau de référence) n'a révélé aucune différence significative des communautés. A 14 semaines, des évolutions significatives des communautés ont été observées par rapport aux échantillons prélevés à l'inclusion (niveau de référence) chez les utilisateurs de Zendium ( $p = 0,025$ ), tandis qu'aucune différence n'a été observée chez les utilisateurs du dentifrice témoin. Une différence significative a été observée entre le groupe du dentifrice Zendium et le groupe du dentifrice témoin à 14 semaines ( $p = 0,003$ ).**

Les espèces identifiées ont été attribuées aux espèces liées à la santé gingivale et/ou aux pathologies gingivales, selon les résultats de l'analyse de la littérature. Une augmentation de l'abondance relative des organismes associés à la santé gingivale et une diminution de l'abondance relative des organismes associés aux parodontopathies pour le dentifrice test ont ainsi été démontrées.

- **Avec le dentifrice Zendium, l'abondance de 12 espèces bactériennes associées à la santé gingivale a augmenté, tandis que l'abondance de 10 espèces liées aux parodontopathies a diminué.**
- **Pour le dentifrice témoin, l'abondance d'une espèce associée à la santé gingivale a augmenté et l'abondance de 4 espèces liées aux parodontopathies a diminué.**

L'évolution de l'abondance relative des espèces avec le dentifrice test est compatible avec l'action des enzymes et des protéines contenus dans le dentifrice Zendium, avec une augmentation du peroxyde d'hydrogène et par conséquent, l'augmentation du taux d'oxygène. Par exemple, les espèces *Neisseria*, des micro-organismes aérobies généralement associés à la santé gingivale et capables de se protéger eux-mêmes contre l'action antimicrobienne du peroxyde d'hydrogène, ont vu leur abondance relative augmenter. À l'inverse, un certain nombre d'espèces anaérobies, tels que les tréponèmes, ont vu leur abondance relative diminuer.

## CONCLUSION

- **Le brossage avec Zendium, un dentifrice contenant des enzymes et des protéines, peut entraîner une évolution significative de l'écologie du microbiome buccal (au niveau des espèces), générant ainsi une communauté plus étroitement liée à la santé. Il existe une augmentation de l'abondance relative des organismes de la plaque dentaire associés à la santé gingivale, avec une diminution concomitante du nombre d'organismes liés aux pathologies.**
- **Cette étude apporte des preuves solides quant à la pertinence biologique que l'augmentation des défenses salivaires favorise la santé buccale.**

## Références

1. Cho I & Blaser MJ. Nat Rev Genet 2012; 13:260-270;
2. van 't Hof W, et al. Monogr Oral Sci 2014; 24:40-51;
3. Kilian M, et al. Br Dent J 2016; 221: 657-666;
4. Marsh PD, et al. Periodontol 2000 2016; 70:80-92;
5. Midda M & Cooksey MW. J Clin Periodontol 1986; 13:950-956;
6. Tenovou J, et al. Proc Finn Dent Soc 1991; 87:197-208;
7. Marsh PD & MM. Oral Microbiology (Oxford, 1999);
8. Lenander-Lumikari M, et al. J Dent Res 1992; 71:484-490;
9. Soukka T, et al. Scand J Dent Res 1991; 99:390-396;
10. Brading M. 47th Meeting of CED-IADR. Turkey, 2015; Oral Presentation #0027;
11. Paster BJ, et al. J Bacteriol 2001; 183:3770-3783.