

Université de Montréal

**Caractérisation des modifications chimiques de la dentine humaine et de l'effet du  
PENTA sur la dentine et ses composantes**

par

Mauro Di Renzo

Département de chimie

Faculté des arts et des sciences

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de

Philosophiæ Doctor (Ph. D.)  
en chimie

Avril, 1999

© Mauro Di Renzo, 1999



QD  
3  
U54  
1999  
V.023

Université de Montréal

Évaluation des modifications chimiques de la chaîne jumelle et de la chaîne latérale de la protéine PETA sur la chaîne et ses propriétés

par

Martin D. Bessis

Département de chimie

Faculté des arts et des sciences

Thèse présentée à la Faculté des arts et des sciences  
en vue de l'obtention du grade de

Philosophie Doctor (Ph.D.)  
en chimie

juin 1999

© Martin D. Bessis, 1999



Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée:

**"Caractérisation des modifications chimiques de la dentine humaine et de l'effet du  
PENTA sur la dentine et ses composantes"**

présenté par:  
Mauro Di Renzo

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Michel Lafleur  
Thomas Hill Ellis  
Antonella Badia  
Gaétan Laroche  
Jean Barbeau

président-rapporteur  
directeur de recherche  
membre du jury  
examineur externe  
représentant du doyen

Thèse acceptée le:

## Sommaire

La formation de liens durables et étanches entre la dentine humaine et une obturation a une importance capitale en médecine dentaire. De tels liens sont favorisés par des systèmes adhésifs dentinaires. Ces systèmes adhésifs requièrent généralement l'utilisation d'un prétraitement de la surface dentinaire à l'aide d'un acide afin de la préparer à recevoir l'agent d'adhésion qui, à son tour, précède la déposition du composite qui formera l'obturation. Par contre, l'effet sur la chimie de la dentine de tels prétraitements n'a jamais été étudié de manière systématique. Cette thèse se consacre à une telle caractérisation en plus d'évaluer l'interaction entre la dentine et un agent d'adhésion (PENTA) qui ne demande aucun prétraitement.

Dans un premier temps, la technique d'absorption atomique a été utilisée afin de quantifier le calcium qui est extrait de la surface de la dentine humaine lors de son exposition à plusieurs acides (mordançage). La cinétique d'une telle déminéralisation a été établie et l'effet de la nature de l'acide ainsi que du contre-ion a été évalué.

Les résultats démontrent que le mordançage de la dentine suit une cinétique qui est gérée par la diffusion des espèces à l'interface. Parmi les acides étudiés (chlorhydrique, citrique, maléique et phosphorique), seul l'acide chlorhydrique se comporte selon les prévisions de l'équation chimique de déminéralisation qui prédit une déminéralisation accrue lors de l'augmentation de l'activité des protons. Le mordançage par les trois acides varie peu avec l'acidité et l'acide citrique a démontré une corrélation inverse avec l'activité des protons. Pour ces acides faibles polyprotiques, des effets de tamponnage et de viscosité expliquent leur comportement. De plus, l'acide citrique forme des espèces insolubles à l'interface qui gênent la déminéralisation aux valeurs de pH faibles.

Par la suite, une étude de l'effet des acides sur la surface de la dentine a été effectuée par spectroscopie infrarouge photoacoustique par transformée de Fourier (PA-FTIR). Les résultats obtenus confirment l'effet réduit de l'acide citrique en plus d'indiquer l'enlèvement de la phase minérale (hydroxyapatite de calcium) de la dentine. Le mordançage de la dentine est très rapide durant les premières minutes d'exposition aux acides, un résultat qui concorde bien avec la cinétique des réactions contrôlées par

diffusion. Les spectres de la dentine mordancée présentent une surface ayant une superficie beaucoup plus élevée que la dentine non traitée. Cette surface est aussi très riche en collagène (composante majoritaire de la phase minérale). De plus, les résultats suggèrent que le collagène est possiblement modifié par l'exposition aux acides.

La technique de PA-FTIR a aussi été utilisée lors du traitement de la dentine à l'hypochlorite de sodium afin d'enlever la phase organique de la dentine. Les spectres obtenus montrent que la déprotéination de la dentine procède par un processus plus lent que le mordantage. Par contre, l'enlèvement de la phase organique lorsqu'elle n'est pas intercalée dans le réseau cristallin apatitique est très rapide. Donc, par un traitement séquentiel de la dentine par un acide suivi de l'hypochlorite de sodium, il est possible de générer une surface dentinaire qui est chimiquement semblable à la dentine non traitée.

L'étude du PENTA (dipentaerythritol pentaacrylate ester phosphorique) par PA-FTIR n'a pu déceler une interaction entre ce produit et la dentine. Par contre, elle a permis de comprendre l'importance que joue le solvant lors de l'utilisation de ce produit afin de le déposer et l'enlever de la dentine en plus de souligner les limites possibles de la technique de PA-FTIR.

## Table des matières

<b>Sommaire</b>	<b>iii</b>
<b>Table des matières</b>	<b>v</b>
<b>Liste des tableaux</b>	<b>viii</b>
<b>Liste des figures</b>	<b>ix</b>
<b>Liste des abréviations</b>	<b>xiii</b>
<b>Chapitre I. Introduction</b>	<b>1</b>
I.1. Les restaurations dentaires	2
I.2. La dentine humaine	3
I.3. Matériaux et techniques	6
I.3.a. L'amalgame dentaire	6
I.3.b. Les polymères et les matériaux composites	7
I.3.c. Traitement de la surface et adhésion	10
I.4. Buts de cette étude	16
I.4.a. Caractérisation de la dentine humaine lors de prétraitements	16
I.4.b. Caractérisation du PENTA et de son effet sur la dentine humaine	19
Références	22
<b>Chapitre II. La déminéralisation de la dentine humaine par quatre acides étudiée par absorption atomique</b>	<b>26</b>
II.1. Conditions expérimentales et préparation des échantillons	29
II.1.a. Interférences dues à la présence de phosphate et citrate	31
II.1.b. Calibration du pH-mètre	33
II.2. Résultats	34
II.2.a. Dépression du signal due aux ions interférents	34
II.2.b. Après deux minutes de mordantage	35
II.2.c. Mordantage suivi pendant deux minutes	37
II.3. Discussion des résultats	39
II.4. Conclusions	42
Références	45

<b>Chapitre III. Les modifications chimiques de la dentine étudiées par</b>	
<b>PA-FTIR: Les acides</b>	<b>49</b>
III.1. La spectroscopie PA-FTIR	50
III.2. Préparation et caractérisation des échantillons	55
III.3. Résultats	57
III.3.a. Traitement à l'acide par étapes	57
III.3.b. Traitement à l'acide continu pendant deux minutes	64
III.4. Discussion des résultats	64
III.5. Conclusions	71
Références	72
<b>Chapitre IV. Les modifications chimiques de la dentine étudiées par</b>	
<b>PA-FTIR: L'hypochlorite de sodium</b>	<b>75</b>
IV.1. Préparation et caractérisation des échantillons	77
IV.2. Résultats	78
IV.2.a. Dentine sans prétraitement exposée à l'hypochlorite de sodium	78
IV.2.b. Traitement consécutif à l'acide et l'hypochlorite de sodium	79
IV.3. Discussion	84
IV.4. Conclusions	86
Références	89
<b>Chapitre V. Traitement de la dentine et ses composantes par des solutions</b>	
<b>de PENTA ou Di-PENTA étudiées par PA-FTIR</b>	<b>91</b>
V.1. Préparation des échantillons	95
V.2. Caractérisation du PENTA et Di-PENTA	96
V.3. Résultats	99
V.3.a. Traitement de la dentine	99
V.3.b. Traitement du collagène	108
V.3.c. Traitement de l'hydroxyapatite de calcium	113
V.4. Discussion	118
V.5. Conclusions	120
Références	121

<b>Chapitre VI. Conclusions globales</b>	<b>122</b>
VI.1. Les modifications chimiques de la dentine	123
VI.2. Le traitement de la dentine par le PENTA	130
VI.3. Conclusions	132
VI.4. Le futur	132
Références	134
<b>Remerciements</b>	<b>xvi</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau II-1:</b> Atténuation du signal de calcium mesurée pour différents acides à pH 1.00, 1.15 et 1.40	34
<b>Tableau II-2:</b> Concentration moyenne de calcium extrait après deux minutes d'exposition à un acide et différences statistiques ( $p < 0.05$ )	36
<b>Tableau II-3:</b> Acides utilisés dans l'expérience AA et leur $pK_a$	41
<b>Tableau III-1:</b> Comparaison des rapports des bandes $1116\text{ cm}^{-1}$ (phosphate) sur $1665\text{ cm}^{-1}$ (Amide I) pour les échantillons de dentine traités à l'acide maléique, citrique ou phosphorique	70
<b>Tableau V-1:</b> Attribution des principaux pics d'absorption du PENTA et Di-PENTA	98
<b>Tableau V-2:</b> Tableau résumant les résultats observés pour les expériences impliquant le PENTA et le Di-PENTA	118

## Liste des figures

<b>Figure I-1:</b> Image d'une molaire	3
<b>Figure I-2:</b> Image par microscopie à force atomique (AFM) de la dentine humaine ayant subi un polissage métallurgique	5
<b>Figure I-3:</b> Rétraction du composite lors du durcissement	9
<b>Figure I-4:</b> Exemple de puits rétentifs dans une cavité dentaire de classe III	9
<b>Figure I-5:</b> Image FEISEM des cristaux apatitiques de l'émail dentaire	11
<b>Figure I-6:</b> Schéma de l'interaction d'un agent d'adhésion	12
<b>Figure I-7:</b> Les étapes d'une restauration dentaire	14
<b>Figure I-8:</b> Image par microscopie TEM de la dentine déminéralisée	15
<b>Figure I-9:</b> Image de la zone hybride	16
<b>Figure I-10:</b> Molécules de A) PENTA et B) Di-PENTA	20
<b>Figure I-11:</b> Complexation d'un adhésif à base d'ester phosphorique avec le calcium	21
<b>Figure II-1:</b> Préparation des échantillons de dentine pour l'expérience d'AA	29
<b>Figure II-2:</b> Concentration moyenne de calcium extrait des échantillons de dentine après deux minutes de mordantage en fonction de l'activité des protons	35
<b>Figure II-3:</b> Variation du calcium extrait d'un échantillon de dentine par une solution d'acide maléique durant deux minutes	38
<b>Figure II-4:</b> Variation du calcium extrait d'un échantillon de dentine par une solution d'acide maléique en fonction de la racine carrée du temps	39
<b>Figure II-5:</b> Schéma de la réaction contrôlée par diffusion à l'interface entre la solution acide et l'échantillon de dentine	43
<b>Figure III-1:</b> Schéma idéalisé d'une cellule et du processus photoacoustique	52
<b>Figure III-2:</b> Processus d'absorption de la lumière infrarouge par un échantillon dans une cellule photoacoustique	53

<b>Figure III-3:</b> Processus d'oscillation thermique d'un échantillon dans une cellule photoacoustique	54
<b>Figure III-4:</b> Préparation des échantillons de dentine pour l'expérience de PA-FTIR	56
<b>Figure III-5:</b> Spectres PA-FTIR du collagène obtenu de Sigma et du contaminant	59
<b>Figure III-6:</b> Spectres PA-FTIR d'un échantillon traité successivement avec de l'acide phosphorique à pH 1, de 0 à 2 minutes de traitement	60
<b>Figure III-7:</b> Spectres PA-FTIR d'un échantillon traité successivement avec de l'acide phosphorique à pH 1, de 1 à 11 minutes de traitement	61
<b>Figure III-8:</b> Spectres PA-FTIR d'un échantillon traité successivement avec de l'acide phosphorique à pH 1, normalisés à la bande $1660\text{ cm}^{-1}$ du collagène	62
<b>Figure III-9:</b> Comparaison des spectres PA-FTIR de la dentine mordancée 15 minutes (acide maléique) et du collagène de type I	63
<b>Figure III-10:</b> Spectres PA-FTIR du traitement de la dentine avec l'acide citrique, maléique ou phosphorique pendant 2 minutes	65
<b>Figure III-11:</b> Variation de la bande Amide I du collagène en fonction du temps de traitement et de l'acide utilisé (pH = 1.0)	66
<b>Figure III-12:</b> Schéma de la déshydratation et réhydratation de la couche de collagène exposée de la dentine	67
<b>Figure III-13:</b> Spectre PA-FTIR des modifications apportées à la dentine lors du traitement à l'acide maléique	69
<b>Figure IV-1:</b> Spectres PA-FTIR d'un échantillon traité successivement avec l'hypochlorite de sodium, normalisés à la bande $1100\text{ cm}^{-1}$ du HAP	80
<b>Figure IV-2:</b> Comparaison des spectres PA-FTIR de la dentine traitée à l'hypochlorite et le HAP synthétique	81
<b>Figure IV-3:</b> Spectres PA-FTIR du traitement consécutif de la dentine à l'acide maléique (pH = 1.0) après deux minutes et à l'hypochlorite de sodium après deux minutes	82

<b>Figure IV-4:</b> Spectres PA-FTIR du traitement à l'hypochlorite de la dentine mordancée	83
<b>Figure IV-5:</b> Variation du rapport des intensités des bandes du collagène et HAP de la dentine mordancée traitée à l'hypochlorite de sodium	87
<b>Figure V-1:</b> A) La molécule de PENTA et B) la molécule de Di-PENTA	93
<b>Figure V-2:</b> Liaison théorique entre les groupements phosphate et la dentine	94
<b>Figure V-3:</b> Spectres PA-FTIR du PENTA et du Di-PENTA	97
<b>Figure V-4:</b> Principaux conformères des groupements acrylate dans le PENTA et Di-PENTA	98
<b>Figure V-5:</b> Spectres PA-FTIR du traitement de la dentine avec une solution de PENTA 6% (v/v) dans l'acétone	100
<b>Figure V-6:</b> Spectres PA-FTIR des résidus suite à six rinçages à l'acétone	101
<b>Figure V-7:</b> Spectres PA-FTIR des résidus de PENTA sur la dentine suite à six rinçages à l'éthanol	103
<b>Figure V-8:</b> Spectres PA-FTIR de la dentine déprotéinée pendant 6 heures et traitée avec une solution de PENTA 6% (v/v) dans l'éthanol	104
<b>Figure V-9:</b> Spectres PA-FTIR de la dentine déprotéinée pendant 6 heures et traitée avec une solution de Di-PENTA 6% (v/v) dans l'éthanol	105
<b>Figure V-10:</b> Spectres PA-FTIR de la dentine déprotéinée pendant 1 heure et traitée avec une solution de PENTA 6% (v/v) dans l'éthanol	106
<b>Figure V-11:</b> Spectres PA-FTIR de la dentine déprotéinée pendant 1 heure et traitée avec une solution de Di-PENTA 6% (v/v) dans l'éthanol	107
<b>Figure V-12:</b> Spectre PA-FTIR de soustraction du collagène traité par une solution de PENTA 6% (p/p) dans l'acétone	109
<b>Figure V-13:</b> Spectres PA-FTIR du traitement du collagène avec une solution 6% (p/p) PENTA dans l'éthanol	110
<b>Figure V-14:</b> Spectre PA-FTIR de soustraction du collagène traité par une solution de PENTA 6% (p/p) dans l'éthanol	111
<b>Figure V-15:</b> Spectres de soustraction comparant l'interaction entre le collagène	

de type I et le PENTA ou Di-PENTA à partir d'une solution d'éthanol	112
<b>Figure V-16:</b> Spectres PA-FTIR du HAP représentant l'enlèvement du PENTA dissout dans l'acétone	114
<b>Figure V-17:</b> Spectres PA-FTIR du HAP représentant l'enlèvement du Di-PENTA dissout dans l'acétone	115
<b>Figure V-18:</b> Spectres PA-FTIR du HAP représentant l'enlèvement du PENTA dissout dans l'éthanol	116
<b>Figure V-19:</b> Spectres PA-FTIR du HAP représentant l'enlèvement du Di-PENTA dissout dans l'éthanol	117
<b>Figure V-20:</b> Spectre PA-FTIR des traitements de l'apatite de calcium suite à six rinçages	119
<b>Figure VI-1:</b> Schéma de la réaction contrôlée par diffusion à l'interface entre la solution acide et l'échantillon de dentine	124
<b>Figure VI-2:</b> Formation du citrate de calcium à l'interface de déminéralisation	126
<b>Figure VI-3:</b> Comparaison entre la déminéralisation et la déprotéination de la dentine humaine	129
<b>Figure VI-4:</b> Traitement séquentiel de la dentine par un acide et l'hypochlorite de sodium	130

## Liste des abréviations

**AA:** Absorption Atomique

**AFM:** Atomic Force Microscopy

**Di-PENTA:** DiPENTAerythritol hydroxy pentaacrylate

**FEISEM:** Field Emission In-lens Scanning Electron Microscopy

**FA:** FluoroAPatite de calcium

**FHA:** Fluoro HydroxyApatite de calcium

**FTIR:** Fourier Transform InfraRed

**HAP:** HydroxyAPatite de calcium

**PA-FTIR:** PhotocAcoustic Fourier Transform InfraRed

**PENTA:** diPENTAerythritol pentaacrylate ester phosphorique

**RMN:** Résonance Magnétique Nucléaire

**SEM:** Scanning Electron Microscopy

**TEM:** Transmission Electron Microscopy

Ce travail est dédié à tous ceux qui, de loin ou de proche,  
m'ont supporté moralement (et financièrement).

Things get worse under pressure...  
--Murphy's Thermodynamic Law--

# **Chapitre I**

## **Introduction**

## I.1. Les restaurations dentaires

À travers les âges, le domaine de la médecine dentaire a été dépendant de l'évolution des sciences fondamentales afin d'améliorer les restaurations et leur procédures. Cette interaction dans le domaine de la recherche dans le but de découvrir de meilleurs matériaux, avec l'aide de la chimie, la physique et des sciences biologiques, existe depuis les débuts de la médecine dentaire. L'histoire de la dentisterie montre que cette science a toujours été dépendante des matériaux accessibles et des développements scientifiques de chaque période.

Les premières restaurations dentaires qui avaient comme but de préserver la dent humaine sont apparues vers la fin du 15<sup>e</sup> siècle. Johannes Arculanus de l'université de Bologne et, plus tard, Giovanni de Vigo (1460-1520) ont été les premiers à décrire la procédure du nettoyage de la matière cariée de la dent et du remplissage de la cavité créée avec de l'or.

Entre les 17<sup>e</sup> et 19<sup>e</sup> siècles, les bases de la science de la dentisterie sont établies. Jusqu'à ce moment, le métier de dentiste est pratiqué par des barbiers ou des artisans. En 1728, Pierre Fauchard publie un livre qui, pour la première fois, divise le domaine de la médecine dentaire en plusieurs sous-domaines dont celui des restaurations et de la fabrication des prothèses. Fauchard note le plomb, l'or et l'étain comme les meilleurs matériaux pour les restaurations dentaires. Il préfère l'étain puisqu'il s'adapte bien aux parois cavitaires. D'autres textes de cette période discutent de l'utilisation de plusieurs matériaux tels que des céramiques, pour créer des prothèses amovibles ou fixes, ainsi que plusieurs autres restaurations. En 1826, O. Taveau de Paris crée l'amalgame. Cet alliage, formé d'un mélange de mercure, d'argent et d'autres métaux, est l'avancement le plus important dans le domaine des matériaux de restauration dentaires (Craig, 1989).

Au 20<sup>e</sup> siècle, la plupart des techniques et procédures de restauration utilisées par les dentistes ont été mises au point et perfectionnées avec l'aide des sciences telles que la

chimie, pour les matériaux eux-mêmes, les sciences physiques, pour les études des contraintes que subissent ces matériaux et les sciences biologiques, pour les études de biocompatibilité.

## I.2. La dentine humaine

Dans la dent, la dentine se situe entre l'émail et la pulpe dentaire (figure I-1). Contrairement à l'émail qui la protège, la dentine est un tissu biphasique; elle comporte des composantes organiques et minérales.

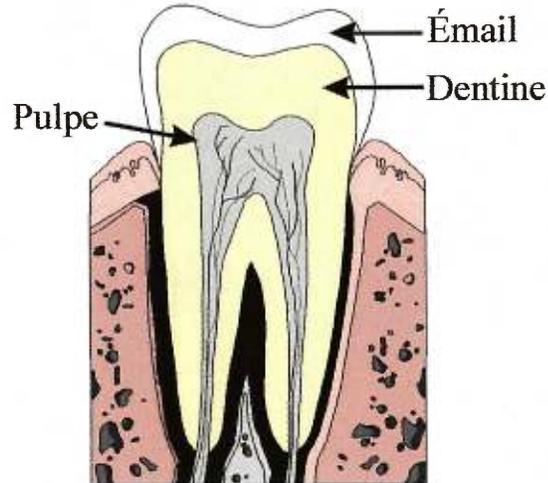


Figure I-1: Image d'une molaire.

La dentine est souvent traitée comme un tissu conjonctif minéralisé semblable aux os puisque ces deux tissus ont beaucoup de points en commun. Quoiqu'ils aient plusieurs similarités, la dentine diffère des tissus osseux sur plusieurs points.

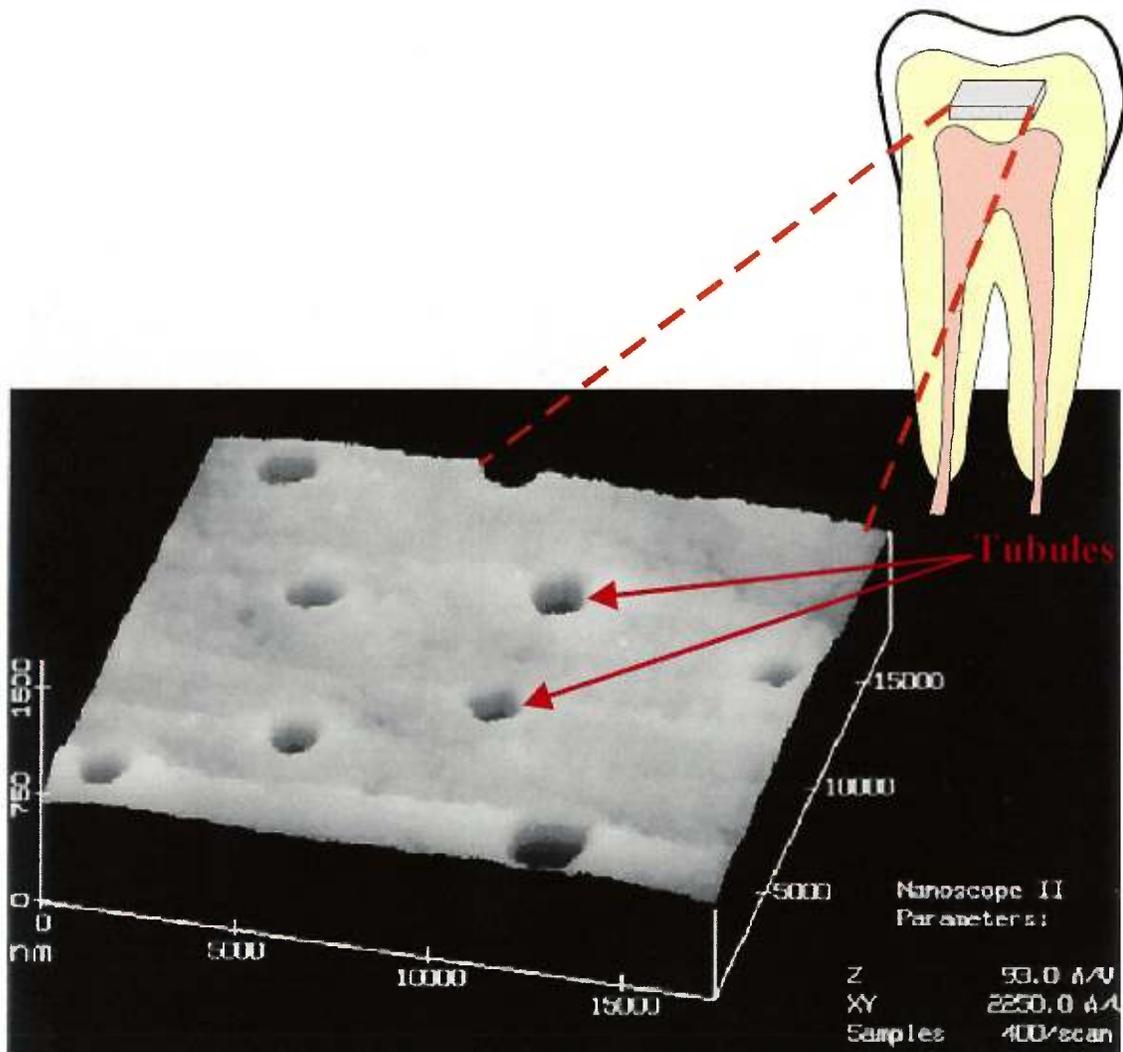
La dentine humaine est composée d'environ 70% (p/p) d'hydroxyapatite de calcium (HAP),  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ , 10% d'eau et 20% de matériaux organiques. Le collagène type I, de forme fibreuse, compose près de 90% de ces matériaux organiques, le reste étant d'autres protéines et des protéoglycans. En volume, les phases minérale et

organique occupent respectivement environ 47% et 30% (Nakabayashi, 1984; Asmussen et Munksgaard, 1985; Nakabayashi, 1985, LeGeros, 1991).

Des tubules ou canalicules responsables des processus cellulaires émanent de la pulpe dentaire et traversent la dentine (figure I-2). Ces canalicules ont un diamètre entre 1 et 3  $\mu\text{m}$  et une densité moyenne de 30 000 canalicules/ $\text{mm}^2$ . Les canalicules permettent le transport moléculaire au travers la dentine et la pulpe dentaire. Sensibles aux invasions microbiennes, ces canalicules ont donc une importance clinique capitale (Swift, 1989; Elhabashy *et al.*, 1993).

De plus, la concentration des phases organique et minérale varie (quoique très peu) dans la dentine selon qu'il s'agisse de dentine intertubulaire ou pérítubulaire. La dentine intertubulaire, qui compose la majeure partie de la dentine humaine, est composée de collagène fibreux et de cristaux de HAP intercalés entre ces fibres. La dentine pérítubulaire est une gaine plus minéralisée qui entoure les tubules. La composition organique de la dentine pérítubulaire est aussi moins fibreuse que la dentine intertubulaire.

Il faut noter que la phase minérale n'est pas composée de HAP stoechiométrique. La dentine, ainsi que les autres apatites biologiques, contiennent plusieurs autres éléments ou groupes fonctionnels, principalement du carbonate et du fluor, mais aussi du sodium, magnésium, potassium, chlore et des traces d'autres éléments (Sr, Pb, Zn, Cu, Fe, etc.). Les apatites dentaires ont un rapport molaire Ca/P généralement inférieur à 1.67. La dentine a un rapport Ca/P d'environ 1.61 à 1.62 (versus l'apatite de l'émail, Ca/P environ 1.63 à 1.64) (LeGeros, 1991).



**Figure I-2:** Image par microscopie à force atomique (AFM) de la dentine humaine ayant subi un polissage métallurgique. L'échantillon a été coupé perpendiculairement à l'orientation des tubules et parallèlement au plan occlusal de la dent. L'échelle de l'image est en nanomètres.

En ce qui concerne la réactivité chimique de la dentine, l'hydroxyapatite offre principalement la possibilité de réaction par l'entremise de plusieurs groupements hydroxyle réactifs ainsi que par complexation avec le calcium. Le collagène, de son côté, possède plusieurs groupes fonctionnels pouvant permettre des réactions avec les molécules adhésives. Les groupements amine, amide, hydroxyle et carboxyle (Fava *et al.*, 1990) sont les plus importants.

### **I.3. Matériaux et techniques**

#### **I.3.a. L'amalgame dentaire**

L'amalgame est un alliage de mercure et d'un ou plusieurs métaux. L'amalgame dentaire est composé de mercure mélangé à l'argent, l'étain, le cuivre et parfois le zinc, le palladium et l'indium. Le mélange de ces métaux au mercure crée une masse ayant une plasticité qui permet de façonner ce mélange dans une cavité dentaire pour reproduire la forme du tissu endommagé, avant de durcir (Craig, 1989b; O'Brien *et al.*, 1985).

Les obturations à base d'amalgame ont l'avantage d'être faciles à insérer dans la cavité, ne dépendent que très peu de la technique d'application, maintiennent bien leur forme anatomique, résistent bien aux fractures et ont généralement une durée de vie très raisonnable. Par contre leurs désavantages sont nombreux: La teneur élevée en mercure de ces alliages soulève des questions sur leur toxicité (Haikel *et al.*, 1990; Eley et Cox, 1993; Gelband et Stangel, 1996). De plus, leur apparence laisse à désirer, l'alliage ternit et subit de la corrosion, et le mercure qu'ils contiennent peut causer des allergies. Les amalgames sont aussi sujets à des actions galvaniques qui peuvent causer une décoloration du tissu dentaire environnant la cavité.

utile

### I.3.b. Les polymères et les matériaux composites

Vue la toxicité des amalgames et les autres problèmes engendrés par ces alliages, la dentisterie s'est tournée vers l'application des matériaux composites. Les restaurations à base de ces matériaux présentent des propriétés intéressantes. Elles offrent une apparence naturelle et leurs propriétés physiques et mécaniques sont comparables à celles des amalgames.

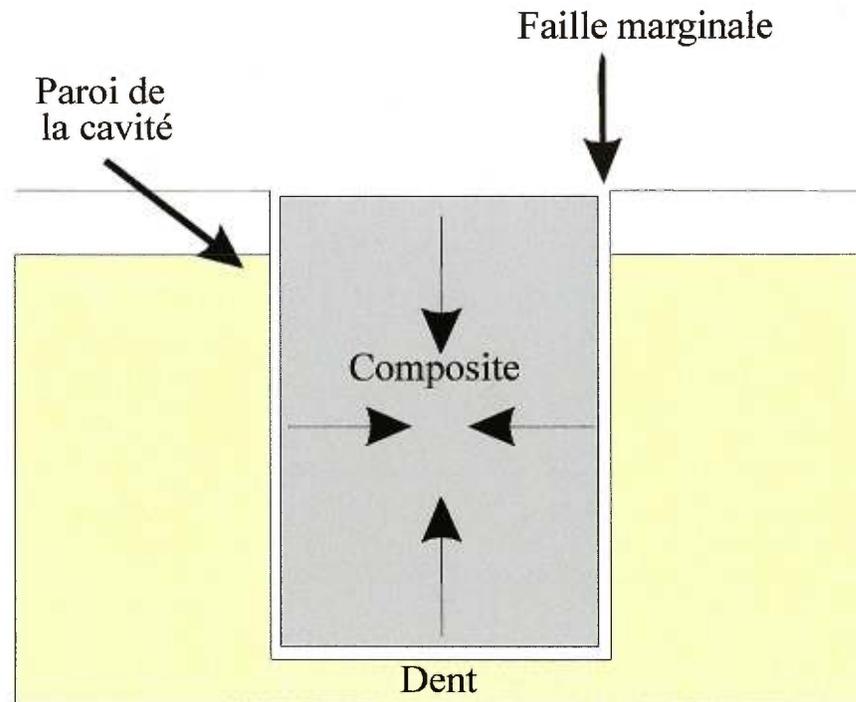
Les premiers de ces matériaux sont des résines à base d'acrylates. Ces résines sont utilisées principalement pour la restauration des dents antérieures puisqu'elles sont esthétiques. Bien qu'elles offrent plusieurs propriétés intéressantes, telles qu'une bonne résistance aux fractures et une faible solubilité aux fluides oraux, ces résines ont une très faible résistance à l'abrasion. Le plus gros défaut de ces matériaux est leur instabilité dimensionnelle. La rétraction lors du durcissement ("polymerization shrinkage") ainsi que leur coefficient d'expansion thermique, environ dix fois supérieur à celui de la dent, causent la formation d'une faille marginale ("marginal gap") qui permet la pénétration de fluides oraux entre la restauration et la paroi dentaire. Cette faille peut éventuellement causer une décoloration et même des caries secondaires à l'interface dent-restauration (Saunders *et al.*, 1990; Soh et Henderson, 1990).

L'ajout de microparticules et l'adoption de monomères à base de méthacrylates présente une amélioration au problème d'instabilité de ces matériaux. Ces nouveaux composites, formés à partir d'une résine généralement à base de méthacrylates et de microparticules de céramique ou de silicates de diamètre variable, offrent de meilleures propriétés mécaniques. Parmi ces propriétés on compte un coefficient d'expansion thermique inférieur, un changement dimensionnel inférieur lors du durcissement ainsi qu'une meilleure résistance à l'abrasion et aux fractures. En effet, l'addition des particules permet de diminuer l'impact de la rétraction ainsi que du coefficient d'expansion thermique élevé des polymères utilisés. Par contre, la faille marginale quoique moins importante, est toujours présente.

Le problème de l'instabilité dimensionnelle d'un composite se développe ainsi (Vermeersh et Vreven, 1989):

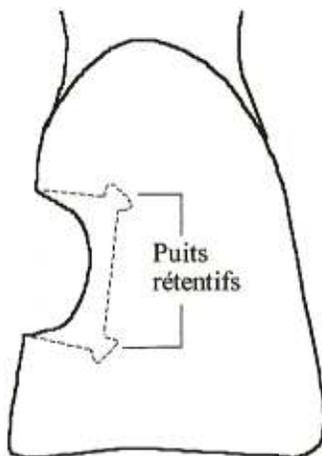
1. Lors de la polymérisation du composite, le volume total de la restauration diminue et cause l'apparition d'une faille entre l'obturation et la paroi de la cavité (figure I-3).
2. Dans les quelques jours qui suivent, une dilatation du composite est causée par son absorption d'eau. Cette hydrodilatation, par contre, n'est pas suffisante pour combler la faille causée lors de la rétraction.
3. Quand la température buccale est abaissée par la consommation d'un aliment ou d'une boisson froide le matériau composite se contracte en moyenne 3.7 fois plus que la dent et la faille prend plus d'importance.
4. Si, par contre, la température buccale augmente, le composite voit son volume augmenter plus rapidement que celui de la dent. À ce moment la faille disparaît et le matériau est soumis à une pression causée par son contact intime avec la paroi de la cavité.
5. Le composite, étant soumis constamment à ces deux variations, subira une déformation permanente nommée fluage ou "creep". Lors de son retour à la température buccale, la faille environnant le composite sera d'autant plus importante.

De plus, ces matériaux ne forment aucun lien physico-chimique avec l'émail ou la dentine. Ceci oblige le dentiste à enlever une partie importante de tissu dentaire sain afin de pouvoir former la cavité de façon à créer des rainures ou bien des puits rétentifs (ou biseaux) pour retenir la restauration (figure I-4). Cet enlèvement inutile de tissu sain combiné à la présence de la cavité affaiblit la structure de la dent.



**Figure I-3:** Rétraction du composite lors du durcissement.

Le composite a été placé directement dans la cavité et polymérisé chimiquement.



**Figure I-4:** Exemple de puits rétectifs dans une cavité dentaire de classe III. La ligne pointillée représente le fond de la cavité à la suite de l'enlèvement d'une partie saine du tissu dentaire.

Dépendant des dimensions et de la concentration des microparticules, la rétraction linéaire du composite peut varier entre 0.5 et 1.25%, ce qui correspond, au point de vue clinique, à une faille ayant un ordre de grandeur entre 5 et 20  $\mu\text{m}$  (O'Brien *et al.*, 1985b). Étant donnée l'importance de la faille marginale ainsi que le manque d'adhésion aux parois de la cavité, la recherche dans le domaine des restaurations dentaires à base de matériaux composites oriente une grande partie de ses efforts dans cette direction. La formation d'une liaison physico-chimique intime entre le composite et le tissu dentaire permettrait d'obtenir l'étanchéité désirée ainsi qu'une rétention à la paroi cavitaire sans avoir recours aux puits rétentifs qui nécessitent l'enlèvement inutile de tissu sain (Saunders *et al.*, 1990).

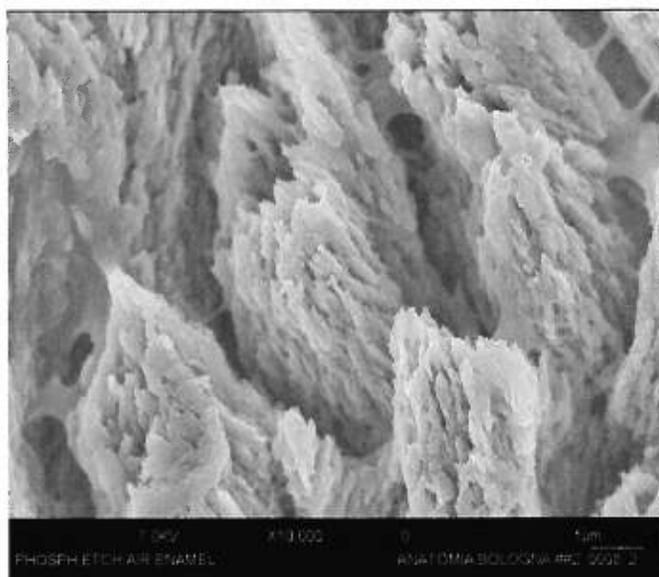
### **I.3.c. Traitement de la surface et adhésion**

Plusieurs systèmes ont été développés par lesquels un traitement chimique résulte en une amélioration de l'adhésion. Cette amélioration provient d'un meilleur lien physique ou chimique avec l'émail ou la dentine.

La première découverte visant à lier intimement le tissu dentaire (spécifiquement l'émail) à la restauration a été faite par Buonocore (1955). Il suggéra de traiter l'émail bordant la cavité par un acide avant de poser l'obturation. Ce procédé se nomme mordantage à l'acide ("acid etching") et utilise une solution d'acide phosphorique ayant une concentration de 30 à 40%. L'acide attaque et dissout une partie de l'émail dentaire et crée des mini-anfractuosités dans l'hydroxyapatite de calcium qui permettent à la résine, sans micro-particules, de s'infiltrer et former des digitations ("tags") (figure I-5).

Cette méthode permet d'obtenir des forces de résistance à la traction entre le composite et l'émail de l'ordre de 75 MPa (O'Brien *et al.*, 1985b). Cette valeur est considérée excellente par les travailleurs du domaine, et le mordantage à l'acide est la méthode d'adhésion à l'émail la plus courante de nos jours.

L'adhésion à la dentine ne peut être obtenue de la même manière puisqu'elle a une composition chimique et morphologique différente de l'émail. L'apatite dentinaire est déposée au hasard autour des fibres de collagène, contrairement à l'apatite de l'émail qui forme un réseau cristallin très organisé (figure I-5). De plus, la dentine contient des canalicules qui mènent directement aux odontoblastes et autres cellules vulnérables de la pulpe dentaire. L'adhésion à la dentine doit donc procéder par un mécanisme différent.



**Figure I-5:** Image par microscopie FEISEM (Field Emission In-lens Scanning Electron Microscopy) des cristaux apatitiques de l'émail dentaire (Breschi *et al.*, sous presse. Image utilisée avec la permission des auteurs).

L'approche qui a été adoptée consiste en l'utilisation d'un produit ayant la possibilité de former un lien chimique d'une part au tissu dentaire et de l'autre au monomère employé dans le matériau de restauration. En 1979, Fusayama et collaborateurs (1979) mettaient au point le premier adhésif dentinaire ayant un succès clinique. Cet adhésif est une molécule bifonctionnelle ayant un groupe fonctionnel qui peut, théoriquement, se lier chimiquement à la dentine. Le second groupe, une fonction acrylate ou méthacrylate, permet la copolymérisation avec les liaisons vinyliques

présentes dans les monomères de la résine. Le concept de cette molécule sert de point de départ à presque toute la recherche axée sur les adhésifs dentinaires.

La molécule bifonctionnelle typique de ces adhésifs comprend d'habitude un ou plusieurs groupes acrylate ou méthacrylate qui permettent la copolymérisation avec le composite. Cette partie se nomme le radical M. La partie permettant la liaison avec la dentine se nomme radical X (ou Y par certains auteurs), et finalement au centre on trouve l'entretoise ou bras d'espacement dénommé S. Idéalement, l'adhésif dentinaire se lie chimiquement par le radical X à l'une des deux composantes de la dentine, soit l'hydroxyapatite de calcium ou le collagène (figure I-6). Ceci laisse la surface de la dentine couverte de groupements M permettant la liaison avec la résine. Pour que ces derniers soient accessibles pour réagir, le radical S est choisi adéquatement afin d'optimiser la longueur et la polarité de la molécule adhésive.

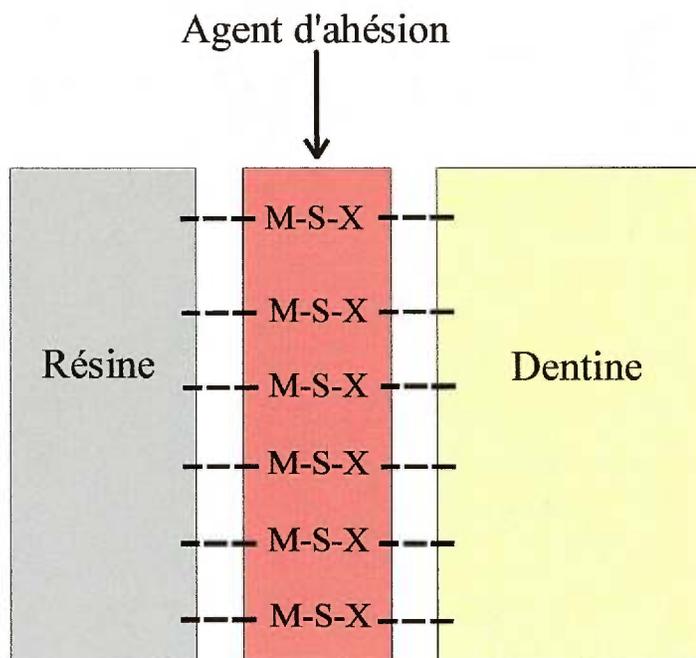


Figure I-6: Schéma de l'interaction d'un agent d'adhésion.

Afin d'obtenir une rétention plus importante à la dentine, il est suggéré de traiter la dentine à priori avec un acide afin d'améliorer l'adhésion. Ce prétraitement consiste

généralement en l'application d'un produit qui sera en mesure de désinfecter le site, d'enlever ou modifier la couche de débris de fraisage ("smear layer") et ainsi libérer les sites actifs de la dentine afin de réagir avec l'adhésif (White *et al.*; 1989). La couche de débris de fraisage est composée de débris organiques et minéraux, et est produite lorsque la cavité est soumise au fraisage lors de l'utilisation d'outils mécaniques pour enlever le tissu carié (figure I-7, étape 1).

Le processus (simplifié) typique d'une obturation dentaire se résume de la manière suivante (figure I-7):

**Étape 1:** Le tissu carié est enlevé par fraisage créant une cavité de tissu sain.

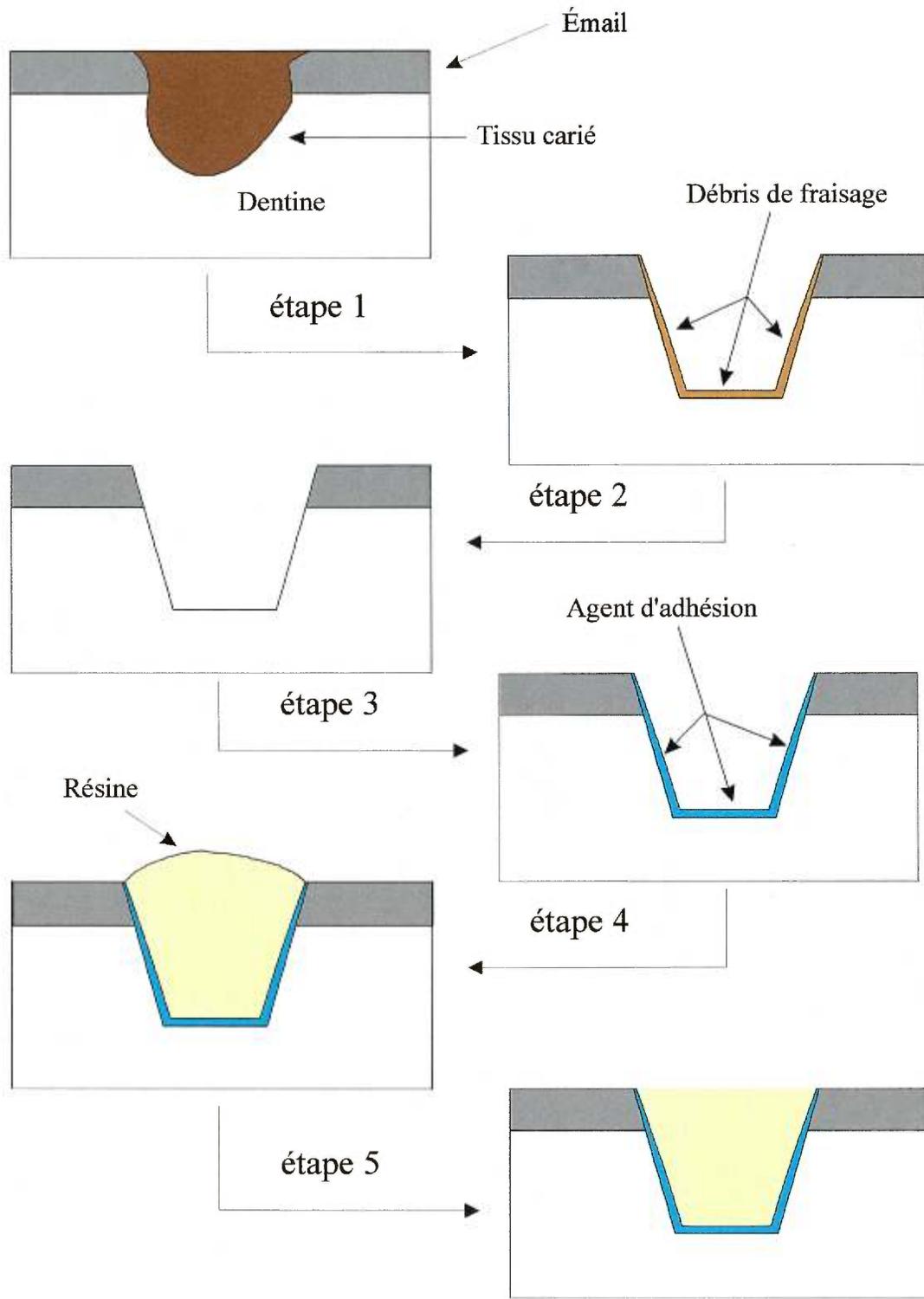
**Étape 2:** La cavité est soumise à un prétraitement chimique ("primer" ou "conditioner") visant à enlever la couche de débris de fraisage et préparer la surface à accepter l'agent d'adhésion.

**Étape 3:** L'agent d'adhésion est appliqué à la surface. Dans certains systèmes commerciaux, les étapes 2 et 3 sont combinées.

**Étape 4:** La cavité est remplie d'une résine composite capable de copolymériser avec l'agent d'adhésion.

**Étape 5:** Durant le durcissement, la résine est façonnée pour rendre sa forme plus esthétique.

La plupart des systèmes adhésifs utilisent un acide ou, occasionnellement, un agent complexant afin d'enlever la couche de débris ainsi que déminéraliser la surface de la dentine. Cette déminéralisation dégagera les fibres de collagène (figure I-8) (Nakabayashi, 1982; Marshall *et al.*, 1993; Stangel *et al.*, 1994).



**Figure I-7:** Les étapes d'une restauration dentaire.



**Figure I-8:** Image par microscopie TEM (Transmission Electron Microscopy) de la dentine déminéralisée.

Selon Nakabayashi (1982; 1985), l'augmentation de la rétention est due à l'emmêlement du monomère de l'agent d'adhésion aux fibres de collagène exposées. La formation d'une "zone hybride" (figure I-9) composée de fibrilles de collagène et de monomère adhésif est, selon lui, responsable des rétentions élevées grâce à une interaction micromécanique. Cette possibilité a récemment été mise en doute par plusieurs chercheurs (Gwinnett, 1994; Wakabayashi *et al.*, 1994). À l'aide de traitements à l'acide et à l'hypochlorite de sodium (NaOCl), ces chercheurs ont découvert que la formation de la "zone hybride" n'est pas nécessaire pour obtenir une bonne rétention, et, dans certains cas, elle peut même y nuire. En particulier, des mesures de contrainte ("shear bond strength") effectuées par Gwinnett (1994) sur la dentine mordancée, et mordancée et déprotéinée ne démontrent aucune différence quantitative entre ces deux traitements. Il en conclut que la zone riche en collagène n'est pas nécessaire à l'obtention d'un lien dentine-résine durable.

D'autres chercheurs (Assmussen et Munksgaard, 1985; Stangel *et al.*, 1992; Di Renzo *et al.*, 1995) croient, qu'en plus de la possibilité d'interactions micromécaniques, des

réactions chimiques interviennent entre l'agent d'adhésion et la dentine. Il faut noter, par contre, qu'aucun système n'a encore pu atteindre un niveau de rétention comparable à celui de l'émail suite au mordantage.

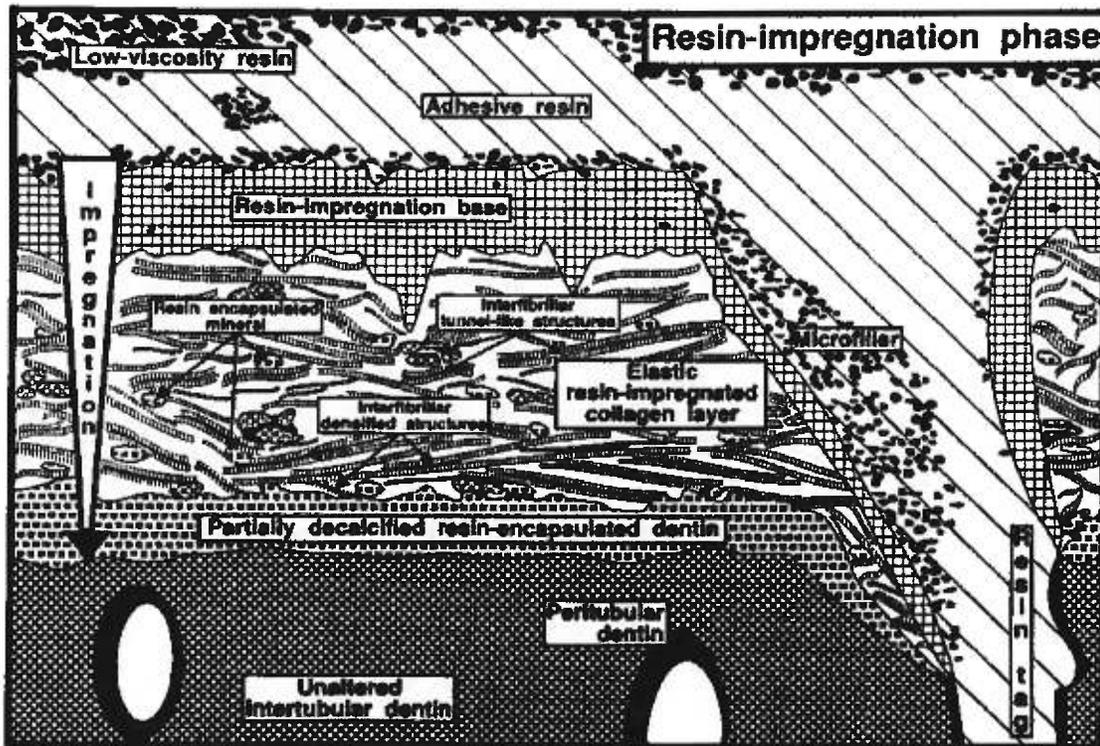


Figure I-9: Image de la zone hybride (Van Meerbeek *et al.*, 1993).

#### I.4. Buts de cette étude

##### I.4.a. Caractérisation de la dentine humaine lors de prétraitements

Puisque l'adhésion à la dentine peut être obtenue par différents moyens (physiquement et/ou par interaction chimique avec l'une ou l'autre des phases de la dentine), les générations futures de systèmes adhésifs seront développées en fonction d'optimiser cette adhésion. Une étape clé de la majorité de ces systèmes visera à préparer

la surface de la dentine chimiquement et physiquement afin d'optimiser les liaisons qui seront générées à l'étape suivante. Selon la nature de l'adhésif, il sera favorable d'enrichir la surface d'une ou l'autre des deux phases. Dans le cas d'un système adhésif permettant la liaison aux deux phases simultanément, il serait souhaitable d'obtenir une surface de dentine propre, c'est-à-dire une surface sans débris, sans modifier de manière importante la structure chimique de la dentine. Il devient donc nécessaire de comprendre les modifications chimiques imposées à ce tissu lorsqu'il est exposé à différents agents chimiques.

Parmi les méthodes de préparation de surfaces dentinaires, le mordantage à l'acide ("acid etching") est une des plus communes. Plusieurs travaux étudiant le mordantage se concentrent sur la compréhension des effets des acides sur la morphologie de la dentine. D'autres optimisent la concentration d'acide afin d'obtenir le mordantage désiré pour un système adhésif (Nakabayashi, 1982; Ruse et Smith, 1991; Sterrett *et al.*, 1991; Marshall *et al.*, 1993; Hennequin *et al.*, 1994; Stangel *et al.*, 1994; Kinney *et al.*, 1995; Perdigão *et al.*, 1996).

D'autres chercheurs ont dirigé leur recherche vers la modification du tissu dentaire par l'hypochlorite de sodium (NaOCl ou eau de javel) (Zack et Kaufman, 1983; Sakae *et al.*, 1988; Calas *et al.*, 1994; Gwinnett, 1994; Haïkel *et al.*, 1994; Wakabayashi *et al.*, 1994). Ce produit est utilisé depuis des années afin d'enlever la phase organique des matériaux biologiques (Nakamura *et al.*, 1985; Schiller *et al.*, 1995). C'est avec l'utilisation de l'hypochlorite de sodium pour dégager la zone déminéralisée de la dentine que l'utilité de la "zone hybride" de Nakabayashi a été mise en question (Gwinnett, 1994; Wakabayashi *et al.*, 1994).

La majorité des travaux mentionnés ci-haut utilisent différentes techniques afin d'étudier la surface de la dentine et les modifications qui y adviennent, mais ces techniques se limitent généralement à des caractérisations morphologiques en faisant

appel à différentes microscopies. Par contre, très peu de ces techniques permettent de déterminer les changements chimiques qui se produisent à cette surface.

Dans un premier temps, les travaux de cette thèse se consacreront à élucider les changements chimiques qui se produisent à la surface de la dentine lorsqu'elle est traitée par un acide ou l'hypochlorite.

Deux études ont été conduites pour arriver à cette fin. La première étude mesure la quantité d'apatite de calcium mordancée à la surface de la dentine par différents acides. Pour les autres apatites biologiques (et synthétiques) la réaction de mordantage est contrôlée par diffusion. Cette première facette mesure quantitativement le calcium enlevé de la surface de la dentine et vérifie si le type de réaction impliquée dans le processus de mordantage est comparable aux autres apatites; c'est-à-dire, si la décalcification de la dentine se produit par un processus contrôlé par la diffusion. De plus, cette étude permet de comparer les actions de différents acides à des pH semblables, pour évaluer l'effet de la nature de chacun des acides et du contre-ion sur le mordantage.

Cette première étude est effectuée à l'aide de la spectroscopie d'absorption atomique (AA). Le spectrophotomètre AA et le mode opératoire ont été modifiés afin de pouvoir suivre la réaction de décalcification pendant une durée ininterrompue de deux minutes. De plus, les interférences importantes provenant des concentrations élevées en phosphate et citrate (provenant des acides phosphorique et citrique) ont du être contournées à l'aide d'étalons.

La seconde étude se concentre sur les modifications chimiques advenant à la surface de la dentine lors de traitements à l'acide ou à l'hypochlorite de sodium. L'impact d'un traitement séquentiel à l'acide et à l'hypochlorite a aussi été évalué. La spectroscopie infrarouge photoacoustique par transformée de Fourier (PA-FTIR) sera un outil important dans cette étude grâce à sa haute sensibilité aux surfaces, particulièrement les surfaces hétérogènes et rugueuses.

Contrairement à l'étude par AA qui mesure la matière enlevée de la surface, la technique de PA-FTIR permet l'analyse de la surface elle-même. Cette méthode est un outil puissant puisqu'elle permet non seulement de détecter les changements à la surface mais aussi ce qui demeure sur cette dernière suite à un tel traitement.

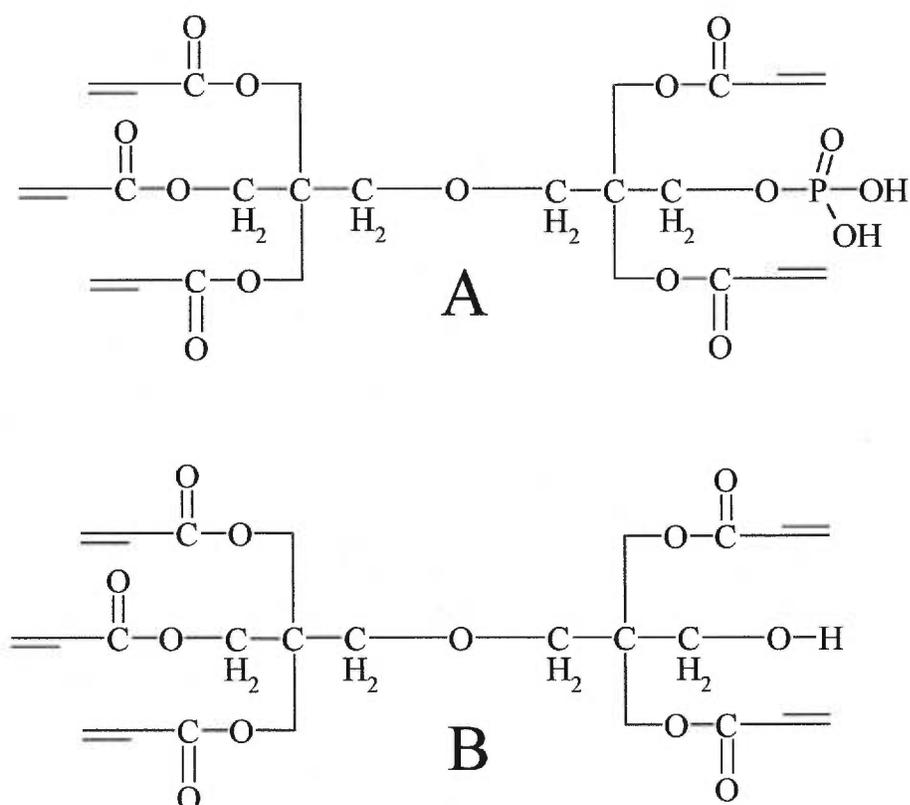
Pour cette expérience, des échantillons de dentine ont été plongés dans des solutions acides pour des périodes séquentielles allant de quelques secondes à plusieurs minutes. Ces traitements séquentiels permettent de suivre les modifications chimiques à la surface de la dentine au fur et à mesure qu'elles se produisent.

La technique de PA-FTIR nous a permis également de vérifier l'efficacité à mordancer de chaque acide. Tel que mentionné plus haut, certains acides peuvent avoir un effet réduit sur la décalcification à cause de leur contre-ion. Entre autre, ces travaux démontreront que certains acides peuvent nuire au mordantage. Ceci est dû à un effet du contre-ion qui, dans certains cas, peut former des espèces insolubles à la surface de la dentine. Ce précipité peut nuire à la diffusion des espèces impliquées dans la réaction de décalcification.

#### **I.4.b. Caractérisation du PENTA et de son effet sur la dentine humaine**

Dans la seconde partie de ce travail, l'ester phosphorique du dipentaerythritol pentaacrylate (PENTA, figure I-10A) est caractérisé. Cette molécule est utilisée comme agent d'adhésion dans un système adhésif commercial (Dentsply) (Barkmeier *et al.*, 1990). Le PENTA est un monomère très visqueux et incolore qui est insoluble dans l'eau et soluble à l'acétone et les alcools organiques de faible masse (i.e. méthanol et éthanol).

Selon la littérature, les monomères à base de phosphate se lient à la dentine par complexation avec le calcium et possèdent des groupes acrylate (M) pour copolymériser avec la résine tel que démontré à la figure I-11 (Fava *et al.*, 1990).

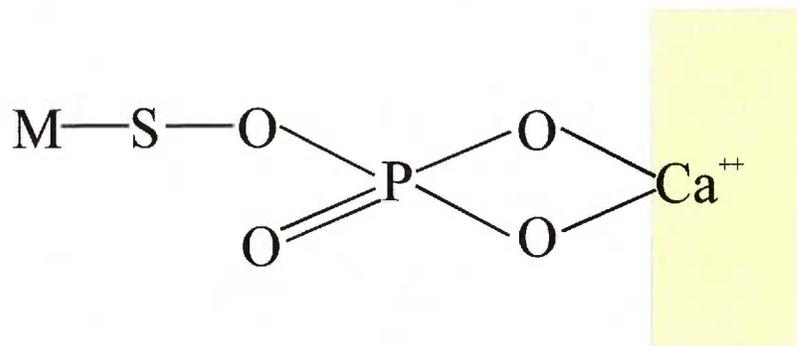


**Figure I-10:** Molécules de A) PENTA et B) Di-PENTA.

Peu d'information est disponible au sujet du PENTA. Ce produit est un monomère breveté par la compagnie Dentsply et a fait l'objet de peu d'études (Xu, 1996). Il a généralement été étudié en présence des autres composantes du système adhésif (Eliades et Vougiouklakis, 1989; Barkmeier *et al.*, 1990, Stangel *et al.*, 1994). Ce système adhésif comprenant le PENTA possède la propriété particulière de ne pas nécessiter l'enlèvement de la couche de débris de fraisage pour obtenir de fortes liaisons entre la dent et la restauration (Stangel *et al.*, 1994).

Par conséquent, le volet final de ce travail sera de caractériser le PENTA par PA-FTIR. De plus, la présence d'interaction avec la dentine, le collagène et l'HAP est évaluée à partir de traitements à l'aide de solutions d'acétone et d'éthanol. Si le PENTA

interagit avec la phase inorganique, il sera difficilement enlevable de l'HAP lors d'un rinçage, contrairement au collagène. Ces interactions seront comparées aux mêmes traitements effectués avec le dipentaerythritol hydroxy pentaacrylate (Di-PENTA, figure I-10B). Le Di-PENTA est le produit de départ du PENTA. L'hypothèse à vérifier est que si le PENTA a une affinité pour la phase minérale de la dentine par l'entremise de son groupement phosphate, le Di-PENTA n'en aura pas et sera facilement enlevé de la surface du substrat lors d'un rinçage.



**Figure I-11:** Complexation d'un adhésif à base d'ester phosphorique avec le calcium.

Les travaux effectués sont présentés aux chapitres II, III, IV et V. Le dernier chapitre de cette thèse (VI) se consacre à une synthèse des observations obtenues à chacun des autres chapitres afin de regrouper et comparer les conclusions.

En médecine dentaire, les systèmes adhésifs sont encore mal compris, mais il s'agit d'un domaine en évolution rapide. Cette thèse se concentre principalement à élucider des questions fondamentales tout en étudiant des systèmes relativement simples. La maîtrise de tels systèmes permettrait de mieux comprendre, prédire et contrôler les actions et interactions qui se produisent à l'interface entre la dent et la restauration. Ces informations auront une importance capitale sur le développement de nouveaux systèmes basés sur le principe des liaisons chimiques.

**Références:**

Asmussen, E; Munksgaard, E.C; 1985; "Posterior Composite Resin Dental Restorative Materials"; 3M Company; St-Paul; pp.217-229.

Barkmeier, WW; Huang, C; Hammesfahr, PD; Jeffries, SR; 1990; *J Esthet Dent*; **2**; 134.

Breschi L, Gobbi P, Mazzotti G, Ellis TH, Sacher E, Stangel I; sous presse; *J Biomed Mater Res.* sous presse.

Buonocore, M; 1955; *J Dent Res*; **34**; 849.

Calas, P; Rochd, T; Michel, G; 1994; *J Endodon*; **20**; 71.

Craig, RG; 1989; "Restorative Dental Materials"; 8<sup>e</sup> éd. C.V. Mosby Company; St-Louis; chap. 1.

Craig, RG; 1989b; "Restorative Dental Materials"; 8<sup>e</sup> éd; C.V. Mosby Company; St-Louis; chap. 9.

Di Renzo, M; Ellis, TH; Sacher, E; Stangel, I; 1995; *Prog Surf Sci*; **50**; 407.

Eley, BM; Cox, SW; 1993; *Br Dent J*; **175**; 161.

Elhabashy, A; Swift, EJ Jr.; Boyer, DB; Denehy, GE; 1993; *Am J Dent*; **6**; 123.

Eliades, GC; Vougiouklakis, GJ; 1989; *Dent Mater*; **5**; 101.

Fava, F; Prati, C; Marchetti, L; Montanari, G; 1990; *Ann Chim (Rome)*; **80**; 487.

Fusayama, T; Nakamura, M; Kurosaki, N; Iwaku, M; 1979; *J Dent Res*; **58**; 1364.

Gelband, H; Stangel, I; 1996; A Technology Assessment of Dental Amalgam. Sous contrat du Conseil d'évaluation des technologies de la santé du Québec. Janvier, 1996

Gwinnett, AJ; 1994; *Am J Dent*; **7**; 243.

Haïkel, Y; Jaeger, A; Livardjani, F; Allemann, C; 1990; *Clin Mater*; **5**; 256.

Hennequin, M; Pajot, J; Avignant, D; 1994, **20**; 551.

Kinney, JH; Balooch, M; Haupt Jr., DL, Marshall, SJ, Marshall Jr., GW; 1995; *J Dent Res*; **74**; 1179.

LeGeros, RZ; 1991; "Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine"; Karger; Basel; chap. 6.

Marshall, GW Jr.; Balooch, M; Tench, RJ; Kinney, JH; Marshall, SJ; 1993; *Dent Mater*; **9**; 265.

Nakabayashi, N; 1982; *J Jpn Dent Mater* **1**; 78.

Nakabayashi, N; 1984; *CRC Crit Rev Biocompat*; **1**; 25.

Nakabayashi, N; 1985; *Int Dent J*; **35**; 145.

Nakamura, H; Asai, K; Fujita, H; Nakazato, H; Nishimura, Y; Furuse, Y; Sahashi, E; 1985; *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; **60**; 322.

O'Brien, William J; Greener, Evan; Mahler, David; 1985; "Restorative Dental Materials: An Overview"; vol.1; Quintessence Publishing Company; Londres; pp.17-32.

O'Brien, William J; Greener, Evan; Mahler, David; 1985b; "Restorative Dental Materials: An Overview"; vol.1; Quintessence Publishing Company; Londres; pp.43-47.

Perdigão, J; Lambrechts, P; Van Meerbeek, B; Tomé, AR; Vanherle, G; Lopes, AB; 1996; *Dent Mater*; **12**; 262.

Ruse, ND; Smith, DC; 1991; *J Dent Res*; **70**, 1002.

Sakae, T; Mishima, H; Kozawa, Y; 1988; *J Dent Res*; **67**; 1229.

Saunders, WP; Grieve, AR; Russel, EM; Alani, AH; 1990; *J Oral Rehab*; **17**; 519.

Schiller, J; Arnhold, J; Arnold, K; 1995; *Eur J Biochem*; **233**; 672.

Soh, G; Henderson, LJ; 1990; *Clin Mater*; **6**; 57.

Stangel I, Ostro E, Domingue A, Sacher E, Bertrand L; 1992; Photoacoustic Fourier Transform IR spectroscopy of polymer-dentin interaction. Tiré de "Proceedings from the first international conference on polymer-solid interfaces". Éd. Pireaux JJ, Bertrand P, Bredas JL, Institute of Physics Publishing, Bristol, pp.157-167.

Stangel I, Sacher E, Young C, Hanley S; 1994; *J Adhesion*; **47**; 133.

Sterrett, JD; Delaney, B; Rizkalla, A; Hawkins, CH; 1991; *Quintessence Int*; **22**; 371.

Swift, EJ Jr.; 1989; *Oper Dent*; **14**; 20.

Van Meeerrbeek, B; Dhem, A; Goret-Nicaise, M; Braem, M; Lambrechts, P; Vanherle, G; 1993; *J Dent Res*; **72**; 495.

Vermeersh, A.G; Vreven, J; 1989; "Le Composite"; Editions CDP; Paris; pp.85 et 86.

Wakabayashi Y, Kondou Y, Suzuki K, Yatani H, Yamashita A; 1994; *Int J Prosthodont*; **7**; 302.

White, GJ; Beech, DR; Tyas, MJ; 1989; *Dent Mater*; **5**; 379.

Xu, J; 1996; Thèse de Doctorat; Université McGill.

Zach, A; Kaufman, AY; 1983; *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; **55**; 524.

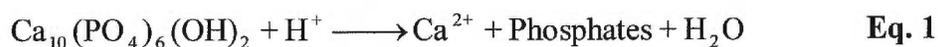
## **Chapitre II**

La déminéralisation de la dentine par quatre acides étudiée  
par absorption atomique

La déminéralisation de la dentine a une importance capitale dans le domaine de l'adhésion des restaurations. L'enlèvement de la couche de débris de fraisage est généralement considéré nécessaire afin d'obtenir des restaurations solides et durables (Nakabayashi, 1982; White *et al.*, 1989). En plus d'enlever cette couche, les acides agissent aussi sur la dentine en dissolvant le HAP et en dégageant les fibres de collagène.

La caractérisation morphologique de l'effet des acides a reçu beaucoup d'attention (Nakabayashi, 1982; Marshall *et al.*, 1993; Stangel *et al.*, 1994; Perdigão *et al.*, 1996; Breschi *et al.*, sous presse). De même, plusieurs chercheurs ont déterminé les concentrations optimales d'acide afin d'obtenir une surface (morphologiquement) apte à recevoir l'agent d'adhésion (Hennequin *et al.*, 1994; Kinney *et al.*, 1995). Par contre, peu d'études chimiques ont été effectuées afin de quantifier ou qualifier l'effet des différents acides. Les études sur les apatites provenant d'autres sources (synthétiques, os ou émail) ont démontré que la réaction de dissolution du HAP est contrôlée par diffusion (Gray, 1962; Gwinnett et Buonocore, 1965; Chow et Brown, 1973; Brown *et al.*, 1975; Wu *et al.*, 1976; White et Nancollas, 1977; Higuchi *et al.*, 1984; Manson-Rahemtulla *et al.*, 1984; Chen et Nancollas, 1986; Patel *et al.*, 1987, Larsen, 1990; LeGeros, 1990; Thomann *et al.*, 1990; Margolis et Moreno, 1992; Hermesen et Vrijhoef, 1993). Un des buts de ce travail est de confirmer que la dentine est déminéralisée par un processus semblable.

L'acide attaque et dissout l'apatite de calcium tel que démontré à l'équation 1 (Gray, 1962):



La nature des phosphates de cette équation dépend du pH. Dans le cas de ce travail, où le pH est très faible, les principaux phosphates sont l'acide phosphorique ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), qui est majoritaire, et l'ion phosphate simplement déprotonné ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ).

En se fiant uniquement à cette équation, il est possible de voir que la dissolution de l'apatite de calcium devrait augmenter avec la concentration de protons et donc d'acide. Mais, de nombreux chercheurs (Gwinnett and Buonocore, 1965; Chow et Brown, 1973; Sterret *et al.*, 1991; Hennequin *et al.*, 1994; Misra, 1996) ont remarqué l'action réduite de certains acides à des concentrations croissantes. L'action de ces acides sur la dentine doit donc dépendre aussi d'autres facteurs. Il sera démontré dans ce travail que l'action des contre-ions ainsi que l'acide non dissocié peuvent jouer un rôle important sur l'efficacité de la déminéralisation.

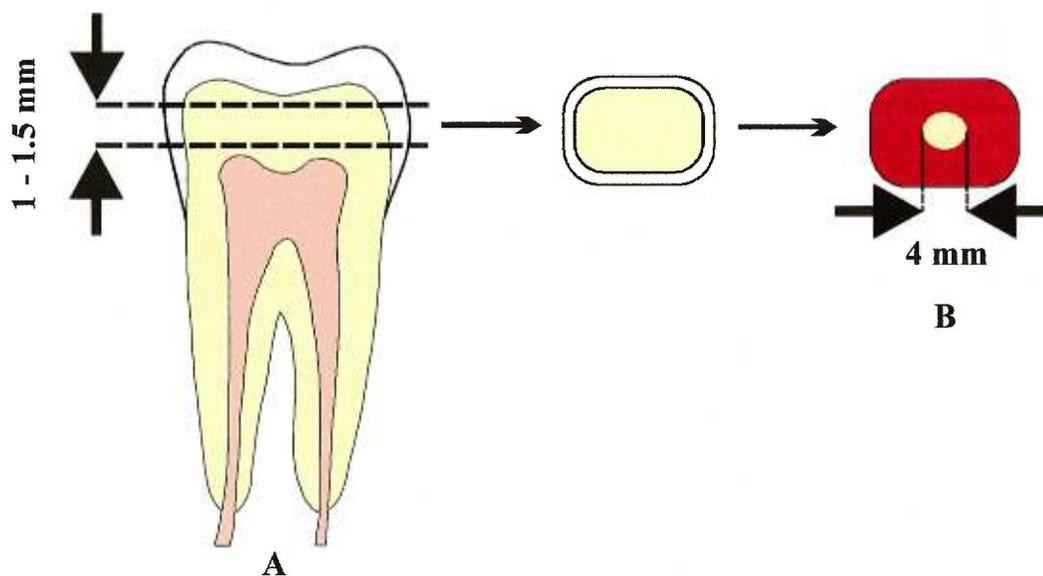
Il faut souligner que l'équation ci-haut représente une apatite pure; c'est-à-dire, une apatite qui est stoechiométrique. Les échantillons de dentine contiennent une apatite biologique qui est souvent pauvre en calcium et riche en plusieurs autres éléments. En effet, la dentine humaine est typiquement riche en carbonate et en fluor (LeGeros, 1991). Ces différences peuvent faire varier la solubilité du HAP. Les apatites riches en carbonate sont plus solubles aux acides tandis que les apatites ayant une haute concentration de fluor sont plus résistantes à la dissolution. Étant donné que ces variations sont habituellement imprévisibles, l'équation 1 ne servira donc qu'à faire des prédictions générales.

Dans ce chapitre, la décalcification de la dentine a été quantifiée et qualifiée en mesurant le calcium extrait d'échantillons de dentine de surface constante. Puisque la dissolution de l'apatite dentinaire résulte en un dégagement de calcium dans la solution environnante, la concentration de cet élément sera mesuré par la technique de spectroscopie par absorption atomique (AA). En plus de permettre de quantifier le calcium extrait de la dentine, ces mesures aident à comprendre le mécanisme par lequel le HAP est enlevé de la surface et à remarquer l'effet des contre-ions de certains acides.

## II.1. Conditions expérimentales et préparation des échantillons

Des solutions d'acides chlorhydrique, citrique, maléique, et phosphorique ont été préparées en diluant ou dissolvant l'acide dans l'eau Millipore. Les acides ont été placés dans des bouteilles de polypropylène préalablement décontaminées à l'acide nitrique 30% pendant 36 heures et rincées à l'eau Millipore. Le pH de chaque solution a été déterminé quelques heures avant le début de l'expérience en utilisant un pH-mètre muni d'une électrode de verre préalablement calibrée à l'aide de solutions tampon de pH 10, 7.1 et 4.

Des disques de dentine ont été obtenus en coupant des molaires et des prémolaires fraîchement extraites dans le sens parallèle à la face occlusale (figure II-1A). Un ou deux disques ont été obtenus de chaque dent, chaque disque ayant une épaisseur entre 1 et 1.5 mm. Les disques ont été couverts de vernis à ongles en laissant un cercle de 4 mm de diamètre dégagé d'un seul côté (figure II-1B). Le vernis protège le reste de l'échantillon contre l'action des acides. La présence d'une surface exposée constante, minimisera les variations entre les échantillons.



**Figure II-1:** Préparation des échantillons de dentine pour l'expérience d'AA.

Dans le premier volet de cette expérience, entre 15 et 40 échantillons ont été préparés pour chaque acide à chaque valeur de pH. La concentration de calcium a été mesurée en continu pendant une durée arbitraire de deux minutes. Dans la seconde partie, c'est-à-dire la mesure de calcium extrait après deux minutes d'exposition, cinq échantillons ont été utilisés à chaque valeur de pH de chaque acide (1.0, 1.15 et 1.4). Dans ce second cas, chaque solution a été évaluée seulement aux temps zéro et deux minutes.

Les mesures d'absorption atomique ont été obtenues à l'aide d'un spectrophotomètre Perkin-Elmer de modèle 703 muni d'une lampe à cathode creuse multi-élément et utilisant une flamme air:acétylène de rapport 65:35. Le détecteur UV-visible a été réglé à la longueur d'onde d'absorption du calcium de 422.7 nm.

Afin de mesurer le calcium extrait des échantillons de dentine de manière continue durant deux minutes, un micro-ordinateur (PC) équipé d'une carte d'acquisition (National Instruments) a été branché à la sortie de 2V du spectrophotomètre. Le PC, par l'entremise de l'interface, a enregistré le signal généré à un interval de 0.5 secondes pendant deux minutes pour chaque échantillon. Les données ont été enregistrées par le programme NIDAQDOS et sauvées en format ASCII afin d'être traitées plus tard.

Les unités AA ont été converties en mg/L (ou ppm) en utilisant une courbe de calibration générée par des solutions étalon diluées à partir d'une solution mère de 1000 mg/L (Fisher Scientific). Les solutions étalon ont été préparées en fonction du domaine de linéarité de l'appareil et des quantités de calcium prévues lors de l'extraction de la dentine, soit 0.5, 1.0, 2.0 et 5.0 ppm.

À l'aide d'expériences pilotes, un volume optimal de 100 mL a été déterminé. Ce volume minimise la variation de la concentration causée par l'épuisement de la solution tout en restant au-dessus de la limite de détection du spectrophotomètre. Cette variation a été évaluée à moins de 15%. De plus, une solution de contrôle utilisant uniquement de

l'eau Millipore et un échantillon de dentine n'a révélé que des traces négligeables de calcium (< 0.1 ppm) après deux minutes.

Chaque échantillon a été plongé dans une des solutions acides (100 mL d'acide pour chaque échantillon) ayant des activités de protons entre 0.1 et 0.04 M (soit un pH entre 1.0 et 1.4). Ces valeurs de pH ont été choisies en fonction des concentrations approximatives présentes dans les traitements commerciaux. Quoique l'activité demeure une quantité sans unités, la notation M (mole/L) sera conservée dans ce travail afin de souligner sa corrélation à la concentration qui est définie par  $a_A = f_A [A]$  (où  $a$  représente l'activité,  $f$  le coefficient d'activité et  $[A]$  la concentration; Day et Underwood, 1986):

Durant l'expérience, les solutions ont été agitées à une vitesse constante afin de minimiser l'effet de diffusion dans la phase liquide. Le tube d'aspiration du spectrophotomètre a été gardé loin de l'échantillon dans le but d'obtenir des mesures du volume de la solution et ainsi éliminer des effets de gradient de concentration qui pourraient se produire près des échantillons.

### **II.1.a. Interférences dues à la présence de phosphate et citrate**

Cette manipulation implique l'utilisation d'acides ayant des interférences importantes avec le calcium. En effet, la présence d'ions phosphate et citrate dans une solution contenant du calcium réduit l'intensité du signal de calcium détecté par AA (David, 1960; Spitz *et al.*, 1969; Smets, 1980; Welch *et al.*, 1990). Cette dépression du signal est due à la formation d'espèces combinées de calcium et de phosphate ou citrate dans la phase condensée. Ces espèces sont moins volatiles et entraînent donc une baisse de la concentration de calcium atomique en phase vapeur. Le résultat sera une diminution du signal mesuré provenant du calcium (Welch *et al.*, 1990).

Pour l'acide phosphorique, cette interférence atteint un maximum à un rapport molaire de  $PO_4/Ca$  de 1 à 2 (Leyton, 1954; Yofé et Finkelstein, 1958). A partir de ce

rapport, le signal est réduit de manière constante d'environ 65%. Cette interférence est généralement éliminée par l'ajout de concentrations élevées de lanthane à la solution à analyser (Yofé et Finkelstein, 1958; Willis; 1960; Welch *et al.*, 1990). Un rapport molaire de 5:1 La/phosphate est requis afin de maximiser l'effet de cet agent. Un effet semblable est aussi observé pour l'acide citrique dont les interférences peuvent être éliminées par l'ajout d'haloacides à des concentrations voisinant 1 M (Juhai *et al.*, 1983).

La concentration en phosphates dans la présente expérience est extrêmement élevée sachant que l'acide phosphorique est un acide faible triprotique (à pH=1.0, il y a environ 1.45 M d'ions phosphate). Le calcium, de son côté, est présent à des concentrations voisines de  $5 \times 10^{-5}$  M (environ 2 ppm ou mg/l). Ceci présente un rapport molaire  $\text{PO}_4/\text{Ca}$  près de 29 000. De plus, un ratio de 5:1 La/ $\text{PO}_4$  demanderait une solution de lanthane dépassant 7 M. Une telle concentration aurait un effet drastique sur la force ionique de la solution (Bell, 1969) en plus d'être bien au-dessus de la solubilité de plusieurs sels de lanthane. L'utilisation d'un tel sel afin d'éliminer ces interférences devient donc impossible.

Pour l'acide citrique, l'ajout d'un second acide peut modifier de façon importante le pH de la solution. Les acides d'halogènes (HCl, HBr, etc.) sont généralement des acides forts et des concentrations de 1 M auront un impact important sur le pH en plus de changer l'équilibre de dissociation de l'acide citrique qui est un acide faible. Donc, l'ajout d'haloacide n'est pas recommandé lors de l'expérience.

Dans ce travail, les interférences dues aux concentrations élevées des ions phosphate et citrate ont été corrigées en évaluant expérimentalement les dépressions créées par ces ions. Des solutions étalon contenant des concentrations connues de calcium et des quantités prédéterminées d'acides contenant les ions interférents ont été préparées et mesurées par AA. En calculant le rapport du signal en présence de l'ion interférent sur le signal de la même solution sans ions interférents, ces solutions ont permis de quantifier la diminution du signal à chaque valeur pH pour chacun des acides.

Ceci permet de corriger les valeurs d'intensité mesurées lors du mordantage de la dentine.

### **II.1.b. Calibration du pH-mètre**

Il est important de noter que la bonne calibration du pH-mètre est une étape importante surtout lors de mesures de pH faibles. Dans un des travaux les plus systématiques impliquant l'effet du pH des acides sur la dentine, Perdigão et collaborateurs (1996) ne calibrent leur pH-mètres qu'avec des solutions tampon de pH 4 et 7 dans un cas, et seulement un tampon de pH 4 dans l'autre.

Des mesures effectuées à la suite des travaux de cette thèse ont démontré que le pH-mètre calibré en trois points (pH 4, 7.1 et 10) mesurant une solution acide de pH 1.00, mesure, pour cette même solution, un pH d'environ 0.80 lorsqu'il est calibré en quatre points (pH 1.68, 4, 7.1 et 10). Cette variation de 20% sur la mesure de pH se traduit en une différence d'activité importante. L'activité d'une solution de pH 1 est de 0.1 mole/L tandis que celle d'une solution de pH 0.8 est de 0.158 mole/L. De plus, le pH-mètre ne permettait que la calibration aux quatre valeurs de pH indiquées ci-haut. Ceci a rendu toute calibration de part et d'autre du domaine de pH étudié impossible.

Puisque cette erreur a été décelée très tard, il a été impossible de reprendre la totalité des expériences de ce travail en tenant compte de cette nouvelle calibration. Par contre, il est recommandé pour les travaux futurs, que le pH-mètre soit calibré en quatre points; c'est-à-dire, par des solutions tampon de pH 1.68, 4, 7.1 et 10; ou, du moins, en trois points aux pH 1.68, 4 et 7.1. Une telle calibration produira des valeurs de pH et donc d'activité plus réalistes.

## II.2. Résultats

### II.2.a. Dépression du signal due aux ion interférents

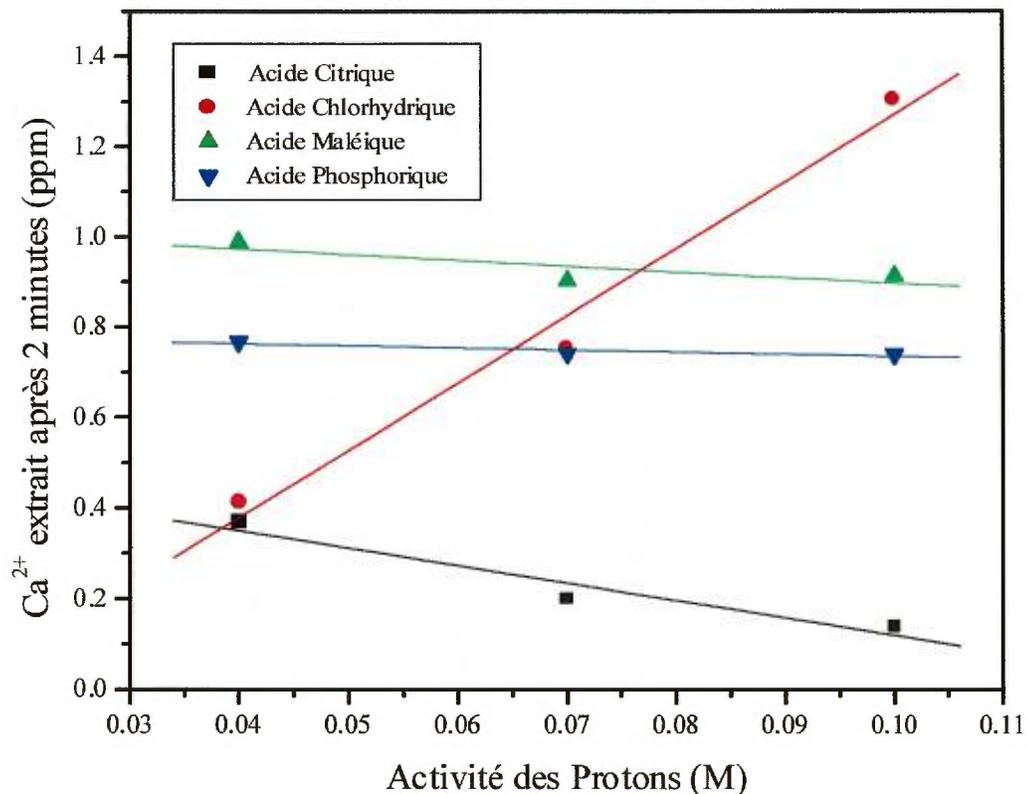
Le tableau II-1 présente les valeurs des dépressions mesurées pour des solutions aqueuses contenant 1 ppm de calcium et chacun des acides utilisés dans ce travail. Ce tableau montre que pour les acides chlorhydrique et maléique aucune dépression mesurable du signal n'a été observée. Par contre, une diminution importante du signal est observée à chaque valeur de pH pour les acides citrique et phosphorique. Les valeurs des mesures du mordantage de la dentine seront donc modifiées afin de tenir compte des dépressions causées par la présence d'ions interférents en divisant le signal mesuré par le facteur de correction approprié présenté dans ce tableau.

Acide	pH	Activité H <sup>+</sup> (mole/L)	$\frac{\text{signal avec interférent}}{\text{signal sans interférent}} \times 100$
Chlorhydrique	1.00	0.10	100
	1.15	0.07	100
	1.40	0.04	100
Citrique	1.00	0.10	50
	1.15	0.07	61
	1.40	0.04	80
Maléique	1.00	0.10	100
	1.15	0.07	100
	1.40	0.04	100
Phosphorique	1.00	0.10	35
	1.15	0.07	40
	1.40	0.04	61

**Tableau II-1:** Atténuation du signal de calcium (1 ppm) mesurée pour différents acides à pH 1.00, 1.15 et 1.40.

## II.2.b. Après deux minutes de mordançage

La figure II-2 présente un graphique de la concentration moyenne de calcium extraite par chaque acide selon le pH après deux minutes de traitement. Afin de simplifier la figure, les barres d'erreur ont été omises. Dans tous les cas, le coefficient de variation était inférieur à 20%. Ces résultats ont été analysés en utilisant l'analyse de variance à deux variables indépendantes (two-way ANOVA). Puisque le pH, le type d'acide et leurs interactions sont statistiquement différents ( $p < 0.01$  pour chaque source), une analyse post-hoc a été entreprise. Les résultats de cette analyse sont présentés au tableau II-2.



**Figure II-2:** Concentration moyenne de calcium extrait des échantillons de dentine après deux minutes de mordançage en fonction de l'activité des protons.

Selon la figure II-2 et les résultats de l'analyse du tableau II-2, l'acide chlorhydrique semble se comporter de la manière prédite par l'équation 1; c'est-à-dire que la quantité de calcium extrait augmente avec la concentration de protons. La concentration de calcium extraite par les acides maléique et phosphorique ne semblent pas varier selon l'acidité. L'acide citrique semble permettre une extraction de calcium inférieure à pH 1. Par contre, cette décroissance n'est pas statistiquement significative dans l'environnement de l'ANOVA à deux variables. Puisque ce travail se concentre surtout à caractériser l'effet du pH de chaque acide individuel, une analyse de variance à une variable (one-way ANOVA), effectuée *a posteriori*, a été effectuée. Pour l'acide citrique, cette analyse a démontré une différence entre pH 1 et les deux autres valeurs de pH. Cette observation suggère que soit la réaction se produit à la surface de la dentine est inhibée ou que l'espèce de calcium en solution réagit pour former des précipités.

Acide et pH	Moyenne
Chlorhydrique, pH 1.00	1.3
Maléique, pH 1.40	0.98
Maléique, pH 1.15	0.92
Maléique, pH 1.00	0.90
Phosphorique, pH 1.00	0.78
Chlorhydrique, pH 1.15	0.76
Phosphorique, pH 1.40	0.76
Phosphorique, pH 1.15	0.74
Chlorhydrique, pH 1.4	0.40
Citrique, pH 1.4	0.36
Citrique, pH 1.15	0.20
Citrique, pH 1.00	0.14

Les groupes reliés par des lignes verticales ne sont pas différents statistiquement.

**Tableau II-2:** Concentration moyenne de calcium extrait après deux minutes d'exposition à un acide et différences statistiques ( $p < 0.05$ ).

La deuxième possibilité a été éliminée en recréant les conditions expérimentales de la solution en remplaçant l'échantillon de dentine par du calcium en solution (à partir

d'une solution étalon) ayant une concentration comparable. Dans ce cas, aucune diminution importante de la concentration de calcium n'a été observée pour quelque concentration d'acide que ce soit. Puisque dans ces conditions le calcium en solution ne réagit pas avec les autres espèces, la corrélation observée découle donc d'une inhibition à la surface de l'échantillon. Cette inhibition suggère la formation de précipités dans la zone déminéralisée. Cette zone présente des propriétés différentes du volume de la solution et permettrait donc la formation d'espèces qui seraient insolubles uniquement à l'intérieur de cette interface.

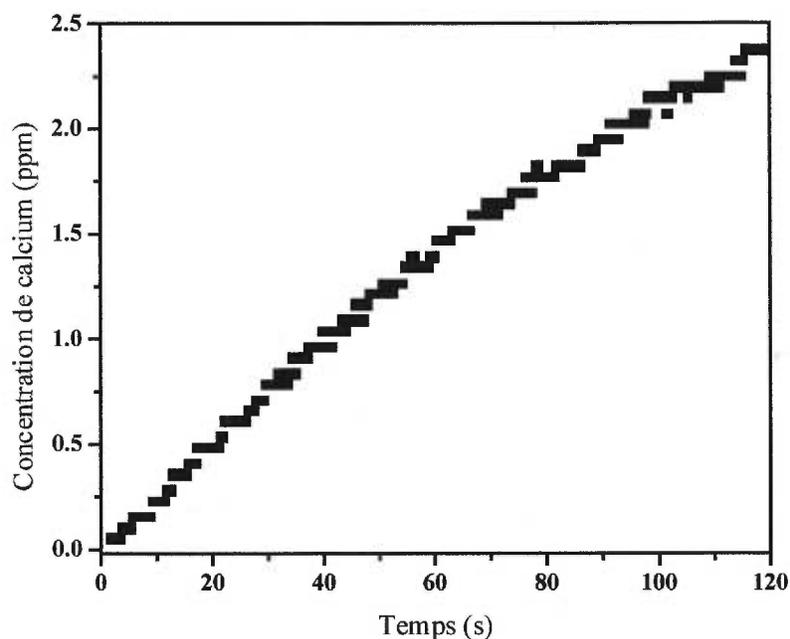
### II.2.c. Mordançage suivi pendant deux minutes

Les résultats présentés à la section précédente sont quelque peu limités dans l'information qu'ils nous révèlent. Ils ne fournissent aucune information au sujet du mécanisme ni de la cinétique des effets des différents acides. Une étude cinétique de cette réaction communiquera beaucoup plus d'information. Une telle étude a été réalisée en enregistrant la variation de la concentration de calcium en solution de manière continue pendant les deux minutes de mordançage.

Les données du suivi des deux minutes de la réaction peuvent être utilisées afin d'obtenir des équations simples qui dévoileront plus d'information. Ces données ont été assignées à des équations cinétiques dans le but de comprendre le mécanisme et/ou la cinétique impliquée. Un simple graphique de la concentration en fonction du temps (figure II-3) présente une courbe non linéaire qui rend le traitement difficile par cette voie. Suite à l'essai de plusieurs autres modèles, il a été mis en évidence que les données s'approprient bien à une équation de systèmes contrôlés par diffusion. Avec ce type de système, la concentration de calcium extrait varie linéairement avec la racine carrée du temps, tel que dans l'équation présentée ci-dessous (Brown *et al.*, 1980; Hermsen et Vrijhoef, 1993):

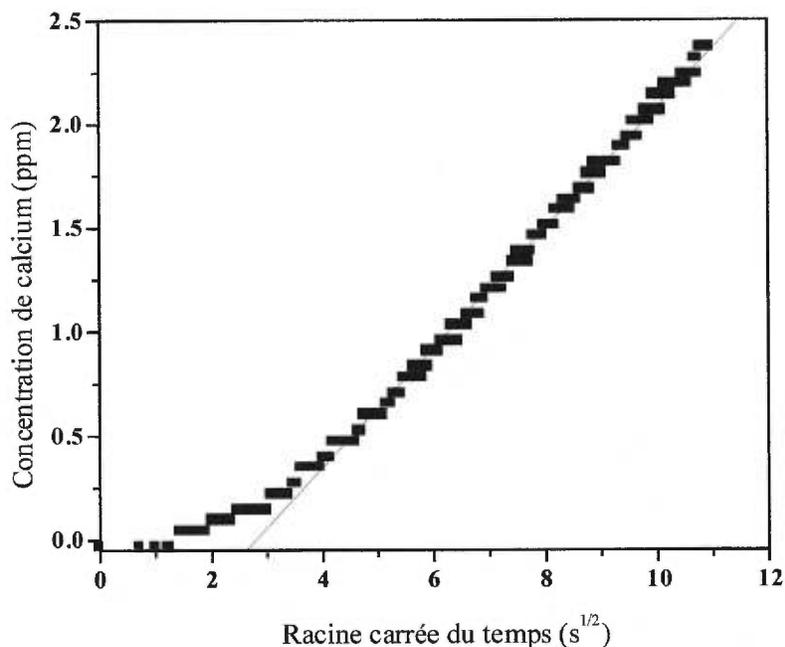
$$[\text{Ca}] = K \times t^{1/2} \quad \text{Eq. 2}$$

Dans cette équation simple, la constante  $K$ , qui est fonction de l'activité de  $H^+$ , peut être aisément déterminée par la pente d'un graphique de la concentration de calcium extrait en fonction de  $t^{1/2}$  pour chaque échantillon. Un tel graphique est présenté à la figure II-4. Dans ce graphique, la pente de la droite de régression est donc égale à  $K$ .



**Figure II-3:** Variation du calcium extrait d'un échantillon de dentine par une solution d'acide maléique durant deux minutes.

Il est important de noter que les premières secondes d'acquisition de ce graphique ont été exclues du calcul de régression. Cette période n'est pas considérée puisqu'elle ne s'adapte pas bien à l'équation. Elle représente le délai requis afin d'établir l'équilibre initial des espèces de calcium dans la solution ainsi que le temps mort nécessaire à l'aspiration de la solution à la flamme du spectrophotomètre.



**Figure II-4:** Variation du calcium extrait d'un échantillon de dentine par une solution d'acide maléique en fonction de la racine carrée du temps.

### II.3. Discussion des résultats

Tous les acides étudiés dans ce travail se comportent selon les prédictions des mécanismes de réaction contrôlée par diffusion. Dans ce type de réaction, la cinétique réactionnelle est limitée par la diffusion des espèces vers et en provenance de l'interface. Cette interface est définie par la couche déminéralisée puisque la diffusion en solution est minimisée par l'agitation. La cinétique de cette réaction étant bien comprise, il est maintenant possible de regarder de plus près le mécanisme impliqué. L'équation 1 est généralement applicable à la réaction des acides avec l'apatite de calcium. L'interaction entre la dentine et l'acide chlorhydrique correspond au comportement prévu par cette équation. Selon cette équation, une augmentation de l'activité des protons se traduit par une plus grande quantité de protons disponibles pour réagir à l'interface. Par contre, cette même équation n'a su prédire le comportement des trois autres acides. Cette inaptitude suggère que les contre-ions et l'acide non dissocié jouent un rôle important lors de la

déminéralisation. Pour les acides maléique et phosphorique, la déminéralisation demeure inchangée lors de la variation de pH tandis que l'acide citrique présente une corrélation inverse avec l'augmentation d'activité. Cette décroissance peut résulter de la formation de précipités.

Chez les acides maléique et phosphorique, la quantité de calcium extrait ne varie pas avec le changement d'activité des protons dans le domaine de pH de l'étude. Le comportement de ces acides s'explique par un effet d'auto tamponnage des acides faibles. En effet, tous les acides polyprotiques faibles forment des solutions tampon lorsque dissous dans l'eau (Perrin et Dempsey, 1974). Selon l'équation de Henderson-Hasselbalch, ce tamponnage sera le plus remarquable aux valeurs de pH voisines du  $pK_a$  de l'acide. Le tableau II-3 démontre que pour l'acide maléique et l'acide phosphorique ( $pK_{a1} = 1.83$  et  $2.15$ , respectivement), les pH de l'expérience sont près de ce domaine de tamponnage. De plus, puisque le  $pK_a$  de l'acide maléique est inférieur à celui de l'acide phosphorique, il est prévu mordancer légèrement plus rapidement. En effet, la quantité de calcium extraite par ce premier acide est plus élevée de manière consistante (figure II-2 et tableau II-2).

Aussi, ces deux acides n'enlèvent pas autant de calcium que l'acide chlorhydrique à pH 1. Cette réduction d'efficacité ne peut être attribuée à un changement de force ionique de la solution. L'ajout d'ions à la solution par la dissolution du HAP et la dissociation de l'acide faible sont très petits lorsque comparés à l'activité des protons. La seule autre possibilité pour expliquer cette diminution demeure une différence de viscosité de ces solutions à différentes valeurs de pH. Une telle différence peut avoir un impact important sur la diffusion des espèces en solution et à l'interface (Steinfeld *et al.*; 1989). Une viscosité élevée résulte en une diffusion plus lente à l'interface qui, à son tour, réduit la vitesse de dissolution du calcium. En effet, la quantité requise afin de créer une solution de pH 1 est environ six fois plus élevée que celle pour créer une solution de pH 1.4, et ce, pour tous les acides faibles de ce travail. Il a été observé que les solutions

de concentration plus élevée étaient plus visqueuses que leur contreparties de concentration inférieure.

Acide	Formule chimique	pK <sub>a</sub>
Chlorhydrique	HCl	Acide fort
Maléique	HO <sub>2</sub> CCH=CHCO <sub>2</sub> H	1.83, 6.07
Phosphorique	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	2.15, 7.20, 12.15
Citrique	HOC(CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	~2.88, ~4.38, ~5.77 *

**Tableau II-3.** Acides utilisés dans l'expérience AA et leur pK<sub>a</sub>. \* Ces pK<sub>a</sub> sont la valeur moyenne des valeurs présentées dans "Ionization Constants of Organic Acids in Aqueous Solution" (Serjent and Dempsey, 1979).

Quoique l'acide citrique partage les caractéristiques des acide faibles décrites ci-dessus, il est aussi le seul acide à présenter une corrélation inverse avec l'augmentation de l'activité des protons. La baisse de l'efficacité de l'acide citrique à concentrations croissantes a aussi déjà été remarquée (Sterret *et al.*, 1991; Hennequin *et al.*, 1994; Breschi *et al.*, sous presse). L'acide citrique forme un sel de calcium (citrate de calcium, Ca<sub>3</sub>(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>)<sub>2</sub>•4H<sub>2</sub>O) qui gêne le mordantage (Misra, 1996). Dans la solution, un tel précipité perturberait les mesures AA. Par contre, cette possibilité a été évaluée et éliminée en calibrant le spectrophotomètre à partir de solutions étalon de Ca<sup>2+</sup> et des quatre acides. Ces mesures ont confirmé qu'aucun précipité n'est formé dans la solution aux activités d'acides utilisées. Les résultats indiquent aussi que le précipité ne peut se former que dans une région possédant une concentration élevée de Ca<sup>2+</sup>, une concentration beaucoup plus élevée que celle retrouvée dans les solutions de cette étude.

L'existence d'une telle région est prédite par le mécanisme des réactions contrôlées par diffusion. Par ce mécanisme, une zone riche en Ca<sup>2+</sup> sera produite à l'interface de la zone déminéralisée. Ce type de réaction démontre que le transport des

protons de la solution vers l'interface et des ions de calcium de cette interface vers le volume de la solution créeront une zone bondée de ces derniers. Puisque le rôle de la diffusion en phase liquide a été minimisé en gardant l'agitation constante entre les expériences, cette zone ne pourra être créée que dans la zone décalcifiée se trouvant juste sous la surface de l'échantillon. Dans cette zone, la concentration de protons diminuera en se rapprochant de la surface non mordancée et la concentration de  $\text{Ca}^{2+}$  sera plus élevée que dans la solution.

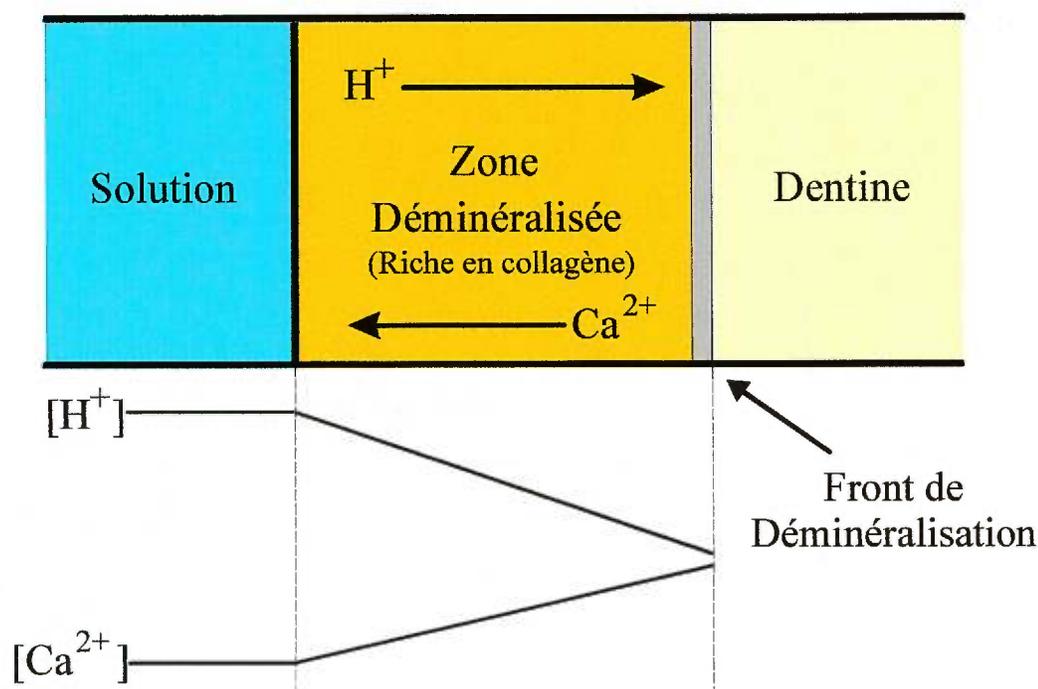
La concentration la plus élevée de calcium possible à cette interface se produira lorsque tous les protons seront remplacés par des ions de calcium. Puisque le nombre d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  dégagés est approximativement égal au nombre de protons qui diffusent à l'intérieur de la zone déminéralisée (soit 5  $\text{Ca}^{2+}$  pour 4  $\text{H}^+$ ), il est donc admissible que la concentration d'ions calcium à l'interface soit plusieurs ordres de grandeur supérieure à la concentration de cette espèce dans la solution. Cette quantité élevée d'ions calcium peut, dans des conditions favorables, former des précipités à l'interface. Il est important de noter que, pour les acides faibles, tel que les acides citrique, maléique et phosphorique, l'activité de l'acide (non dissocié) sera beaucoup plus élevée que la concentration de protons.

Le précipité créé perturbe la vitesse de dissolution de l'apatite en bloquant l'accès à l'interface. Mais, la vitesse de mordantage ne sera jamais nulle puisque, lorsque la vitesse de dissolution diminue, elle entraîne une réduction de la formation du précipité. Un équilibre est donc établi à l'interface entre la vitesse de dissolution du calcium et la formation du précipité. Cet effet résulte en une vitesse de mordantage réduite lorsque comparée à un système où aucun précipité ne se forme.

#### **II.4. Conclusions**

Plusieurs conclusions peuvent être tirées à partir des modèles présentés. Premièrement, tous les acides déminéralisent la dentine en suivant une cinétique qui est

contrôlée par la diffusion (figure II-5). Ensuite, tous les acides faibles sont plus efficaces que les acides forts à déminéraliser aux concentrations plus faibles; cet effet est dû à la capacité des acides faibles à se tamponner. A mesure que les protons sont épuisés lors de la déminéralisation, les acides faibles se dissocient pour les remplacer. Donc, à des activités plus faibles, les protons provenant des acides forts disparaissent rapidement; mais les acides faibles maintiennent une quantité plus ou moins constante ce qui résulte en une vitesse de mordantage plus stable. Aux activités plus élevées, la présence de molécules d'acide non dissociées devient un désavantage. Les concentrations élevées d'acide requises pour obtenir des solutions concentrées produisent des solutions très visqueuses. Cette viscosité élevée réduit grandement la diffusion des espèces dans la solution et à l'interface. Le résultat final est une efficacité de déminéralisation moindre.



**Figure II-5:** Schéma de la réaction contrôlée par diffusion à l'interface entre la solution acide et l'échantillon de dentine. Les variations de concentration sont indiquées comme étant linéaires, mais peuvent être non linéaires.

Finalement, pour les acides formant des précipités, lorsque la concentration d'acide augmente, il est prédit que la formation de précipité se produira à des valeurs inférieures de  $\text{Ca}^{2+}$  puisque la concentration de contre-ions sera plus élevée. Le résultat observé sera que les vitesses de mordantage observées décroîtront avec l'augmentation de la concentration de l'acide. Ce comportement a été noté pour l'acide citrique. Le modèle prédit aussi que pour les systèmes formant un précipité, la vitesse de réaction sera toujours inférieure à celle des systèmes n'ayant pas de précipité. Encore une fois, la vitesse de mordantage de l'acide citrique est toujours inférieure à celle des autres acides (ou égale dans le cas de l'acide chlorhydrique à 0.04 M).

**Références:**

Bell, RP; 1969; Acid and Bases; Chapitre 4; Methuen & Co., London.

Breschi L, Gobbi P, Mazzotti G, Ellis TH, Sacher E, Stangel I; sous presse; *J Biomed Mater Res*.

Brown, WE; Patel, PR; Chow, LC; 1975; *J Dent Res*; **54**; 475.

Brown, WE; Dollimore, D; Galway, AK; 1980; "Reactions in the Solid State"; tiré de: "Comprehensive Chemical Kinetics"; vol. 22; éditeurs: Bamford, CH; Tipper, CFH; Elsevier; Amsterdam; pp. 68-69.

Chen, WC; Nancollas, GH; 1986; *J Dent Res*; **65**; 663.

Chow, LC; Brown, WE; 1973; *J Dent Res*; **52**; 1158.

Cohen, J; Cohen, P; 1975; "Applied Multiple Regression/Correlation Analysis for the Behavioral Sciences"; Laurence Erlbaum Associates; Hillsdale; p. 51.

David, DJ; 1960; *Analyst*; **85**; 779.

Day, RA, Jr; Underwood, AL; 1986; "Quantitative Analysis"; 5<sup>e</sup> édition; Prentice-Hall; Englewood Cliffs; Chapitre 5.

Gray, JA; 1962; *J Dent Res*; **41**; 633.

Gwinnett, AJ; Buonocore, MG; 1965; *Br Dent J*; **119**; 77.

Hennequin, M; Pajot, J; Avignant, D; 1994; *J Endodon*; **20**; 551.

Hermesen, RJ; Vrijhoef, MMA; 1993; *Dent Mater*; **9**; 332.

Higuchi, WI; Cesar, EY; Cho, PW; Fox, JL; 1984; *J Pharmaceutical Sci*; **73**; 146.

Juhai, E; Szivòs, K; Trichler, F; 1983; *Mikrochim Acta*; **1**; 389.

Kinney, JH; Balooch, M; Haupt Jr., DL; Marshall, SJ; Marshall Jr., GW; 1995; *J Dent Res*; **74**; 1179.

Larsen, MJ; 1986; *Arch Oral Biol*; **31**; 757.

Larsen, MJ; 1990; *J Dent Res*; **69** (Special issue); 575.

LeGeros, RZ; 1990; *J Dent Res*; **69** (Special issue); 567.

Leyton, L; 1954; *Analyst*; **79**; 479.

Manson-Rohemtulla, B; Retief, DH; Jamison, HC; 1984; *J Prosthet Dent*; **51**; 495.

Margolis, HC; Moreno, EC; 1992; *Calcif Tissue Int*; **50**; 137.

Marshall GW Jr, Balooch M, Tench RJ, Kinney JH, Marshall SJ; 1993; *Dent Mater*; **9**; 265.

Misra, DN; 1996; *J Dent Res*; **75**; 1418.

Nakabayashi N; 1982; *J Jpn Dent Mater*; **1**; 78.

Newman, WF; Newman, MW; Main, ER; O'Leary, J; Smith, FA; 1950; *J Biol Chem*; **187**; 655.

Patel, MV; Fox, JL; Higuchi, WI; 1987; *J Dent Res*; **66**; 1425.

Perdigão, J; Lambrechts, P; Van Meerbeek, B; Tomé, AR; Vanherle, G; Lopes, AB; 1996; *Dent Mater*; **12**; 262.

Perrin, DD; Dempsey, B; 1974; Buffers for pH and metal ion control; Chapitre 2; Chapman & Hall, Londre.

Rölla, G; Bowen, WH; 1978; *Acta Odontol Scand*; **36**; 219.

Serjent, EP; Dempsey, B; 1979; Ionization constants of organic acids in aqueous solution. p. 169; Pergamon Press; Oxford.

Smets, B; 1980; *Analyst*; **105**; 482.

Spitz, J; Uny, G; Roux, M; Besson, J; 1969; *Spectrochim Acta*; **24B**; 399.

Stangel, I; Sacher, E; Young, C; Hanley, S; 1994; *J Adhesion*; **47**; 133.

Stangel, I; Ellis, TH; Sacher, E; 1997; *J Dent Res*; **76** (Special Issue); Abstract #1955.

Steinfeld, JI; Francisco, JS; Hase, WL; 1989; Chemical kinetics and dynamics; pp. 161-163; Prentice Hall; Englewood Cliffs.

Sterrett, JD; Delaney, B; Rizkalla, A; Hawkins, CH; 1991; *Quintessence Int*; **22**; 371.

Thomann, JM; Voegel, JC; Gramain, Ph; 1990; *Calcif Tissue Int*; **46**; 121.

Welch, MW; Hamar, DW; Fettman, MJ; 1990; *Clin Chem*; **36**; 351.

White, GJ; Beech, DR; Tyas, MJ; 1989; *Dent Mater*; **5**; 379.

White, W; Nancollas, GH; 1977; *J Dent Res*; **56**; 524.

Willis, JB; 1960; *Spectrochim Acta*; **16**; 259.

Willis, JB; 1961; *Anal Chem*; **33**; 556.

Wu, MS; Higuchi, WI; Fox, JL; Friedman, M; 1976; *J Dent Res*; **55**; 496.

Yofé, J; Finkelstein, R; 1958; *Anal Chim Acta*; **19**; 166.

## **Chapitre III**

Les modifications chimiques de la dentine étudiées par  
PA-FTIR: Les acides

Au chapitre précédent, la cinétique de la déminéralisation de la dentine a été étudiée et déterminée. Par contre, cette expérience n'a fourni aucune information sur les modifications chimiques apportées à la surface de la dentine même au-delà de nous apprendre que le calcium (sous forme de HAP) est extrait du substrat par une réaction contrôlée par diffusion.

Dans ce chapitre, les modifications chimiques apportées à la dentine par le traitement à l'acide sont caractérisées. Les expériences étudient systématiquement l'effet de différents acides sur l'état chimique de la surface de la dentine en traitant ces surfaces de deux manières. Dans un premier temps, des échantillons sont traités séquentiellement par un des trois acides utilisés auparavant ou l'acide nitrique afin de déterminer l'effet de chacun sur la surface. Une seconde expérience mesure les différences entre l'effet de trois de ces acides. Cette seconde expérience confirmera l'activité réduite de l'acide citrique remarquée au chapitre précédent.

Les études des modifications de la surface de la dentine avec des acides présentées dans ce chapitre et à l'hypochlorite de sodium présentées au chapitre suivant sont réalisées à l'aide de la spectroscopie FTIR photoacoustique (PA-FTIR). Le PA-FTIR est une technique infrarouge spécifique aux surfaces qui s'adapte bien à l'étude de la dentine. La technique a déjà été utilisée pour caractériser la dentine ainsi que son interface avec les agents d'adhésion (Spencer *et al.*, 1992; Stangel *et al.*, 1992; Di Renzo *et al.*, 1994; Di Renzo *et al.*, 1995; Mixson *et al.*, 1995). Elle présente plusieurs avantages par rapport aux autres techniques infrarouges adaptées aux études de surface; la section qui suit présente un bref aperçu de la technique elle-même ainsi que de ses avantages.

### **III.1. La spectroscopie PA-FTIR**

Parmi les nombreuses techniques spectroscopiques infrarouges permettant la caractérisation des surfaces, la spectroscopie FTIR photoacoustique est généralement la

plus largement applicable. En plus de permettre l'enregistrement de spectres de surfaces opaques (tel que la dentine), la technique de PA-FTIR présente plusieurs avantages par rapport aux techniques de transmission et de réflexion. Premièrement, c'est une technique zéro, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de signal s'il n'y a pas d'absorption. Ensuite, elle permet d'obtenir des spectres de surfaces rugueuses contrairement à des techniques telles que la spectroscopie par réflexions multiples (ATR) qui requiert des surfaces polies ou la spectroscopie par réflectance diffuse (DRIFT) qui nécessite le broyage de l'échantillon. De plus, cette technique ne demande que très peu de préparation ou modification de l'échantillon. Ce dernier avantage permet d'éviter les changements morphologiques et chimiques qui peuvent découler de toute préparation et d'étudier la dentine dans des conditions s'approchant de celles retrouvées dans les études cliniques. La technique de PA-FTIR s'avère donc particulièrement propice à l'étude de la dentine.

La technique de photoacoustique se base sur la mesure de la variation périodique de la pression d'un gaz situé au-dessus de l'échantillon. Le signal photoacoustique (ou signal PA) est généré lorsque l'échantillon absorbe de la radiation infrarouge et la convertit en chaleur (figure III-1). Cette chaleur diffuse à la surface de l'échantillon et ensuite vers le gaz environnant (gaz porteur, He). L'expansion thermique du gaz, qui est une onde mécanique (et donc un son), produit le signal PA qui sera enregistré par le microphone. Le signal résultant sera proportionnel à l'absorbance.

Voici une description plus détaillée de la génération du signal photoacoustique unidimensionnel à l'aide d'un spectrophotomètre par transformée de Fourier utilisant un interféromètre de Michelson en mode continu (McClelland *et al*, 1992): La fréquence de modulation ( $f = v\bar{\nu}$ ) d'un rayon infrarouge d'intensité  $I_0$  provenant de l'interféromètre résulte de la vitesse de changement du trajet optique (due au déplacement du miroir mobile),  $v$ , correspondant à chaque nombre d'onde,  $\bar{\nu}$ .

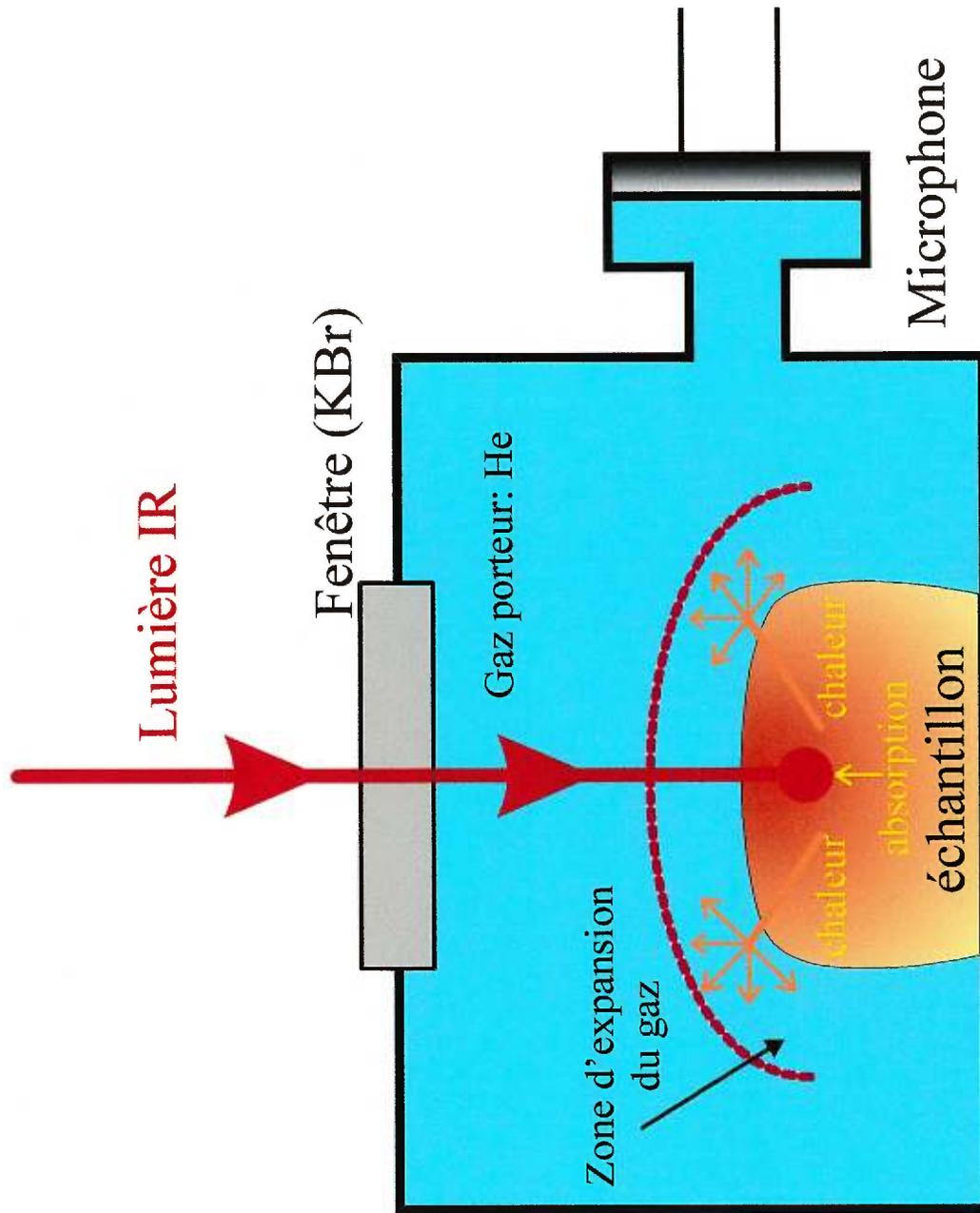
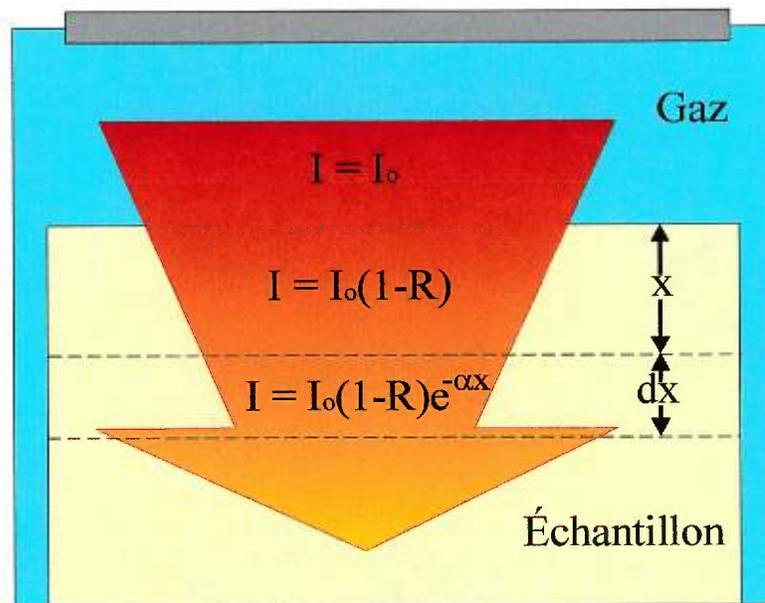


Figure III-1: Schéma idéalisé d'une cellule et du processus photoacoustique.

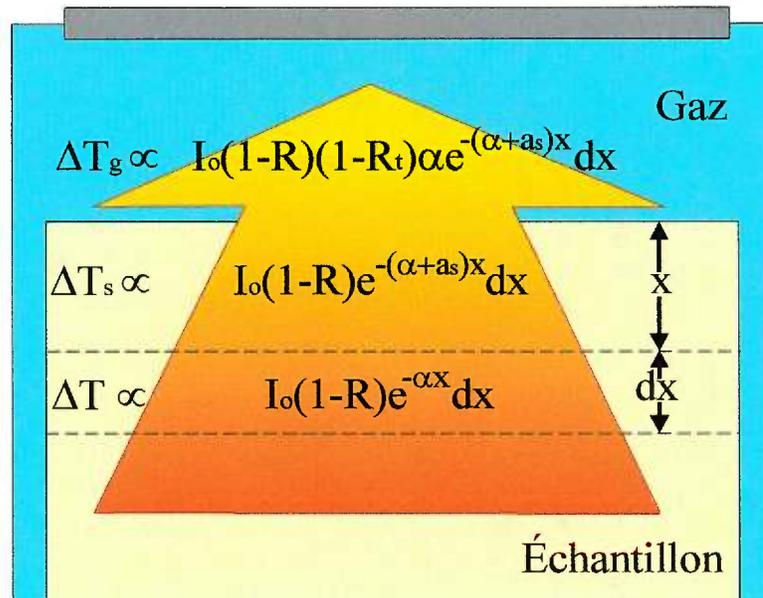
Lorsqu'un rayon infrarouge incident d'intensité  $I_0$  est absorbé par l'échantillon, une fraction ( $R$ ) de ce rayon est réfléchié à la surface (figure III-2). À une profondeur  $x=0$  de l'échantillon, le rayonnement infrarouge a donc une intensité de  $I_0(1-R)$ . Ce rayon subit une décroissance exponentielle et possède une valeur de  $I_0(1-R)e^{-\alpha x}$  à une profondeur  $x$ . Cette décroissance sera due à l'absorption de la radiation infrarouge par un échantillon ayant un coefficient d'absorption  $\alpha$ .



**Figure III-2:** Processus d'absorption de la lumière infrarouge par un échantillon dans une cellule photoacoustique.

Chaque couche,  $dx$ , de l'échantillon absorbant de la radiation infrarouge subit un chauffage oscillatoire à une fréquence,  $f$ , ayant une amplitude de changement de température,  $\Delta T$  (figure III-3). Ce changement de température est proportionnel à  $I_0(1-R)e^{-\alpha x} dx$ . Chaque couche ainsi chauffée est donc une source d'ondes thermiques. Ces ondes se propagent de l'intérieur de l'échantillon jusqu'à la surface et sont transmises au gaz porteur. Durant cette propagation, les ondes thermiques décroissent exponentiellement avec un coefficient  $a_s = (\pi f/D)^{1/2}$ , où  $D$  correspond à la diffusivité thermique de

l'échantillon. Donc, avant d'être transférée au gaz porteur, l'amplitude de l'oscillation thermique à la surface ( $\Delta T_s$ ) provenant d'une profondeur  $x$ , est proportionnelle à  $I_0(1-R)e^{-(\alpha+a_s)x}$ . Une fraction de cette onde thermique ( $R_t$ ) est réfléchie vers l'intérieur de l'échantillon résultant en une amplitude d'oscillation thermique dans le gaz,  $\Delta T_g$ , proportionnelle à  $I_0(1-R)(1-R_t)\alpha e^{-(\alpha+a_s)x}$ .



**Figure III-3:** Processus d'oscillation thermique d'un échantillon dans une cellule photoacoustique.

Le signal photoacoustique résulte de l'expansion thermique dans le gaz causée par la chaleur dégagée de la surface de l'échantillon, soit la somme des contributions de  $\Delta T_g$ . Ces contributions proviendront de chaque couche de l'échantillon qui a absorbé de la radiation infrarouge et qui est suffisamment près de la surface à ne pas avoir une contribution négligeable due à la décroissance thermique.

Les coefficients  $\alpha$  et  $a_s$ , soit les coefficients responsables de la décroissance infrarouge et thermique du signal, jouent donc un rôle très important. Le terme  $\alpha e^{-(\alpha+a_s)x}$

de la dernière expression présente un signal photoacoustique linéaire lorsque  $\alpha \ll a_s$ . Dans ce cas, une couche d'épaisseur  $L = 1/a_s$  de la surface de l'échantillon contribue 63% du signal (le reste provenant des couches inférieures de l'échantillon). Cette longueur de décroissance thermique,  $L$ , correspond à la profondeur d'échantillonnage photoacoustique. La dépendance de la profondeur d'échantillonnage sur la vitesse de miroir devient évidente lorsque  $L$  est écrit  $L = 1/a_s = (D/\pi f)^{1/2} = (D/\pi v \bar{\nu})^{1/2}$ . La profondeur d'échantillonnage varie donc selon la longueur d'onde sondée et, dans un spectre allant de 500 à 4000  $\text{cm}^{-1}$ , cette valeur varie d'un facteur de trois.

Les techniques de transmission mesurent un spectre d'émissivité de la source afin de normaliser les spectres d'échantillons pour compenser les variations de source et d'optique. Par contre, la méthode photoacoustique, une technique d'absorbance, requiert un substrat totalement absorbant. Le corps noir de choix est le noir de carbone. Les spectres observés dans ce travail sont donc un rapport du spectre PA-FTIR de l'échantillon sur un spectre PA-FTIR de noir de carbone.

Le porte-échantillon de la cellule photoacoustique utilisée dans ce travail (MTEC modèle 300) permet d'accommoder des échantillons ayant des dimensions inférieures à 10.7 mm de diamètre et 9 mm de profondeur.

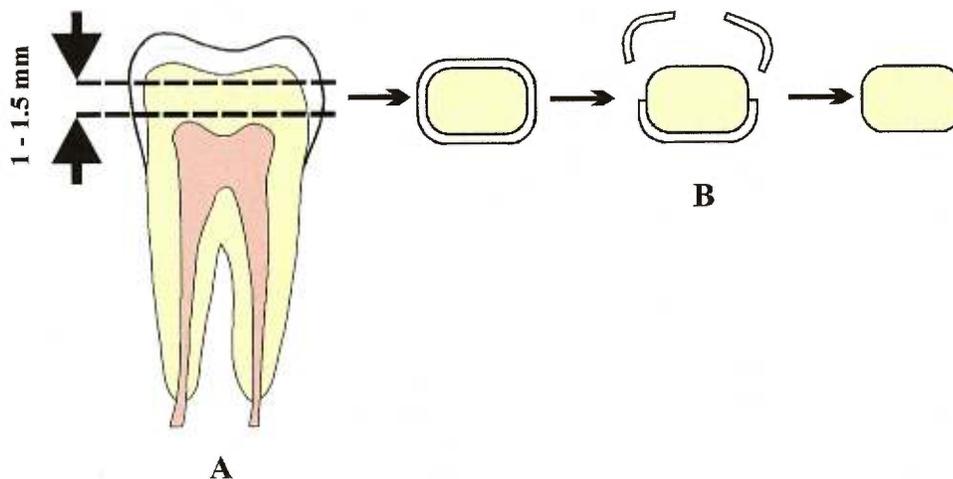
### III.2. Préparation et caractérisation des échantillons

Les solutions d'acides citrique, maléique, nitrique et phosphorique ont été préparées en diluant ou dissolvant l'acide dans l'eau Millipore. Le pH de chaque solution a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre calibré (pH 4, 7.1 et 10) muni d'une électrode de verre. La valeur du pH a été ajustée à 1.0 en ajoutant de l'eau Millipore à la solution.

Des disques de dentine ont été tranchés parallèles à la face occlusale de molaires et prémolaires (figure III-4 A). L'émail entourant la dentine a été enlevé (figure III-4 B).

Les échantillons ont été coupés en deux ou quatre, rincés à l'eau Millipore et séchés sous vide. Chaque échantillon de dentine a été caractérisé en enregistrant le spectre PA-FTIR.

Chaque échantillon a alors été plongé dans une des solutions acides pendant 10 secondes, rincé à l'eau Millipore et séché sous vide pendant environ une heure. Le spectre PA-FTIR a ensuite été enregistré avant de plonger l'échantillon à nouveau dans l'acide pendant 20 secondes de plus, suivi du rinçage et séchage (une heure sous vide). Ces étapes ont été répétées donnant ainsi un traitement séquentiel totalisant des temps de traitement égaux à  $t = 0$ , 10 secondes, 30 secondes (soit le traitement précédent plus 20 secondes), 1 minute (le traitement précédent plus 30 secondes), 2 minutes (le traitement précédent plus 1 minute, etc...), 3, 5, 11 et 15 minutes.



**Figure III-4:** Préparation des échantillons de dentine pour l'expérience de PA-FTIR.

Dans un second temps, des échantillons ont été plongés pendant deux minutes complètes dans des solutions d'acide citrique, maléique ou phosphorique, rincés à l'eau Millipore et séchés sous vide (une heure). Cette seconde procédure a été effectuée afin de préserver tout effet provenant d'espèces qui seraient insolubles à une concentration d'acide élevée et qui seraient dissoutes lorsque l'échantillon est rincé à l'eau. Dans un tel cas, le traitement séquentiel de l'expérience précédente minimisera l'effet de la formation de ces précipités.

Les spectres PA-FTIR ont été enregistrés par un spectromètre FTIR RS-1 de Mattson muni d'une cellule photoacoustique de modèle 300 de MTEC. La cellule a été purgée à l'hélium avant de la sceller afin de minimiser les interférences dues aux vapeurs d'eau et le CO<sub>2</sub>. Le domaine spectral entre 500 et 4000 cm<sup>-1</sup> a été sondé à une vitesse de miroir de 0.098 cm/s (1.6 kHz) et une résolution de 8 cm<sup>-1</sup>. Entre 500 et 1000 balayages ("scans") ont été coadditionnés afin d'améliorer le rapport signal sur bruit. Tous les spectres ont été normalisés à une référence de noir de carbone fournie par MTEC.

De plus, des spectres de référence de collagène de type I (provenant de tendon d'achille bovin, Sigma Chemicals) et d'hydroxyapatite de calcium (la référence standard de ce matériau, National Institute of Standard and Technology, NIST) ont été enregistrés afin de permettre la comparaison avec les effets du mordantage. L'apatite a été caractérisée tel que reçue. Le collagène de Sigma a été rincé à l'éthanol dans un bain à ultrasons afin d'enlever une impureté détectée spectroscopiquement (figure III-5).

Ce contaminant a été identifié comme étant une molécule organique de longue chaîne possédant une ou possiblement plusieurs fonctions cétone. Il est possible que ce contaminant soit un savon biologique utilisé lors de la préparation du collagène. Ce contaminant est enlevé en rinçant le collagène à l'éthanol dans un bain à ultrasons pendant environ 5 à 10 minutes puis séché sous vide pendant quelques heures.

### **III.3. Résultats**

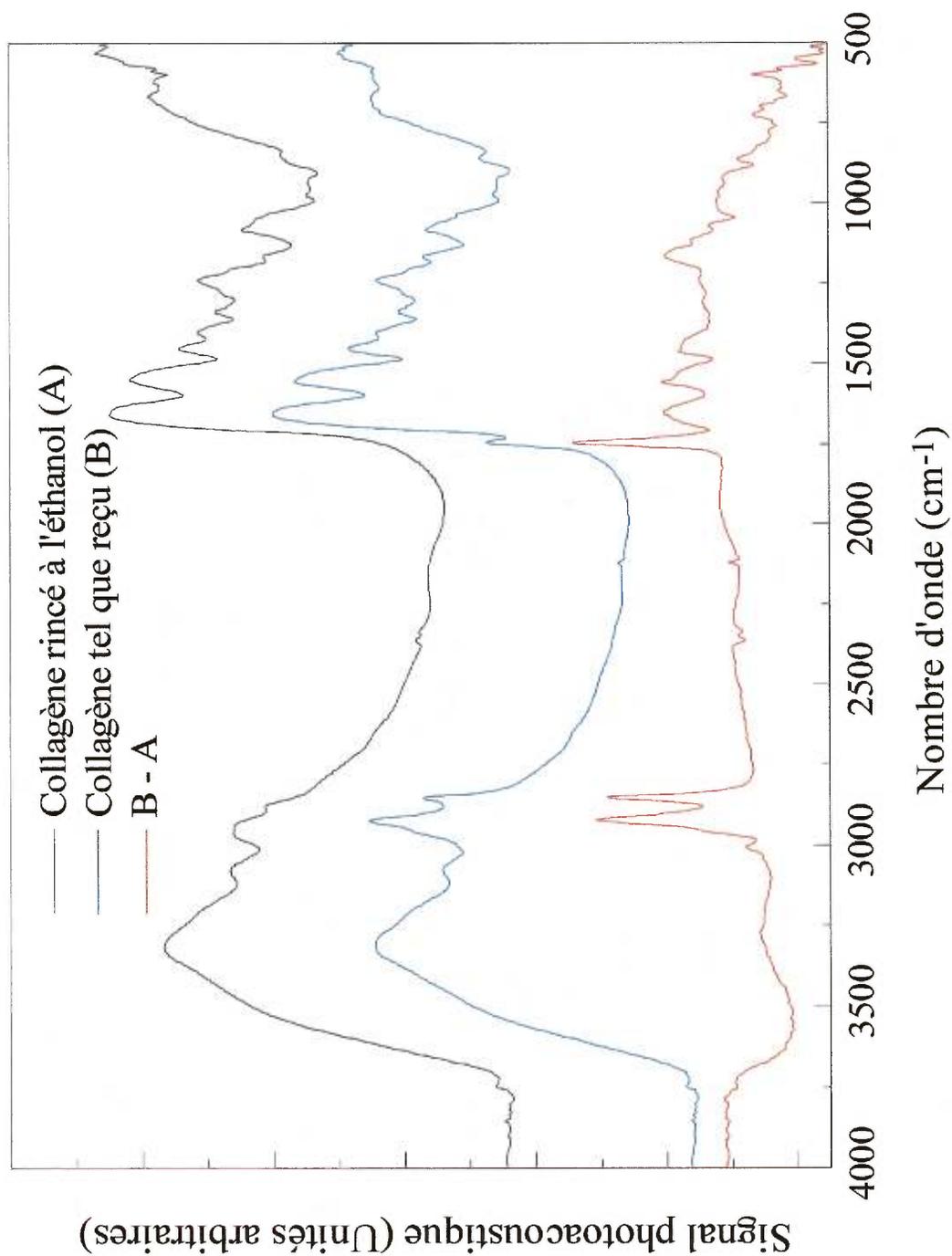
#### **III.3.a. Traitement à l'acide par étapes**

Les spectres du traitement de la dentine à l'acide phosphorique entre 0 et 2 minutes sont présentés à la figure III-6. Une augmentation de l'intensité du signal avec le temps d'exposition à l'acide est observée sur tout le domaine spectral. Les spectres des temps d'exposition plus élevés (figure III-7) démontrent que cette augmentation devient

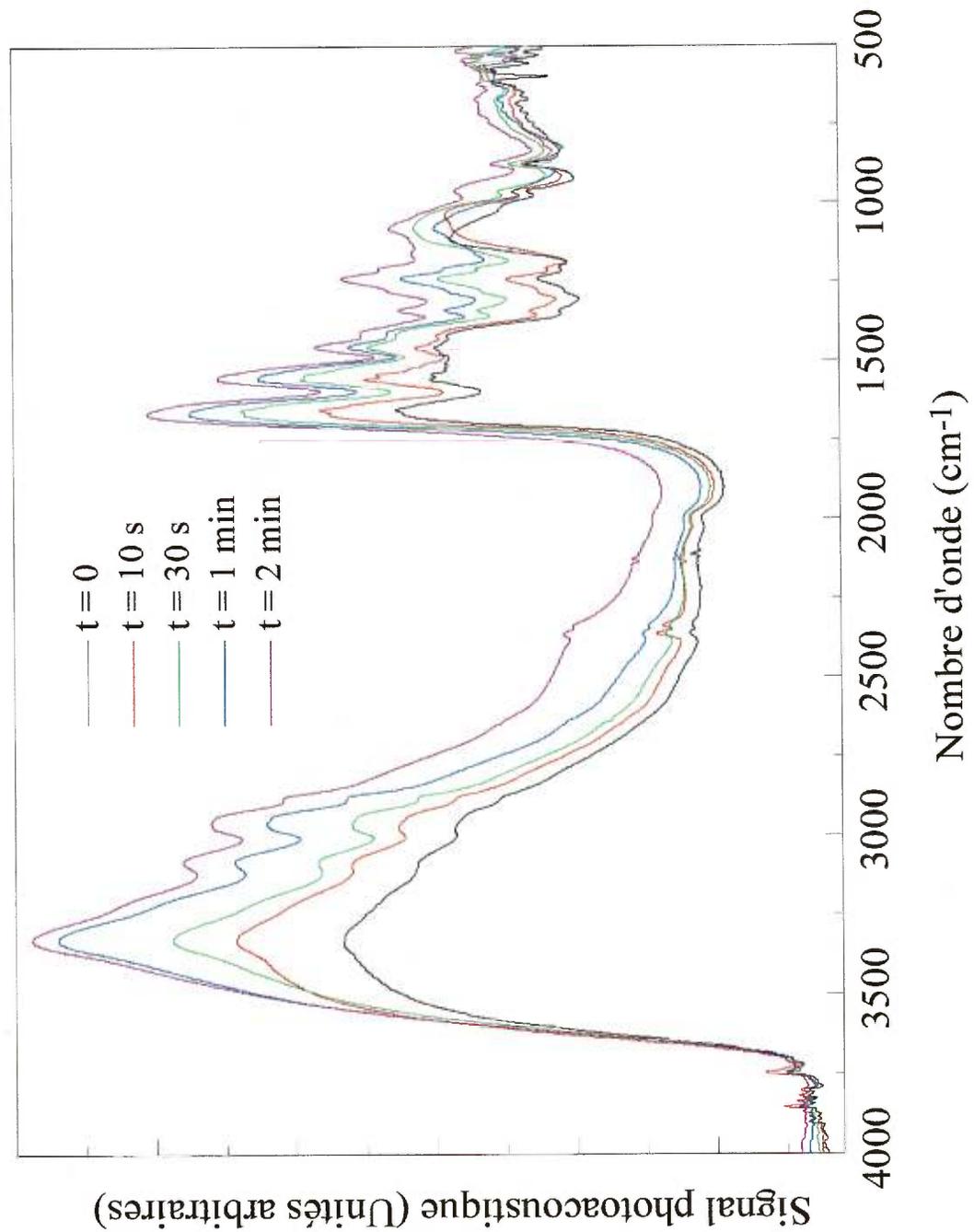
moins importante avec le temps. Des diminutions d'intensité relative peuvent aussi être observées à 1100 et 1445  $\text{cm}^{-1}$ .

Afin d'observer ces changements plus clairement, les spectres entre 0 et 1 minute ont été normalisés à la bande amide I du collagène (1665  $\text{cm}^{-1}$ ). En supposant que la déminéralisation n'affecte pas la phase organique de la dentine, cette bande d'absorption demeure inchangée (Di Renzo *et al.*, 1996). La normalisation est effectuée en multipliant un spectre par un facteur qui permet de superposer les bandes d'intensité voulue avec celles d'un second; dans ce cas l'intensité choisie est la bande amide I. Le résultat de cette normalisation est présenté à la figure III-8. Dans cette figure il est possible d'observer clairement la diminution des pics à  $\sim 1100$  et  $\sim 1445$   $\text{cm}^{-1}$  avec le temps d'exposition à l'acide. De plus, l'épaulement à  $\sim 3570$   $\text{cm}^{-1}$  près de la large bande centrée autour de 3300  $\text{cm}^{-1}$  disparaît. Toutes ces bandes d'absorption appartiennent à la phase minérale de la dentine (LeGeros, 1991). Les pics à  $\sim 1100$   $\text{cm}^{-1}$  appartiennent à l'élongation ( $\nu_3$ ) du groupement phosphate du HAP. L'épaulement près de 3570  $\text{cm}^{-1}$  provient de l'élongation du groupe hydroxyle (OH). Les bandes autour de 1445  $\text{cm}^{-1}$  résultent des vibrations d'élongation ( $\nu_3$ ) de groupements carbonate. L'existence de carbonate apatitique dans les tissus biologiques minéralisés est connue depuis longtemps et a été bien documentée dans la littérature (Emerson et Fischer, 1962; Fukuda, 1966; LeGeros *et al.*, 1969; Young, 1975; Montel *et al.*, 1981; Ishikawa *et al.*, 1994). Donc, l'apatite dentinaire observée dans ce travail possède une concentration importante de carbonate.

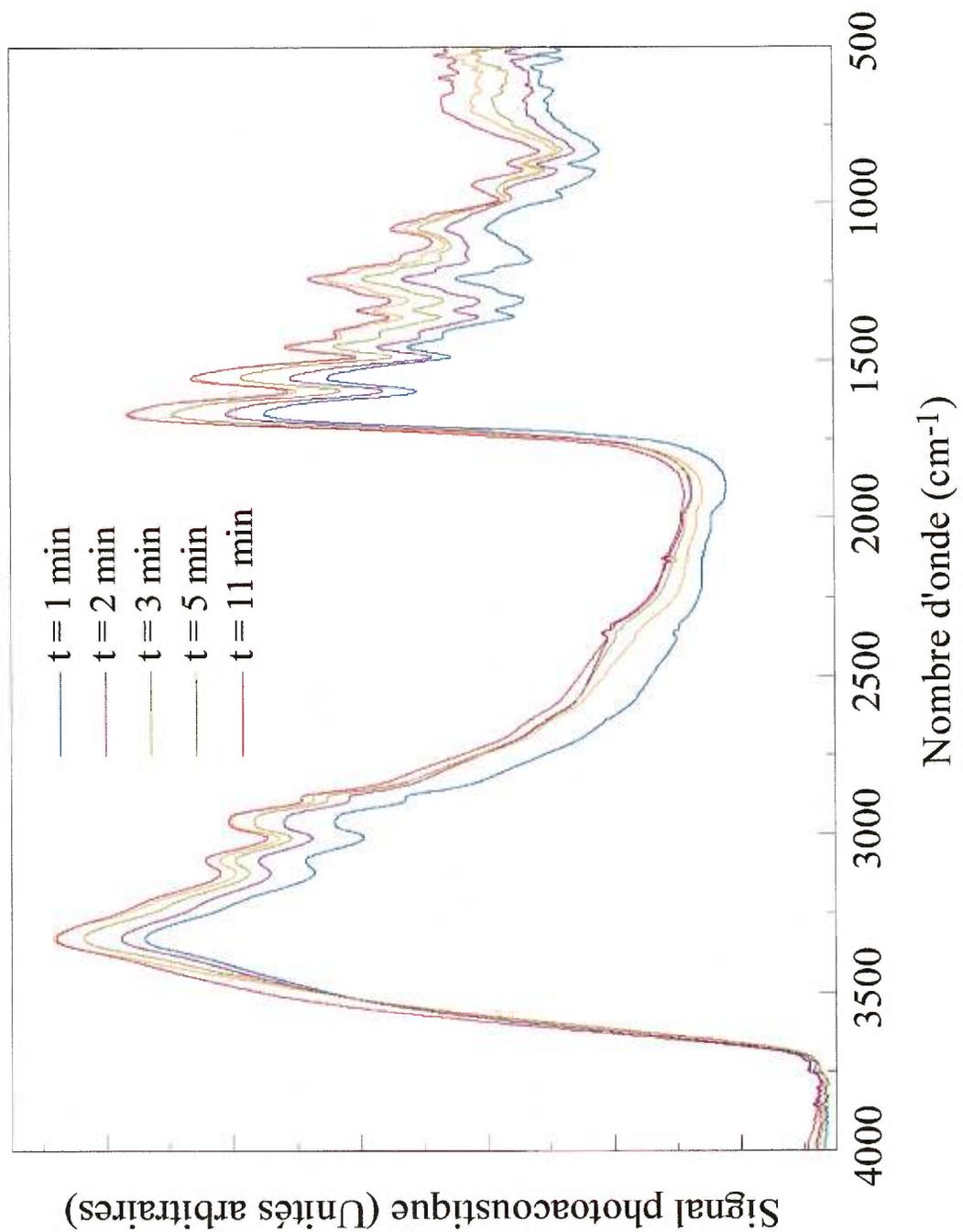
Pour un temps d'exposition variant de 0 à 15 minutes, la dentine ressemble de plus en plus au collagène de type I (figure III-9). Dans cette expérience, les spectres des traitements avec les acides citrique, maléique et nitrique montrent tous des changements semblables à l'acide phosphorique. Ces changements sont une diminution importante du signal provenant de la phase minérale de la dentine ainsi qu'une augmentation générale de l'intensité du signal.



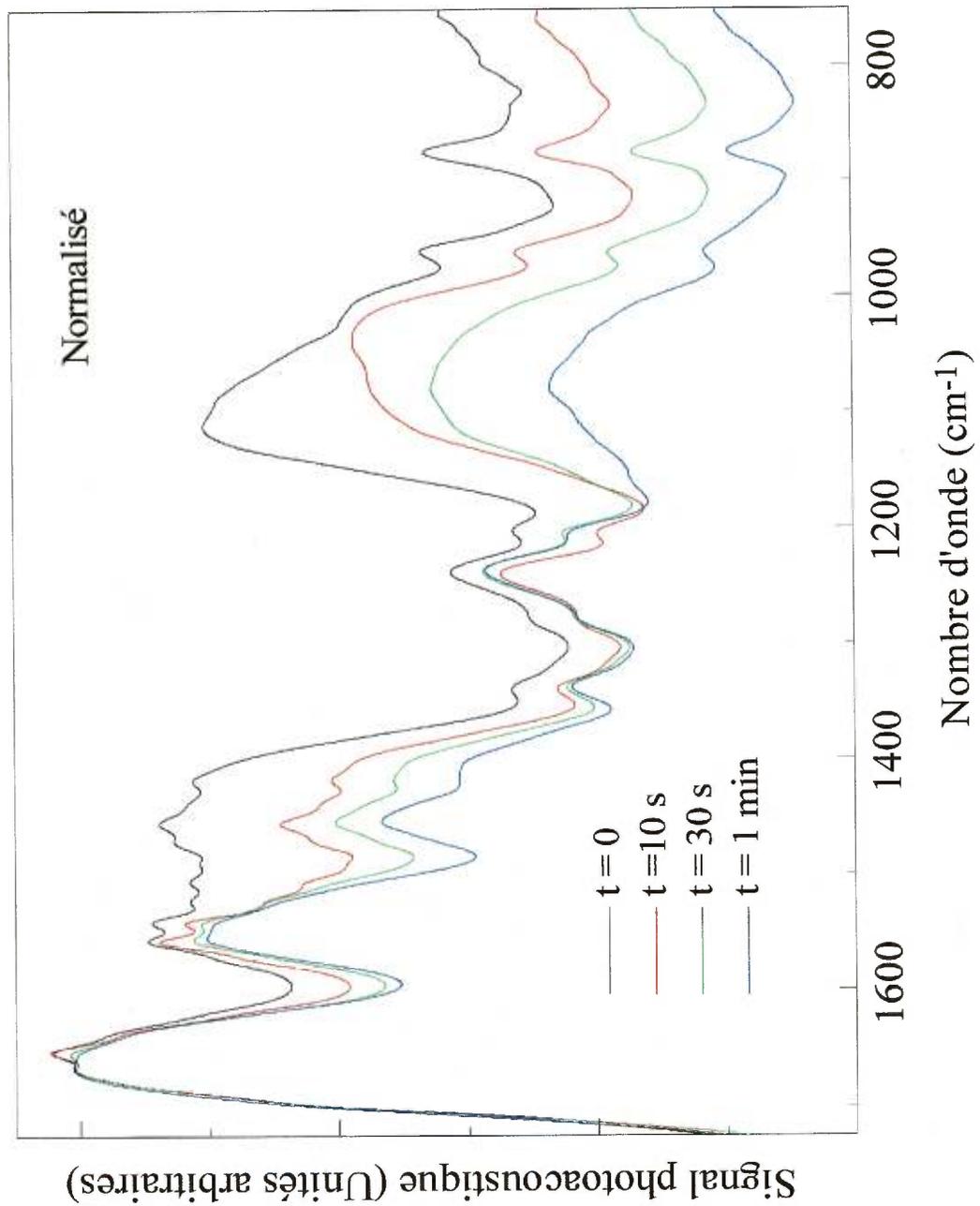
**Figure III-5:** Spectres PA-FTIR du collagène obtenu de Sigma et du contaminant



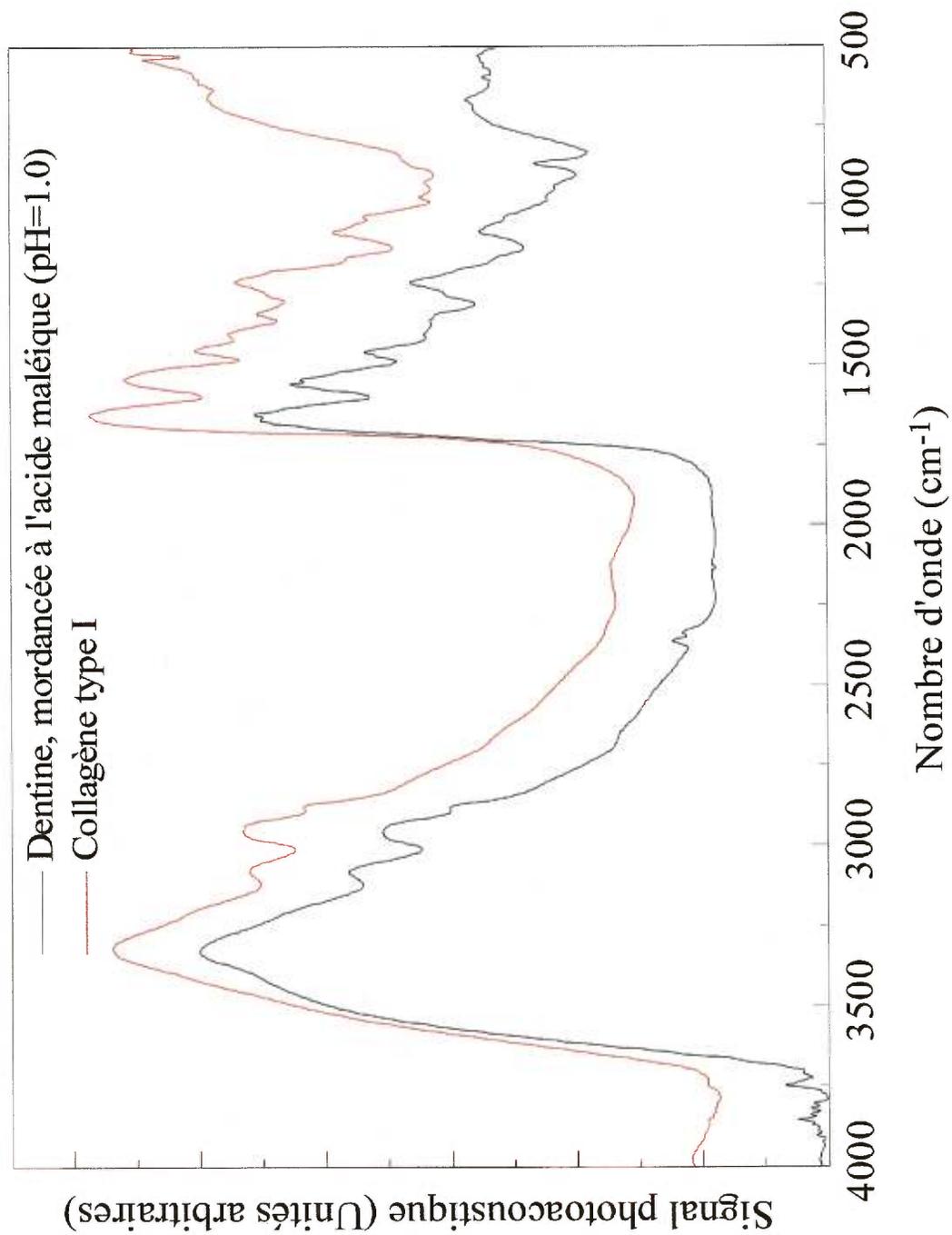
**Figure III-6:** Spectres PA-FTIR d'un échantillon traité successivement avec de l'acide phosphorique à pH 1, de 0 à 2 minutes de traitement.



**Figure III-7:** Spectres PA-FTIR d'un échantillon traité successivement avec de l'acide phosphorique à pH 1, de 1 à 11 minutes de traitement.



**Figure III-8:** Spectres PA-FTIR d'un échantillon traité successivement avec de l'acide phosphorique à pH 1, normalisés à la bande 1660 cm<sup>-1</sup> du collagène.



**Figure III-9:** Comparaison des spectres PA-FTIR de la dentine mordancée 15 minutes (acide maléique) et du collagène de type I.

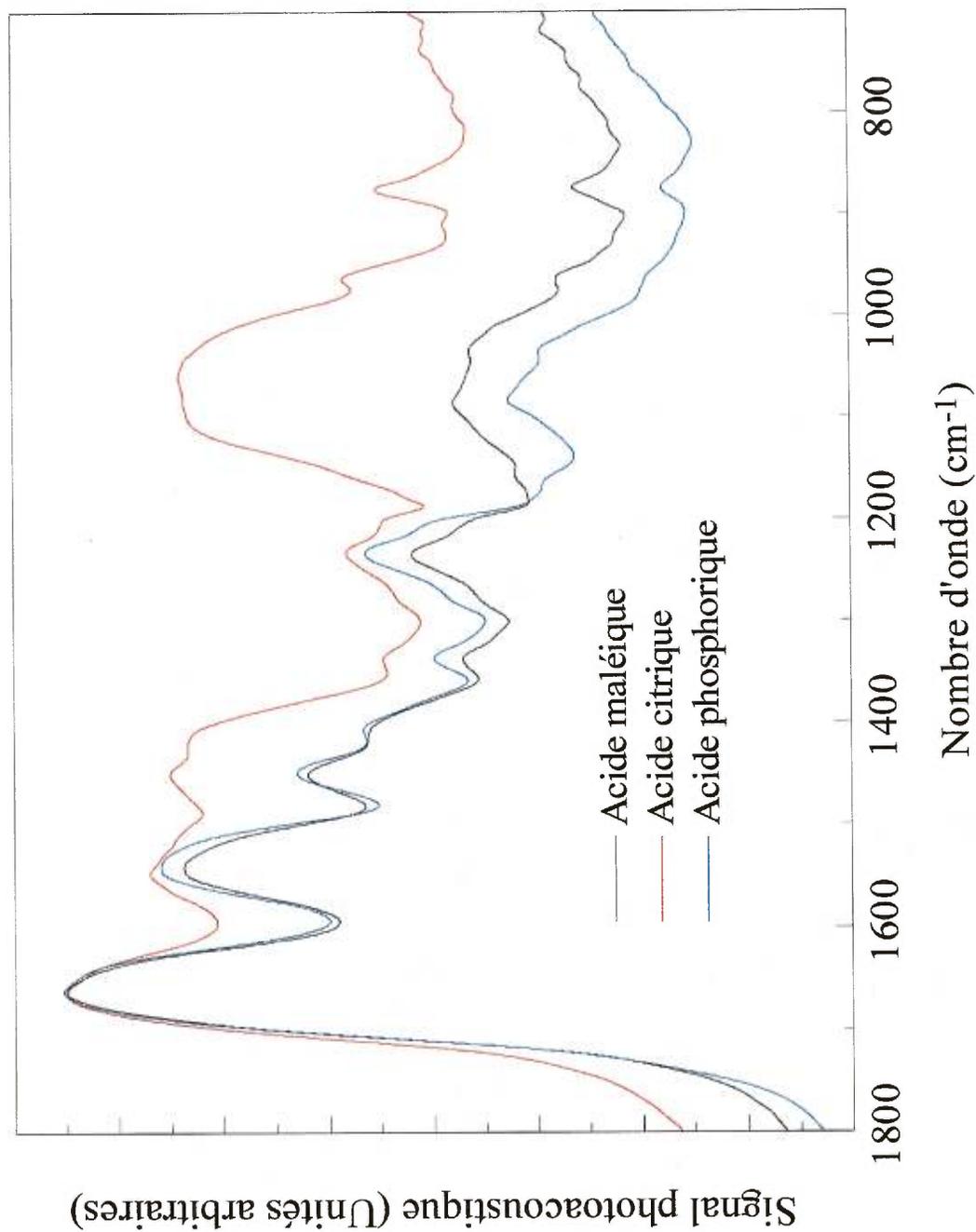
### III.3.b. Traitement à l'acide continu pendant deux minutes

Les spectres PA-FTIR du traitement acide ininterrompu de la dentine avec trois des acides (citrique, maléique et phosphorique, tous à pH = 1.0) sont présentés à la figure III-10. À partir de ces spectres et en se fiant aux bandes d'absorption des groupements phosphate et carbonate ( $1100$  et  $1445\text{ cm}^{-1}$  respectivement), il est possible de conclure qualitativement que les acides maléique et phosphorique enlèvent des quantités comparables d'apatite. Le spectre de l'échantillon traité à l'acide citrique démontre que moins de phase minérale a été enlevée par cet acide que les deux autres.

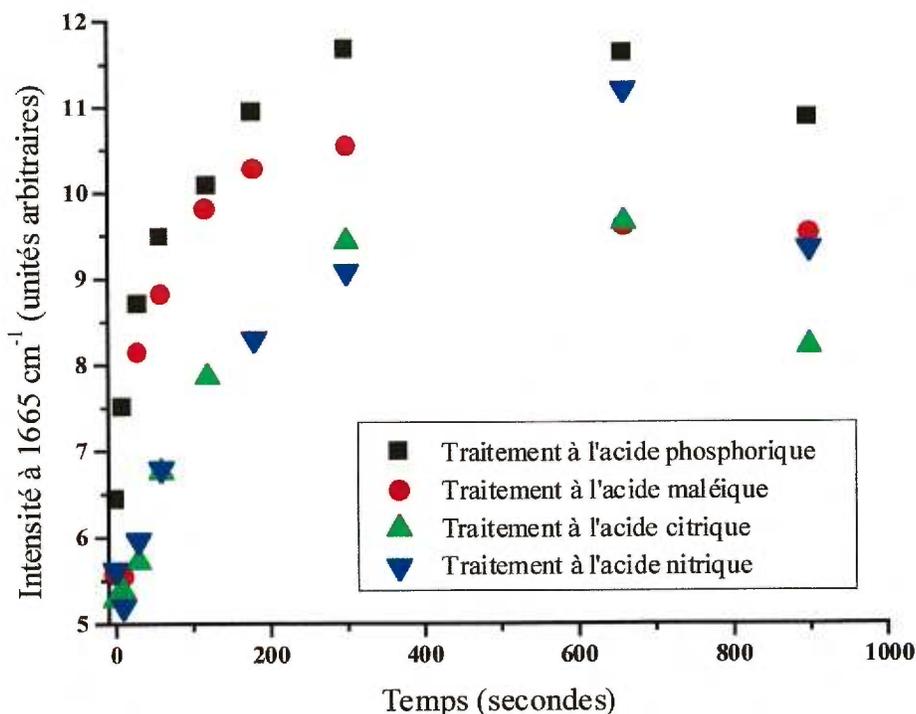
### III.4. Discussion des résultats

Les spectres de la figure III-6 montrent une augmentation de l'intensité sur tout le domaine spectral avec le temps de traitement à l'acide. Ce signal atteint un plateau après environ 5 minutes de traitement (figure III-11). Cette augmentation s'explique par une hausse importante du rapport surface/volume de l'échantillon (Yang et Fately, 1986). À mesure que l'acide dissout l'apatite, les fibres de collagène sont exposées. Ceci résulte en une surface beaucoup plus grande et donc, un signal plus important.

De plus, la vitesse à laquelle cette augmentation se produit ralentit avec le temps d'exposition. Cet effet résulte d'une combinaison de deux phénomènes. Le premier est un ralentissement de la vitesse de déminéralisation près de la surface. Ceci est le produit d'une diffusion plus lente à travers la zone déminéralisée résultant de la cinétique de la réaction, qui est contrôlée par diffusion (Marshall *et al.*, 1993).



**Figure III-10:** Spectres PA-FTIR du traitement de la dentine avec l'acide citrique, maléique ou phosphorique pendant 2 minutes.

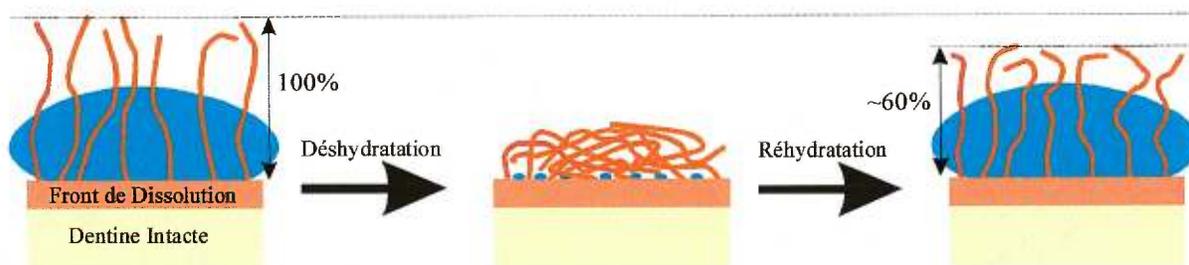


**Figure III-11:** Variation de la bande Amide I du collagène en fonction du temps de traitement et de l'acide utilisé (pH = 1.0).

Le second effet est la limite de détection de la profondeur d'échantillonnage de la technique photoacoustique. Dans les conditions expérimentales de cette étude, cette profondeur est de quelques micromètres; si le front de dissolution se situe sous cette limite, la détection de changements spectraux devient sérieusement gênée. Des études ont démontré que la profondeur de mordantage est de l'ordre de plusieurs micromètres (Gwinnett, 1994; Perdigão *et al.*, 1996; Stangel *et al.*, 1997), dépendant principalement de l'acide utilisé, sa concentration et de la longueur du traitement.

Une autre observation importante peut être faite à la figure III-11: à des temps de traitement avancés (près de 11 minutes), l'intensité du signal commence à diminuer. Cette décroissance est possiblement due à l'effondrement de la couche de collagène exposée par le mordantage (Marshall *et al.*, 1993; Pashley *et al.* 1993; Gwinnett, 1994b).

Il a été démontré que les fibres de collagène exposées à la surface de la dentine par l'action des acides peuvent s'écraser sur elles-mêmes lors de séchage (figure III-12). Une réhydratation de ces dernières peut les ramener à un état presque semblable à celui avant le séchage. Il est aussi possible que le traitement à l'acide cause un autre changement morphologique du collagène exposé (Courts, 1960; Agee *et al.* 1997). Dans les deux cas, ces effets pourraient réduire la surface et donc le signal photoacoustique résultant.



**Figure III-12:** Schéma de la déshydratation et réhydratation de la couche de collagène exposée de la dentine.

La figure III-9 compare le collagène de type I à la dentine mordancée. Il est possible d'observer à partir de cette figure qu'après 15 minutes de traitement à l'acide la surface de la dentine est composée presque totalement de collagène. Par contre, la présence de la phase minérale est encore observable par l'absorption de la vibration  $\nu_2$  du carbonate à  $868\text{ cm}^{-1}$ . L'observation de ce pic à l'exception des autres absorptions provenant du HAP peut résulter de sa présence dans une région spectrale relativement dégagée. Les autres bandes d'absorption de la phase minérale peuvent être obscurcies par les absorptions dues au collagène. Cette bande à  $868\text{ cm}^{-1}$  peut aussi provenir d'une absorption d'un sel de carbonate formé à partir du carbonatoapatite lors du mordantage.

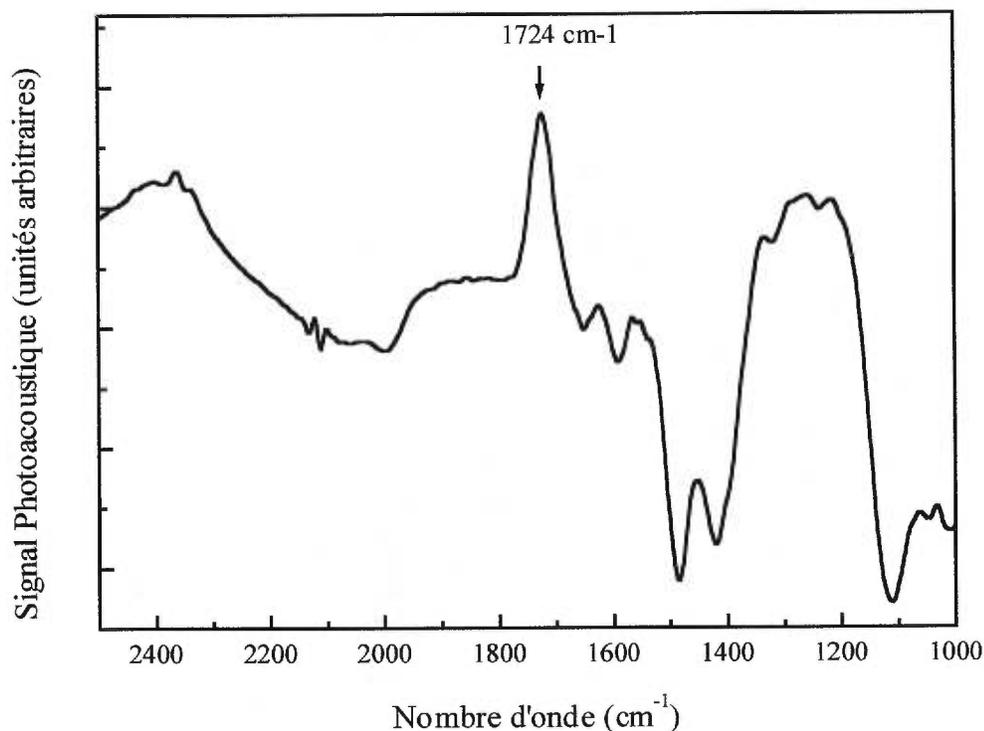
La possibilité de modifier chimiquement la phase organique de la dentine en l'exposant à un acide a été soulevée il y a longtemps (Fukuda, 1966). Les changements à la structure du collagène peuvent avoir un effet important sur la morphologie et la chimie de la surface de la dentine. Ces effets, à leur tour, auront un impact important sur la

formation et la durabilité des interactions entre la dentine et les matériaux de restauration (Agee *et al.* 1997). Les effets de ces changements peuvent être trop subtils pour être observés par une observation directe du spectre.

Suite à une normalisation à la bande d'absorption à  $1665\text{ cm}^{-1}$ , des soustractions spectrales ont été effectuées. Le spectre de la soustraction de la dentine mordancée à l'acide maléique (15 minutes) moins la dentine non traitée (figure III-13) indique la présence d'un nouveau pic d'absorption à  $1724\text{ cm}^{-1}$ . L'apparition de ce pic suggère que la modification chimique du collagène par l'acide génère des fonctions carbonyle (C=O). Cette absorption démontre donc qu'une modification chimique est engendrée auprès du collagène lors du traitement à l'acide. L'apparition ou, plus précisément, l'augmentation de cette vibration a déjà été observée dans une étude du collagène (Huc et Sanejouand, 1967). Il a été proposé que ce groupe fonctionnel résulte d'une attaque de l'acide sur les groupes des chaînes peptidiques latérales produisant l'hydrolyse de certaines liaisons peptidiques formant ainsi de nouvelles fonctions carbonyle (Veis et Cohen, 1955). L'apparition de ce pic pourrait aussi être attribuée à l'enlèvement de la phase minérale dans des conditions acides qui exposerait également des groupes carboxylate (Gorbunoff et Timasheff, 1984). Il est important de noter que la présence de cette bande est qualitativement faible et ne semble pas affecter l'intensité de la bande amide I. L'utilisation de la bande amide I demeure donc valable à des fins de normalisation.

Dans la première partie de cette expérience, tous les acides ont enlevé efficacement la phase minérale. Très peu de différences ont été observées entre les différents acides. Par contre, au chapitre précédent, il a été observé que certains acides sont moins efficaces à mordancer la dentine. Plus spécifiquement, il a été conclu par spectroscopie AA que, lors du traitement par l'acide citrique, il y a formation de précipités à la surface de la dentine qui peuvent ralentir la déminéralisation. Ces dépôts sont solubles à l'eau et sont enlevés lors du rinçage. La procédure expérimentale de cette première manipulation a donc empêché la formation durable d'une telle couche de précipités. L'interruption répétée durant l'exposition à l'acide afin de suivre le

mordançage en fonction du temps a diminué l'impact de cette couche. En effet, à chaque interruption, l'échantillon a été rincé ce qui a dissout cette couche. Ce rinçage répété a donc minimisé de façon importante l'effet observable de cette couche entre les différents acides.



**Figure III-13:** Spectre PA-FTIR des modifications apportées à la dentine lors du traitement à l'acide maléique.

La confirmation de cet effet a été l'inspiration derrière la seconde série d'expériences. Des échantillons de dentine ont été mordancés pendant deux minutes complètes et rincés. Quoique les précipités soient encore une fois enlevés, cette étude permet d'observer plus clairement si les précipités ont un effet notable sur la déminéralisation. Les spectres PA-FTIR résultant de cette étude sont présentés à la figure III-10. Ces spectres démontrent clairement que l'acide citrique n'a pas enlevé autant de HAP que l'acide maléique ou phosphorique. L'effet réduit de l'acide citrique à

mordancer les tissus minéralisés a déjà été observé (Sterrett *et al.*, 1991; Hennequin *et al.*, 1994; Kinney *et al.*, 1995; Misra, 1996; Perdigão *et al.*, 1996).

Une analyse qualitative de ces spectres combinée aux observations du chapitre précédent indique clairement que l'acide citrique forme des espèces insolubles au front de mordantage. La formation de ce précipité gêne la dissolution du HAP. Le rapport de l'intensité de la bande d'absorption du phosphate à  $1116\text{ cm}^{-1}$  (représentant la phase minérale) sur celle de l'amide I à  $1665\text{ cm}^{-1}$  (de la phase organique) permet une comparaison semi-quantitative. Ce rapport, avant et après le traitement pour chaque acide, est présenté au tableau III-1. À partir des données de ce tableau, il devient évident que l'acide citrique n'a pas enlevé autant de HAP que les deux autres acides. Afin d'expliquer cette lacune de la part de l'acide citrique, la formation d'un précipité de citrate de calcium à l'interface de la dentine a déjà été suggérée par Misra (1996). Ce dernier a réussi à isoler du citrate de calcium,  $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , à partir de solutions de HAP et d'acide citrique en récoltant et évaporant le filtrat.

Échantillon/Acide	$1116\text{ cm}^{-1}/1665\text{ cm}^{-1}$ Avant le traitement à l'acide	$1116\text{ cm}^{-1}/1665\text{ cm}^{-1}$ Après le traitement à l'acide	Réduction (%)
Échantillon 1, acide maléique	0.94	0.45	52
Échantillon 2, acide citrique	0.92	0.84	9
Échantillon 3, acide phosphorique	0.93	0.53	43

**Tableau III-1:** Comparaison des rapports des bandes  $1116\text{ cm}^{-1}$  (phosphate) sur  $1665\text{ cm}^{-1}$  (Amide I) pour les échantillons de dentine traités à l'acide maléique, citrique ou phosphorique.

### III.5. Conclusions

La spectroscopie FTIR photoacoustique a permis d'étudier et comprendre plusieurs phénomènes se produisant à la surface de la dentine humaine lorsqu'elle est traitée par un acide. Il a été vérifié que le processus de déminéralisation de la dentine par un acide est plus rapide lors des premières minutes de traitement. Ce traitement dissout non seulement l'hydroxyapatite de calcium mais aussi le carbonatoapatite. De plus, la dissolution de l'hydroxyapatite génère une surface riche en phase organique ayant un aire très élevé.

Le prochain chapitre présente l'autre volet de cette étude photoacoustique, soit la caractérisation de la dentine exposée à un agent capable d'enlever la phase organique.

**Références:**

Agee, K; Tunnah, I; Zhang, Y; Pashley, EL; Pashley, DH; 1997; *J Dent Res*; **76** (Special Issue); Abstract No. 2411.

Chiba, M; Itoh, K; Wakumoto, S; 1989; *Dent Mater J*; **8**; 76.

Chow, LC; Brown, WE; 1973; *J Dent Res*; **52**; 1158.

Courts, A; 1960; *Biochem J*; **74**; 238.

Di Renzo, M; Ellis, TH; Domingue, A; Bertrand, L.; Sacher, E; Stangel, I; 1994; *J Adhesion*; **47**; 115.

Di Renzo, M; Ellis, TH.; Sacher, E; Stangel, I; 1995; *Prog Surf Sci*; **50**; 407.

Di Renzo, M; Bakoyannis, C; Ellis, TH; Sacher, E; Stangel, I; 1996; *J Dent Res*; **75** (Special Issue), Abstract No. 2634.

Emerson, WH; Fischer, EE; 1962; *Arch Oral Biol*; **7**; 671.

Fukuda, K; 1966; *Histochemie*; **6**; 127.

Gorbunoff, MJ; Timasheff, SN; 1984; *Anal Biochem*; **136**; 440.

Gwinnett, AJ; 1994; *Am J Dent*; **7**; 243.

Gwinnett, AJ; 1994b; *Am J Dent*; **7**; 144.

Gwinnett, AJ; Buonocore, MG; 1965; *Br Dent J*; **119**; 77.

Hennequin, M; Pajot, J; Avignant, D; 1994; *J Endodon*; **20**; 551.

Huc, A; Sanejouand, J; 1967; *Biochim Biophys Acta*; **154**; 408.

Ishikawa, K; Takagi, S; Chow, LC; Ishikawa, Y; Eanes, ED; Asaoka, K; 1994; *Dent Mater*; **10**; 26.

Kinney, JH; Balooch, M; Haupt Jr., DL; Marshall, SJ; Marshall Jr., GW; 1995; *J Dent Res*; **74**; 1179.

LeGeros, RZ; Trautz, OR; Klein, E; LeGeros, JP; 1969; *Experientia*; **25**; 5.

LeGeros, RZ; 1991; *Calcium phosphate in oral biology and medicine*, Karger, Basel.

Marshall, GW, Jr.; Balooch, M; Tench, RJ; Kinney, JH; Marshall, SJ; 1993; *Dent Mater*; **9**; 265.

Misra, DN; 1996; *J Dent Res*; **75**; 1418.

Mixson, JM; Spencer, P; Moore, DL; Chappel, RP; Adams, S; 1995; *Am J Dent*; **8**; 5.

Montel, G; Bonel, G; Heughebaert, JC; Trombe, JC; Rey, C; 1981; *J Crys Growth*; **53**; 74.

Pashley, DH; Ciucchi, B; Sano, H; Horner, JA; 1993; *Quintessence Int*; **24**; 618.

Perdigão, J; Lambrechts, P; Van Meerbeek, B; Tomé, AR; Vanherle, G; Lopes, AB; 1996; *Dent Mater*; **12**; 262.

Spencer, P; Byerley, TJ; Eick, JD; Witt, JD; 1992; *Dent Mater*; **8**; 10.

Stangel I, Ostro E, Domingue A, Sacher E, Bertrand L; 1992; Photoacoustic Fourier Transform IR spectroscopy of polymer-dentin interaction. Tiré de "Proceedings from the first international conference on polymer-solid interfaces". Éd. Pireaux JJ, Bertrand P, Bredas JL, Institute of Physics Publishing, Bristol, pp.157-167.

Stangel, I; Ellis, TH; Sacher, E; 1997; *J Dent Res*, **76** (Special Issue); Abstract No. 1955.

Sterrett, JD; Delaney, B; Rizkalla, A; Hawkins, CH; 1991; *Quintessence Int*; **22**; 371.

Veis, A; Cohen, J; 1955; *J Am Chem Soc*, **77**; 2364.

Yang, CQ; Fately, WG; 1986; *J Mol Struct*; **141**; 279.

Young, RA; 1975; *Clin Orthop Rel Res*; **113**; 249.

## **Chapitre IV**

Les modifications chimiques de la dentine étudiées par  
PA-FTIR: L'hypochlorite de sodium

Aux deux chapitres précédents, les modifications apportées à la dentine par déminéralisation à l'aide de traitements à l'acide ont été étudiées. Ce chapitre se consacre aux modifications de la dentine humaine lorsqu'elle est traitée avec l'hypochlorite de sodium, un agent permettant d'enlever sa phase organique. L'hypochlorite permet la dissolution des protéines dentinaires tout en laissant la phase minérale intacte (Zach et Kaufman, 1983; Sakae *et al.*, 1988; Calas *et al.*, 1994; Gwinnett, 1994; Haikel *et al.*, 1994; Wakabayashi *et al.*, 1994).

L'hypochlorite de sodium (NaOCl) est utilisé depuis plusieurs années afin d'éliminer la phase organique des biomatériaux (Nakamura *et al.*, 1985; Schiller *et al.*, 1995). L'effet de l'hypochlorite sur le collagène est soupçonné fragmenter les longues chaînes peptidiques et chloriner les groupes terminaux des protéines pour enfin décomposer ces N-chloroamines en d'autres espèces (Pereira *et al.*, 1973; Stoward, 1975; Davies *et al.*, 1993; Schiller *et al.*, 1995; Prütz, 1996). À l'aide de l'hypochlorite, des études récentes (Gwinnett, 1994; Wakabayashi *et al.*, 1994) ont démontré que la zone "hybride" de Nakabayashi (1982; 1985) n'est pas nécessaire afin d'obtenir une bonne rétention des restaurations. Cette zone peut possiblement même y nuire (Wakabayashi *et al.*, 1994).

L'utilisation d'un traitement à l'acide, à l'hypochlorite ou une combinaison des deux ouvre plusieurs portes vers la formation de liens chimiques entre la dentine et les promoteurs d'adhésion dentinaires. L'utilisation d'un tel traitement permettrait la création d'une surface de dentine riche en phase minérale ou organique favorisant, à l'étape suivante, la formation de liens avec des adhésifs spécifiquement créés pour aller de pair avec l'une de ces deux phases.

Les expériences de ce chapitre sont consacrées à l'étude des effets d'une solution d'hypochlorite de sodium sur la nature chimique de la dentine humaine. Dans un premier temps, les modifications apportées à la dentine fraîchement exposée sont caractérisées en fonction du temps d'exposition à la solution d'hypochlorite. Dans ce cas, la surface

dentinaire initiale est couverte de la couche de débris de fraisage contenant des composantes minérales et organiques. Cette expérience révèle que le traitement à l'hypochlorite suit une cinétique différente de celle observée pour le mordantage. En effet, l'hypochlorite enlève la phase organique plus lentement que les acides ne dissolvent la phase minérale. Ensuite, des échantillons de dentine ayant subi un prétraitement à l'acide sont exposés à la solution d'hypochlorite pendant des durées croissantes. Ce second cas résulte en une surface similaire à la surface initiale sans débris et riche en phase organique. Il sera démontré que lorsque le collagène est exposé, l'action de l'hypochlorite devient beaucoup plus rapide. Ces expériences sont réalisées à l'aide de la spectroscopie PA-FTIR décrite au chapitre précédent (section III.1).

#### **IV.1. Préparation et caractérisation des échantillons**

Les disques de dentine utilisés dans les expériences de ce chapitre ont été préparés suivant le protocole décrit à la section III.2 du chapitre précédent. L'hypochlorite de sodium, provenant d'une solution commerciale 12% (p/v), a été utilisé tel quel.

Pour les échantillons de dentine sans prétraitement, des spectres préliminaires du traitement à l'hypochlorite ont révélé une réaction beaucoup plus lente que celle observée lors de l'exposition aux acides. Donc, le traitement séquentiel à l'hypochlorite de sodium a été effectué à des intervalles de  $t = 0, 30$  minutes, 1, 2, 6, 18, 30 et 48 heures. À chaque étape d'exposition, l'échantillon a été rincé à l'eau et séché sous vide avant d'enregistrer le spectre PA-FTIR.

Afin d'évaluer les changements engendrés par l'hypochlorite sur la dentine mordancée, des échantillons ont été traités à l'acide maléique (à pH 1) pendant deux minutes, rincés et séchés. Des spectres PA-FTIR ont été enregistrés avant et après ce traitement. Par la suite, l'échantillon a été exposé à la solution d'hypochlorite. À chaque intervalle, l'échantillon a été rincé, séché sous vide et caractérisé par spectroscopie

PA-FTIR. Ces disques ont été séquentiellement exposés à la solution pendant des durées totalisant 0, 10 et 30 secondes, 1, 2, 5 et 15 minutes.

De plus, des spectres PA-FTIR d'une référence d'hydroxyapatite de calcium ont aussi été enregistrés. Cette référence obtenue du "National Institute of Standards and Technology" (NIST) est une apatite de calcium synthétique préparé a basse température.

Les spectres PA-FTIR de tous les échantillons ont été enregistrés sur le même spectrophotomètre dans des conditions semblables à celles du chapitre précédent (section III.2); c'est-à-dire entre 500 et 1000 balayages à une vitesse de 0.098 cm/s (1.6 kHz) et à une résolution de 8 cm<sup>-1</sup>. Tous les spectres présentés sont normalisés à la référence de noir de carbone.

## IV.2. Résultats

### IV.2.a. Dentine sans prétraitement exposée à l'hypochlorite de sodium

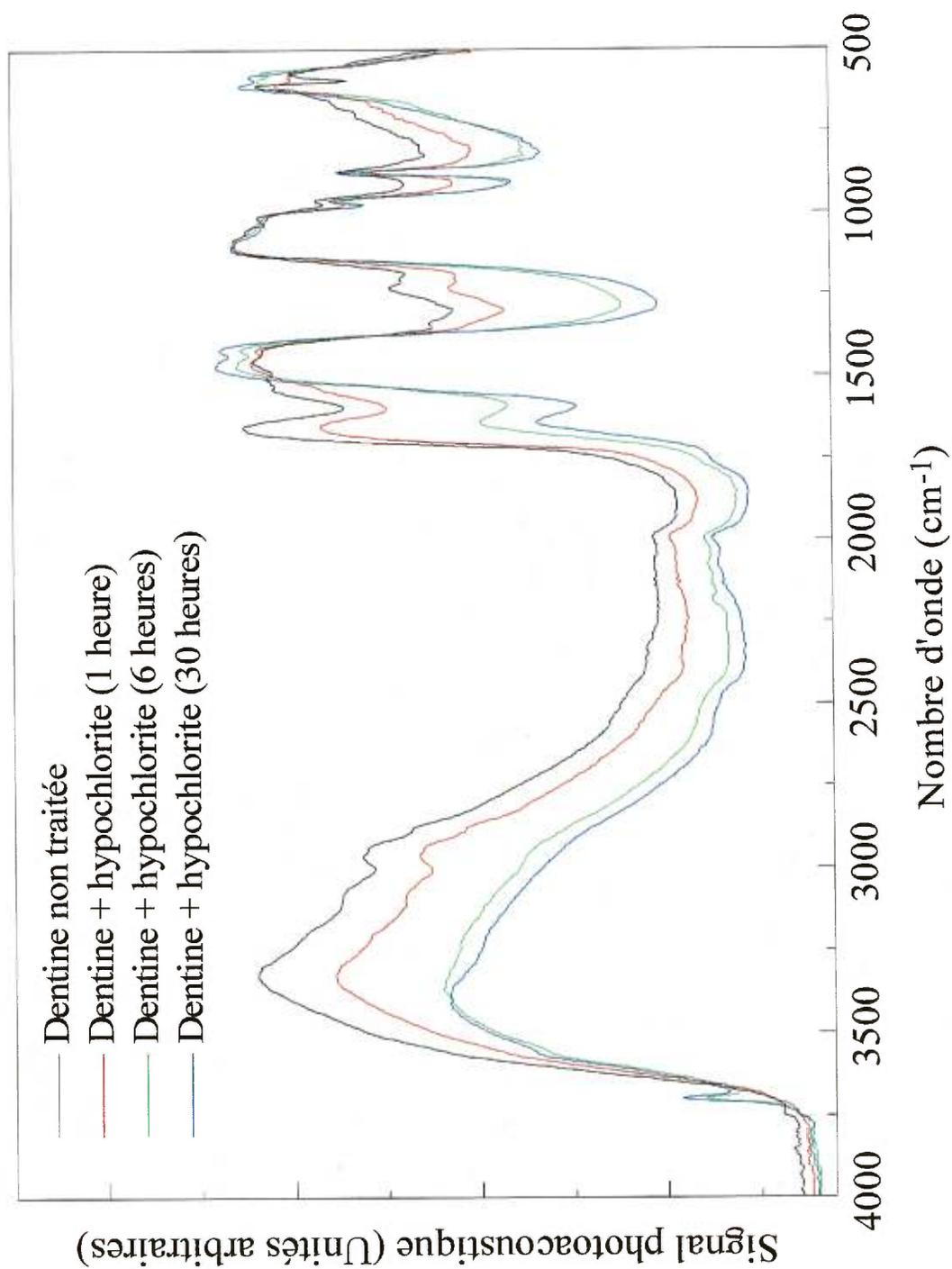
Les résultats du traitement de la dentine avec la solution d'hypochlorite de sodium sont présentés à la figure IV-1. Puisque le HAP est insoluble à l'hypochlorite, les élongations du groupement phosphate (~1100 cm<sup>-1</sup>) présentent une intensité constante permettant de normaliser les spectres PA-FTIR. Les spectres présentés dans cette figure sont donc normalisés à la bande de vibration à 1100 cm<sup>-1</sup> de ce groupement. Tel qu'indiqué par d'autres chercheurs (Sakae *et al.*, 1988), ces spectres démontrent une dissolution du collagène mais que cet enlèvement n'est pas total. De plus, les échantillons sont devenus très cassants après aussi peu que 6 heures d'exposition à l'hypochlorite indiquant une pénétration profonde dans l'échantillon.

Dans ces spectres, la présence de la bande phosphate (~1100 cm<sup>-1</sup>) et carbonate (~1445 cm<sup>-1</sup>) du HAP devient plus apparente avec le temps d'exposition. Aussi, le pic observé à 1655 cm<sup>-1</sup> diminue et se déplace graduellement vers 1640 cm<sup>-1</sup>. La figure IV-2

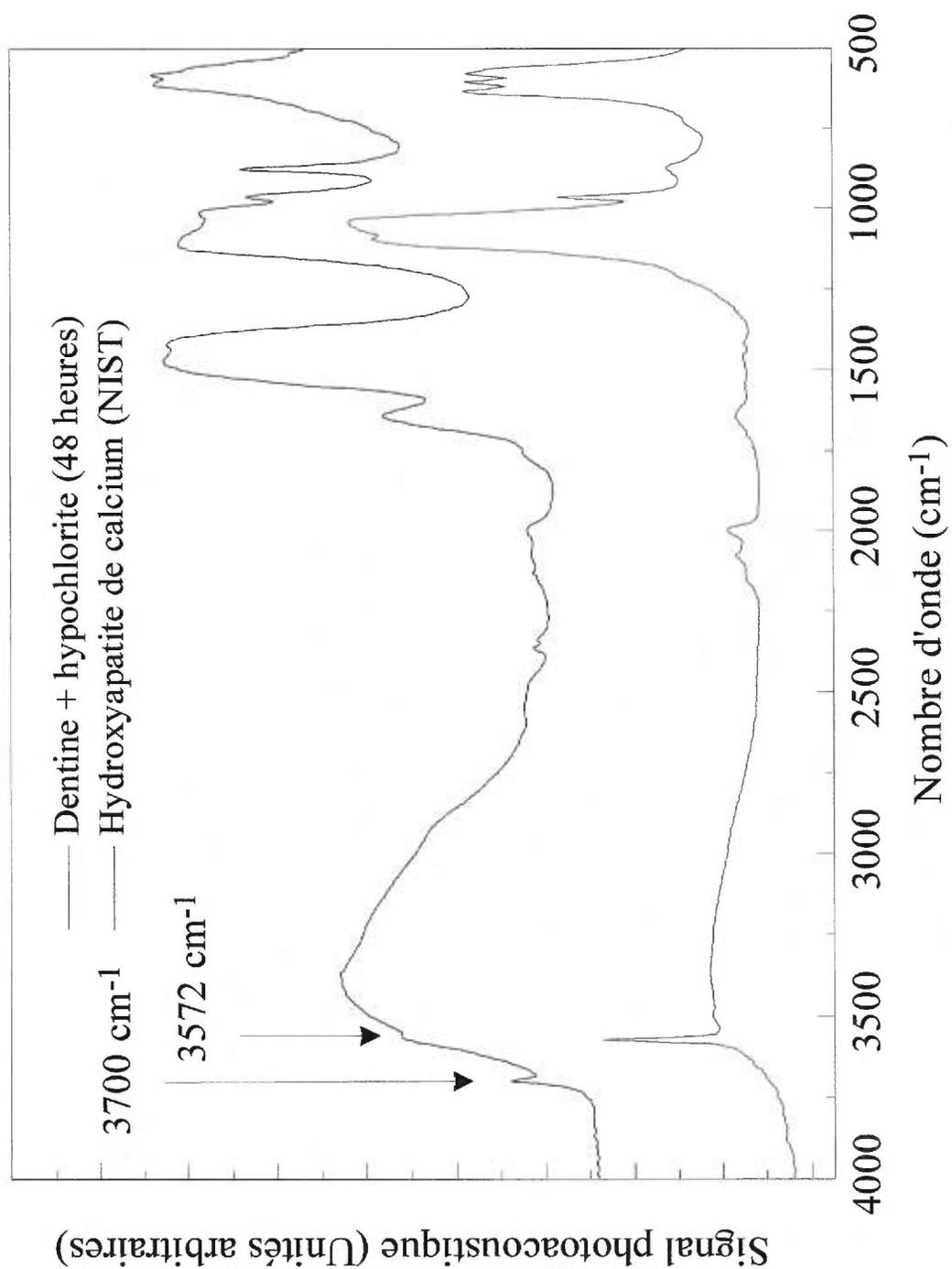
compare la dentine traitée à l'hypochlorite (pendant 48 heures) avec le HAP synthétique de référence provenant de NIST. Les spectres de la dentine déprotéinée présentent plusieurs bandes d'absorption en commun avec la référence. Par contre, des concentrations élevées de carbonate et d'eau sont observées sur la dentine. L'eau se démarque principalement par sa large bande d'absorption centrée autour de  $3400\text{ cm}^{-1}$ . De plus, le spectre de la dentine de cette figure concorde bien avec les spectres PA-FTIR de HAP contenant du carbonate obtenus par Rehman et Bonfield (1997).

#### **IV.2.b. Traitement consécutif à l'acide et l'hypochlorite de sodium**

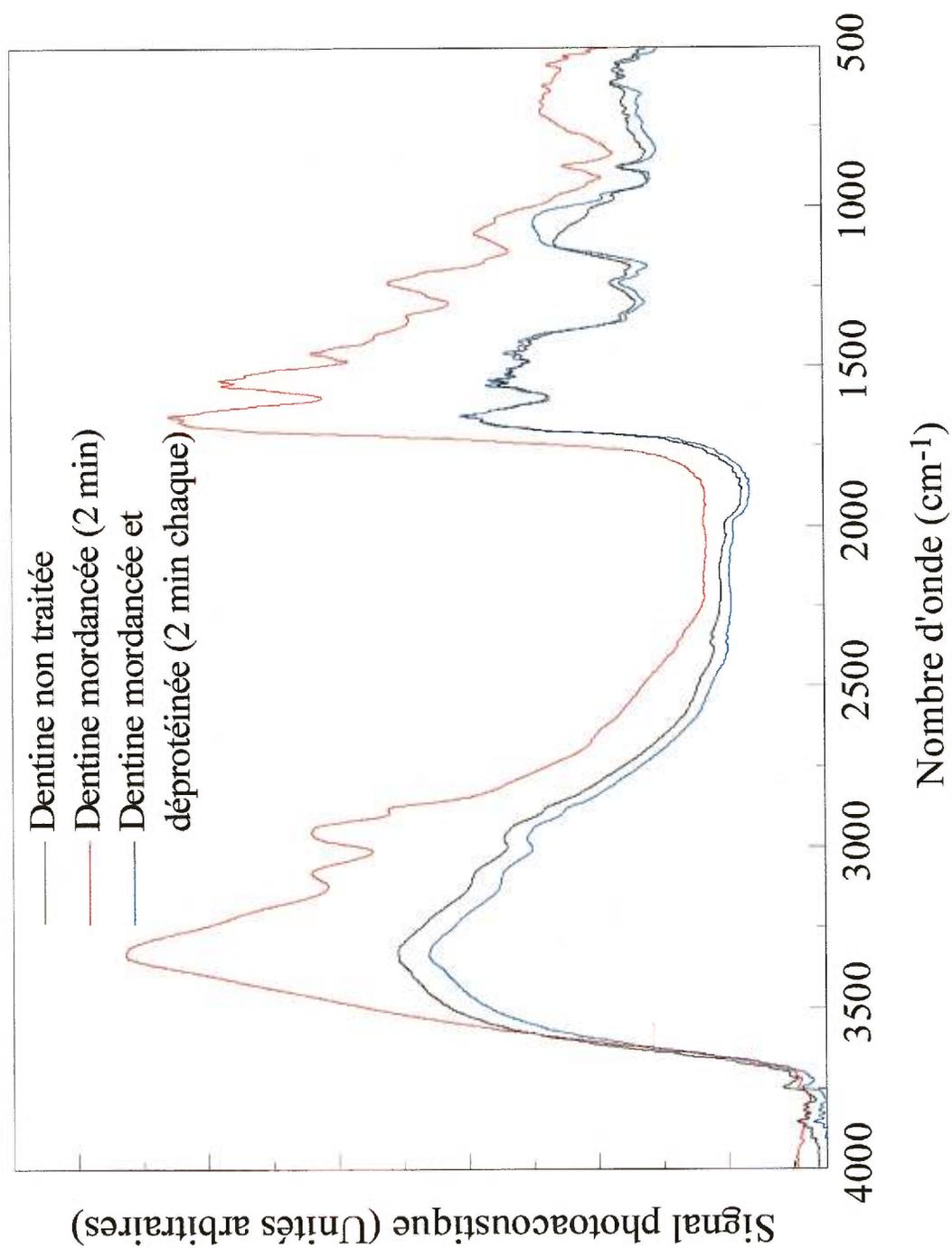
Afin d'évaluer l'action de l'hypochlorite sur la dentine préalablement traitée à l'acide, un échantillon de dentine a été mordancé et ensuite traité à l'hypochlorite. Certains de ces spectres sont présentés à la figure IV-3. Le spectre de la dentine mordancée démontre une perte de la phase minérale exposant ainsi une phase riche en collagène. Le spectre du traitement à l'hypochlorite montre l'enlèvement très rapide de la phase organique exposée. Après deux minutes de traitement à l'hypochlorite, le spectre présente une surface presque indentique à celle de la dentine avant tout traitement. Les spectres enregistrés pour les traitements intermédiaires (10, 30 et 60 secondes, figure IV-4) présentent une transition graduelle de la phase riche en collagène vers une phase dont les proportions sont comparables à celles de la dentine non traitée. De plus, les traitements de 5 et 15 minutes ne démontrent plus aucun changement après celui de 2 minutes.



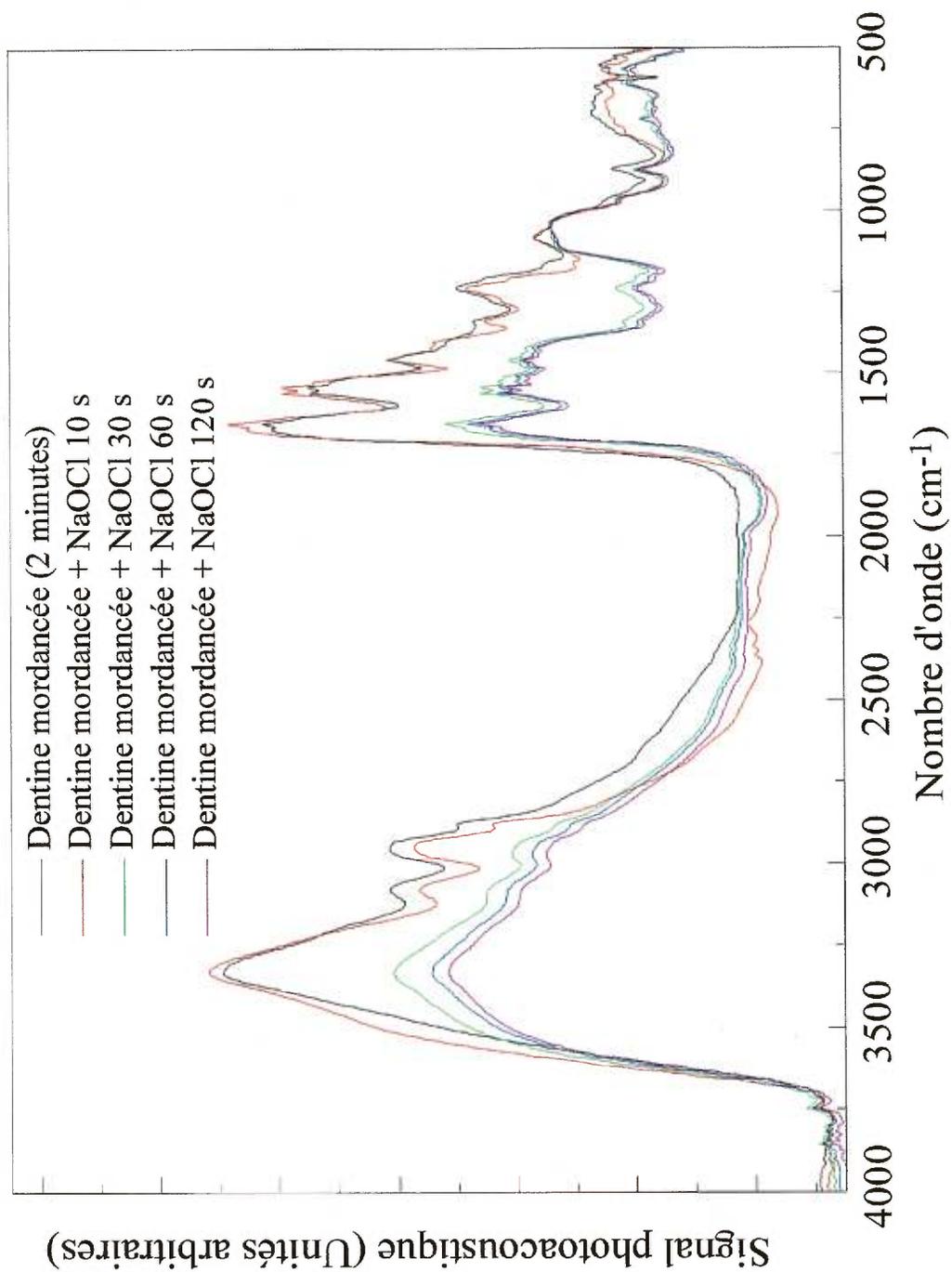
**Figure IV-1:** Spectres PA-FTIR d'un échantillon traité successivement avec l'hypochlorite de sodium, normalisés à la bande 1100cm<sup>-1</sup> du HAP.



**Figure IV-2:** Comparaison des spectres PA-FTIR de la dentine traitée à l'hypochlorite et le HAP synthétique.



**Figure IV-3:** Spectres PA-FTIR du traitement consécutif de la dentine à l'acide maléique (pH=1.0) après deux minutes et à l'hypochlorite de sodium après deux minutes.



**Figure IV-4:** Spectres PA-FTIR du traitement à l'hypochlorite de la dentine mordancée.

### IV.3. Discussion

Les spectres PA-FTIR des échantillons traités à l'hypochlorite de sodium (figure IV-1) dénotent non seulement la présence de HAP mais aussi une concentration élevée de carbonate. La présence de carbonate dans les tissus minéralisés est bien connue et est de l'ordre de 5.7 % (p/p) dans la dentine (LeGeros, 1991). Dans l'apatite, ce carbonate existe sous deux formes: le carbonate de type A, dans lequel le groupement  $\text{CO}_3$  remplace les groupes OH, et le type B où les groupements  $\text{CO}_3$  substituent les fonctions  $\text{PO}_4$ . Le carbonate de type B est majoritaire dans les apatites biologiques (LeGeros, 1991).

En excluant les bandes d'absorption du carbonate, la figure IV-2 démontre une grande ressemblance entre le spectre de l'échantillon traité et celui du HAP. Le HAP de NIST est la référence de choix pour l'hydroxyapatite de calcium (synthétique) et la dentine déprotéinée présente donc toutes les bandes prévues du HAP. La zone d'élongation du groupement OH est aperçue comme étant un épaulement à  $3572 \text{ cm}^{-1}$  et le pic à  $630 \text{ cm}^{-1}$  appartient au mode de libration du OH. Dans la dentine traitée à l'hypochlorite, ces vibrations sont situées à l'intérieur des canaux du réseau cristallin apatitique, au lieu de la surface. Chez la dentine, ces pics d'absorption ont une intensité relative inférieure à celle du matériau de référence. La réduction et le déplacement apparent de  $15 \text{ cm}^{-1}$  du pic d'absorption à  $\sim 1655 \text{ cm}^{-1}$  de la dentine non traitée vers  $\sim 1640 \text{ cm}^{-1}$  chez la dentine déprotéinée pendant des longues durées résulte de la décroissance de la bande Amide I du collagène. Cette réduction révèle le mode de cisaillement ("scissoring",  $\sim 1640 \text{ cm}^{-1}$ ) de l'eau. Ce pic ainsi que la large bande d'absorption centrée à  $\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$  sont typiques d'une mince couche d'eau liée à la surface par des ponts hydrogène.

La réduction de l'intensité relative du signal de la dentine par rapport au matériau de référence n'est que partiellement due à la substitution par les carbonates. Le fait que les bandes d'intensité inférieure (élongation à  $\sim 3570 \text{ cm}^{-1}$  et libration à  $630 \text{ cm}^{-1}$ ) combiné à la quantité importante d'eau (absorption à  $\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$  et le cisaillement à  $1640$

$\text{cm}^{-1}$ ) démontrent que la dentine traitée à l'hypochlorite ressemble au HAP synthétisé à basse température. Cette dentine est donc typique des apatites ayant une surface très élevée (Blumenthal et Posner, 1973).

Chez de tels matériaux à surface élevée, les groupements OH de la surface interagissent avec l'eau atmosphérique en formant une mince couche d'eau à la surface du substrat qui peut obscurcir le pic à  $3572 \text{ cm}^{-1}$ . Cette couche d'eau, qui a un rapport surface/volume très important, est très mince ce qui est démontré par le pic à  $3700 \text{ cm}^{-1}$ . Ce pic est donc attribué aux groupes OH appartenant à la surface de l'eau (Bensebaa et Ellis, 1995). Ce pic indique une vibration OH qui n'existe pas normalement auprès du HAP qui a une bande d'absorption (OH) à  $3572 \text{ cm}^{-1}$ . Cette bande ne peut aussi résulter d'un déplacement causé par la substitution d'halogénures. En effet, cette substitution par un halogénure (par exemple F ou Cl) cause une réduction de la fréquence de vibration de OH (Engel et Klee, 1972). Ishikawa et collaborateurs (1989) ont spéculé que ce pic d'absorption appartient à une vibration d'élongation fondamentale de l'eau adsorbée. Les résultats de ce travail semblent bien s'accorder avec cette explication.

La différence d'intensité de la bande située autour de  $1050 \text{ cm}^{-1}$  entre la dentine non traitée et la dentine mordancée et déprotéinée (figure IV-13) provient d'un signal accru originant du fluoroapatite (FA) et fluorohydroxyapatite (FHA) (LeGeros, 1991). Le FA et FHA sont plus résistants à l'attaque des acides. Lors du mordantage, ces deux produits sont enlevés en quantités moindres par rapport au HAP; ils auront donc une absorption relative supérieure aux autres bandes provenant du HAP.

Le traitement à l'hypochlorite démontre un processus plus lent que le mordantage de la dentine. Une exposition de 15 minutes d'un échantillon (sans prétraitement) de dentine à l'hypochlorite ne présente aucun changement spectral observable. Tandis que les spectres PA-FTIR de la dentine déprotéinée pendant plusieurs jours indiquent encore la présence importante de la phase organique (figure IV-2). Donc, la déprotéination de

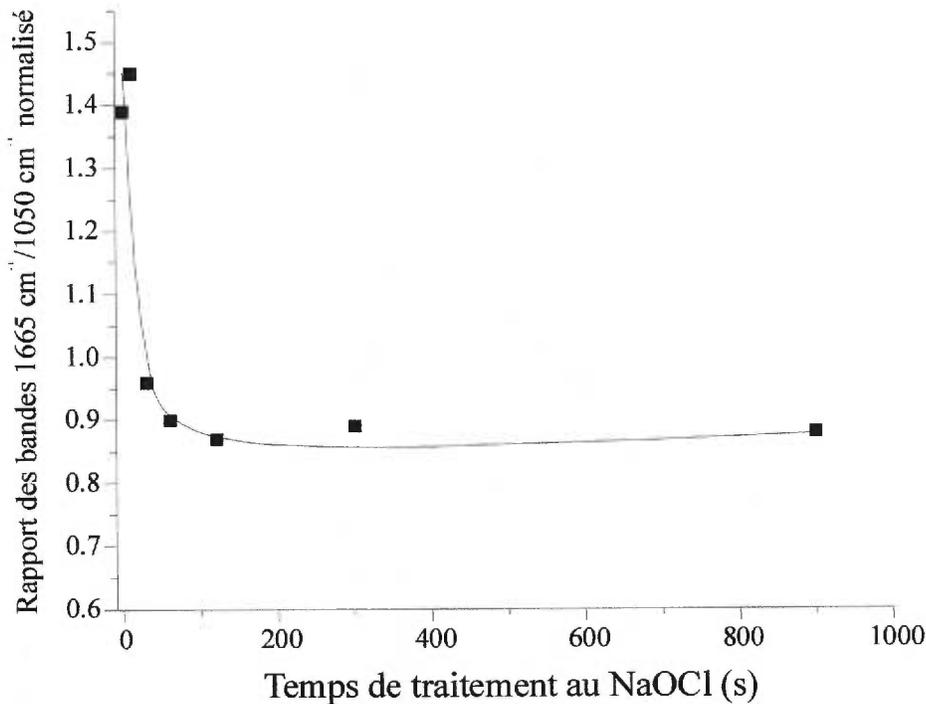
la dentine par l'hypochlorite de sodium implique un mécanisme très différent de la déminéralisation.

Le mordantage de la dentine semble se propager uniformément sous la surface et présente des spectres d'échantillons très mordancés qui sont presque totalement dépourvus de phase minérale (figures I-8, III-7 et III-9). Contrairement au mordantage, la déprotéination de la dentine à l'hypochlorite n'est pas uniforme. Les spectres d'échantillons traités pendant de longues périodes (figure IV-2) contiennent encore une concentration non négligeable de la phase organique à la surface et ce, même après que l'hypochlorite ait pénétré profondément à l'intérieur de l'échantillon (démonstré par le fait que l'échantillon devient très cassant). Par contre, le collagène qui est exposé à la surface par la déminéralisation est rapidement attaqué par l'hypochlorite de sodium. Les résultats suggèrent que les fibrilles de collagène de la dentine qui sont encapsulées par le réseau cristallin apatitique ne sont pas facilement accessibles par l'hypochlorite. Donc, ce collagène encapsulé sera beaucoup moins vulnérable à l'effet destructif de l'hypochlorite de sodium tandis que le collagène exposé est très rapidement enlevé. Ceci peut être vérifié en examinant les spectres des figures IV-3 et IV-4 qui démontrent une chute très rapide des intensités appartenant à la phase organique. Lorsque tout le collagène exposé est enlevé, le processus de dissolution du collagène redevient lent de manière semblable à celle observée pour le collagène encapsulé qui ne présente aucun changement sur une période de plusieurs minutes (figure IV-5). Ce phénomène explique l'arrêt apparent et soudain de la déprotéination à partir de deux minutes. Durant le traitement de une à deux minutes, la surface de l'échantillon a été épuisée en collagène exposé, et l'hypochlorite débute son attaque plus lente sur le collagène encapsulé.

#### **IV.4. Conclusions**

Ce travail a démontré que le traitement à l'hypochlorite de sodium afin d'enlever la phase organique implique un mécanisme beaucoup plus lent que le mordantage lorsque le collagène de la dentine n'est pas exposé préalablement. Ce traitement,

contrairement au mordantage à l'acide, n'est pas uniforme et ne forme pas un front de dissolution.



**Figure IV-5:** Variation du rapport des intensités des bandes du collagène et HAP de la dentine mordancée traitée à l'hypochlorite de sodium.

Finalement, le traitement séquentiel par l'acide et l'hypochlorite est une méthode efficace pour enlever la couche de débris de fraisage et restaurer la surface de la dentine. Selon les résultats présentés dans ce chapitre, il est donc possible de créer des surfaces dégagées de ces débris sans avoir recours à des outils mécaniques tout en évitant de trop déminéraliser la surface. En effet, les spectres présentés dans ce travail indiquent que la surface de la dentine suivant un traitement séquentiel d'acide et d'hypochlorite de deux minutes chacun, est chimiquement semblable à la dentine non traitée et à la dentine polie. Les traitements à l'acide, l'hypochlorite de sodium ou une combinaison des deux permettent la création de surface sur mesure permettant une flexibilité accrue pour la

formation de liens chimiques auprès de générations futures de systèmes adhésifs dentaires.

**Références:**

Bensebaa, F; Ellis, TH; 1995; *Prog Surf Sci*; **50**; 173.

Blumenthal, NC; Posner, AS; 1973; *Calc Tiss Res*; **13**; 235.

Calas, P; Rochd, T; Michel, G; 1994; *J Endodon*, **20**, 71.

Davies, JMS; Horwitz, DA; Davies, KJA; 1993; *Free Rad Biol Med*; **15**; 637.

Engel, G; Klee, WE; 1972; *J Solid State Chem*; **5**, 28.

Gwinnett, AJ; 1994; *Am J Dent*; **7**; 243.

Haikel, Y; Gorce, F; Allemann, C; Voegel, JC; 1994; *Int Endodon J*, **27**, 16.

Ishikawa, T; Wakamura, M; Kondo, S; 1989; *Langmuir*; **5**; 140.

LeGeros, RZ; 1991; *Calcium phosphate in oral biology and medicine*, Karger, Basel.

McClelland, JF; Jones, RW; Luo, S; Seaverson, LM; 1992; "A practical guide to FTIR photoacoustic spectroscopy"; tiré de "Proper sample handling with today's IR instruments"; P. Coleman, éd. CRC Press.

Nakabayashi, N; 1982; *J Jpn Dent Mater* **1**; 78.

Nakabayashi, N; 1985; *Int Dent J*; **35**; 145.

Nakamura, H; Asai, K; Fujita, H; Nakazato, H; Nishimura, Y; Furuse, Y; Sahashi, E; 1985; *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; **60**; 322.

Pereira, WE; Hoyano, Y; Summons, RE; Bacon, VA; Duffield, AM; 1973; *Biochim Biophys Acta*; **313**; 170.

Prütz, WA; 1996; *Arch Biochem Biophys*; **1**; 110.

Rehman, I; Bonfield, W; 1997; *J Mater Sci Mater Med*; **8**; 1.

Sakae, T; Mishima, H; Kozawa, Y; 1988; *J Dent Res*; **67**; 1229.

Schiller, J; Arnhold, J; Arnold, K; 1995; *Eur J Biochem*; **233**; 672.

Stoward, PJ; 1975; *Histochemistry*; **45**; 213.

Wakabayashi, Y; Kondou, Y; Suzuki, K; Yatani, H; Yamashita, A; 1994; *Int J Prosthodont*, **7**, 302.

Zach, A; Kaufman, AY; 1983; *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, **55**, 524.

## **Chapitre V**

Traitement de la dentine et ses composantes par des solutions de PENTA ou Di-PENTA étudiées par PA-FTIR

Parmi les nombreux produits qui composent la multitude de systèmes adhésifs dentinaires commerciaux, les systèmes de la compagnie Dentsply sont uniques en leur genre. Ces systèmes se différencient des autres puisque, contrairement aux autres systèmes adhésifs, ils ne requièrent aucune modification ou prétraitement de la surface de la dentine avant son application. C'est-à-dire ils peuvent être appliqués sans avoir à modifier ou enlever la couche débris de fraisage (Barkmeier *et al.*, 1990; Stangel *et al.*, 1994). Quoiqu'ils n'enlèvent pas la couche de débris, les adhésifs dentinaires de Dentsply demeurent parmi les plus performants ayant des forces de rétention aux alentours de 18 à 24 MPa (Barkmeier *et al.*, 1990; Stangel *et al.*, 1994; Xu, communication personnelle).

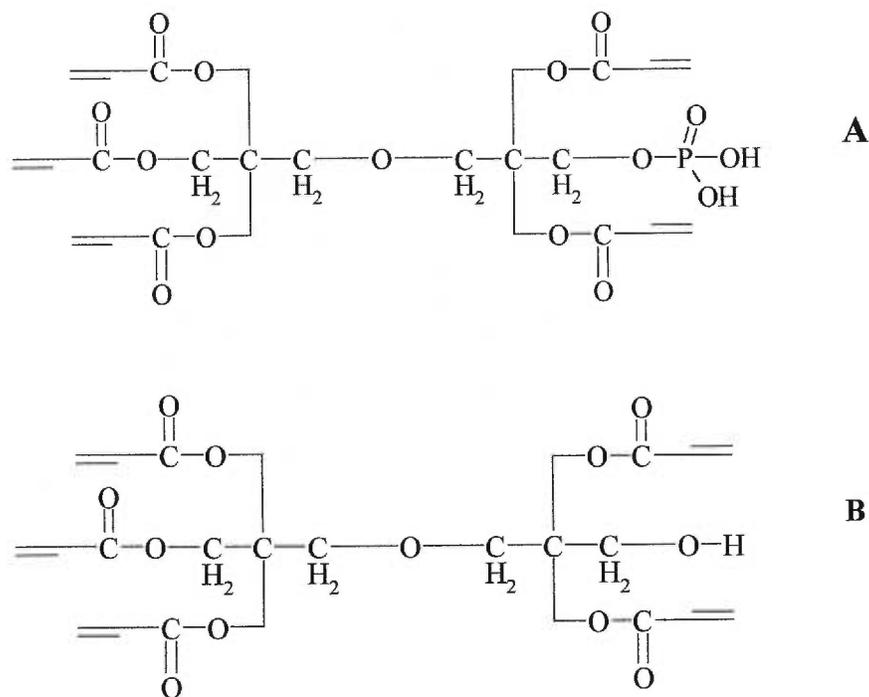
Ces adhésifs contiennent l'agent d'adhésion dipentaerythritol pentaacrylate ester phosphorique (PENTA\*, figure IV-1A). Le PENTA ainsi que l'ensemble de ces systèmes adhésifs sont brevetés par la compagnie Dentsply (Huang et Jeffries, 1989; Huang et Blackwell, 1990). Le PENTA est le seul ingrédient actif qui n'est pas commun aux autres systèmes adhésifs disponibles commercialement.

Le PENTA incorporé à ces systèmes a été caractérisé par des méthodes microscopiques (Barkmeier *et al.*, 1990; Stangel *et al.*, 1994). Ces études par microscopie électronique à balayage (SEM) et par microscopie à force atomique (AFM) ont démontré que le PENTA se dépose à la surface de la couche de débris de fraisage. Le PENTA est aussi partiellement absorbé par la couche de débris et la dentine située sous cette couche (Stangel, communication personnelle). Ces études se sont concentrées sur la caractérisation du système adhésif dans son entier. Presqu'aucune étude n'a été effectuée sur les effets du PENTA seul sur la dentine ou sur la couche de débris. De plus, aucun mécanisme d'interaction physique ou chimique n'a été démontré pour le PENTA.

---

\* Le nom IUPAC du PENTA est: 2-propenoic acid 2-[[2, 2-bis [[(1-oxo-2-propenyl) oxy] methyl]-3-(phosphonoxy) propoxy] methyl]-2-[[[(1-oxo-2-propenyl) oxy] methyl]-1, 3-propanediyl ester.

Récemment Xu (1996) a complété une étude spectroscopique sur le PENTA et son analogue non phosphorylé, le dipentaerythritol hydroxy pentaacrylate (Di-PENTA\*, figure V-1B). En plus de l'identification des pics d'absorption infrarouge et Raman du PENTA et du Di-PENTA, cette étude a démontré qu'une solution de 6% (p/p) PENTA dans l'acétone a une affinité pour la phase minérale de la dentine.



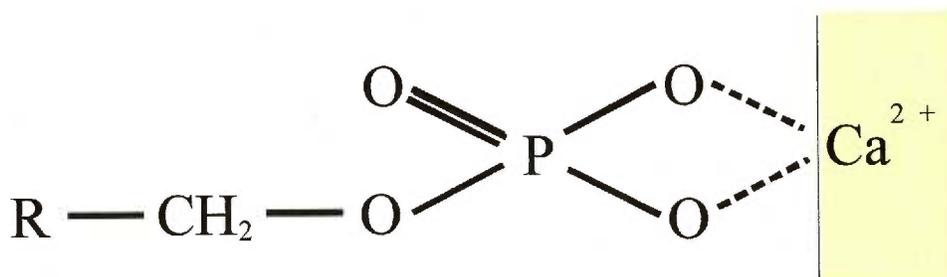
**Figure V-1:** A) La molécule de PENTA et B) la molécule de Di-PENTA.

Le PENTA est un monomère très visqueux et incolore qui est insoluble dans l'eau et soluble à l'acétone et les alcools organiques de faible masse (i.e. méthanol et éthanol). Le Di-PENTA a des caractéristiques semblables au PENTA mais est moins visqueux et légèrement plus soluble dans les mêmes solvants. Xu (1996) a aussi démontré que le PENTA reçu de Dentsply est contaminé de plusieurs produits secondaires. Ces produits gardent le squelette du PENTA mais contiennent plusieurs autres groupements

\* Le nom IUPAC du Di-PENTA est: 2-propenoic acid 2-[[[3-hydroxy-2, 2-bis [[[(1-oxo-2-propenyl) oxy] methyl] propoxy] methyl]-2-[[[(1-oxo-2-propenyl) oxy] methyl]-1, 3-propanediyl ester.

phosphate. La présence de ces produits secondaires a un effet inconnu sur les propriétés des solutions de PENTA.

Ce chapitre se consacrera à la caractérisation du PENTA et Di-PENTA par spectroscopie FTIR photoacoustique. Le PENTA est généralement accepté comme étant un agent permettant l'adhésion à la phase minérale de la dentine. En effet, le groupement phosphate est prétendu être la fonction qui permet des liens aussi forts à la dentine (figure V-2) (Fava *et al.*,1990). Les expériences de ce chapitre se concentrent à comparer la déposition du PENTA avec son analogue non phosphorylé que se soit sur la dentine humaine ou ses composantes afin d'y déceler la présence d'interaction. Il présentera des spectres de l'interaction entre le PENTA ou le Di-PENTA et la dentine humaine, le collagène et le HAP.



**Figure V-2:** Liaison théorique entre les groupements phosphate et la dentine.

(Fava *et al.*,1990)

Il sera aussi démontré que l'application de ces produits peut fortement dépendre du solvant utilisé. En effet, puisque les deux produits sont plus solubles dans l'acétone, ce solvant sera plus efficace pour les solubiliser lors de rinçages. Par contre, l'acétone présente un problème important lors de l'étude de la dentine et du collagène puisqu'elle est emprisonnée par ces substrats et qu'elle présente des interférences spectrales importantes.

### V.1. Préparation des échantillons

Les spectres PA-FTIR du PENTA et du Di-PENTA ont été obtenus en déposant une goutte du produit dans le porte échantillon de la cellule PA. Les spectres ont été enregistrés en utilisant le même matériel et mode opératoire présenté à la section II-2 du chapitre précédent.

Des solutions 6% (p/p) ou 6% (v/v) de PENTA (Dentsply) ou de Di-PENTA (Dentsply) ont été préparées en dissolvant une masse ou un volume connu du produit dans un volume approprié d'acétone ou d'éthanol. Le PENTA et le Di-PENTA ont été utilisés tels que reçus. Il faut noter qu'une analyse par résonance magnétique nucléaire (RMN) a démontré que le PENTA est loin d'être pur. En effet, il a été démontré que le PENTA de Dentsply contient des produits secondaires possédant plusieurs groupements phosphate (Xu, communication personnelle). Les échantillons de dentine utilisés dans cette expérience ont été préparés en suivant le protocole présenté à la section III.2. Le collagène utilisé (Sigma Chemicals) a été rincé à l'éthanol dans un bain d'ultrasons pendant 5 à 10 minutes afin d'enlever l'impureté détectée spectroscopiquement. L'hydroxyapatite de calcium (NIST ou Calcitek) a été utilisée telle quelle. Les différences entre ces deux apatites seront discutées plus tard dans ce chapitre.

Les échantillons ayant subi un prétraitement à l'acide ou l'hypochlorite ont été exposés à une solution d'acide maléique à un pH de 1.0 ou à la solution d'hypochlorite de sodium commerciale (12% p/v) décrites aux sections III.2 et IV.1. Les échantillons traités avec les solutions de PENTA ou Di-PENTA ont été exposés à la solution pendant des durées arbitraires (généralement 5 minutes, 30 minutes ou 2 heures) et séchés sous vide avant d'enregistrer leur spectre PA-FTIR. Sans indication contraire, le rinçage de chaque échantillon a été fait à l'aide du même solvant de la solution de traitement. Dans tous les cas, un spectre PA-FTIR de l'échantillon a été enregistré avant tout traitement pour fin de comparaison et pour pouvoir déceler la présence du dépôt de PENTA ou Di-PENTA à la surface.

## V.2. Caractérisation du PENTA et Di-PENTA

Les spectres PA-FTIR du PENTA et du Di-PENTA sont présentés à la figure V-3. Ces spectres concordent bien avec les absorptions attendues pour les acrylates ainsi que les spectres enregistrés par Xu (1996). Les principaux pics d'absorption de ces deux produits sont énumérés au tableau V-1 (Colthup *et al.* 1990; Xu, 1996).

En comparant les spectres de PENTA et Di-PENTA, une autre absorption due au groupement phosphate peut être observée aux environs de  $1020\text{ cm}^{-1}$  (Thomas et Chittenden, 1963). Le spectre du PENTA possède une dépression moins importante dans cette région comparé au spectre du Di-PENTA, ceci concorde bien avec l'absorption du groupement P-OH. De plus, les bandes d'absorption observées entre  $1500$  et  $3000\text{ cm}^{-1}$  chez le spectre de PENTA sont assignées à des absorptions de type A, B et C chez les composés contenant du phosphore. Ces bandes sont bien connues chez ces composés quoique leur origine soit encore mal comprise, elles sont généralement attribuées à des interactions intra et/ou intermoléculaires entre les groupements P-O-H (Detoni et Hadži, 1964; Thomas et Chittenden, 1964; Hadži, 1965).

De plus, plusieurs pics d'absorption chez les deux produits possèdent des épaulements (notamment l'élongation C=C au tableau V-1). Ces épaulement proviennent de l'existence de deux conformères (Xu, 1996). Le groupement acrylate cause un encombrement stérique important autour de la liaison C-C située entre ce groupe et le groupement carbonyle (figure V-4). Cet encombrement rend la rotation du groupe acrylate autour de l'axe C-C très difficile et donne donc naissance à une seconde série d'absorptions selon l'équilibre du conformère.

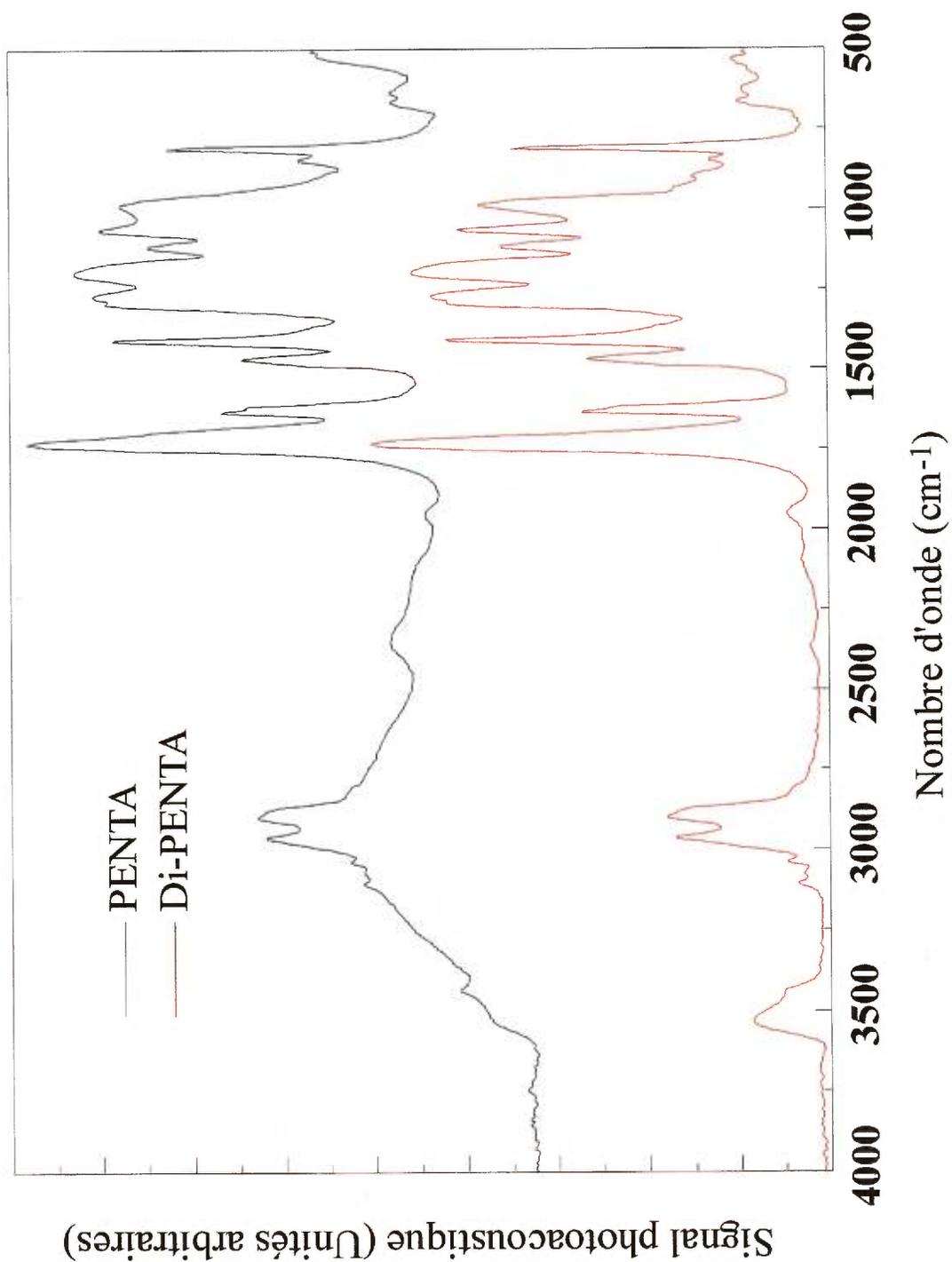


Figure V-3: Spectres PA-FTIR du PENTA et du Di-PENTA.

PENTA $\bar{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> )	Di-PENTA $\bar{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> )	Assignment
-	3532	Élongation ("stretching") OH
2963	2963	Élongation ("stretching") CH <sub>2</sub> antisymétrique
2900	2898	Élongation ("stretching") CH <sub>2</sub> symétrique
2357	-	Élongation ("stretching") PO-H
1731	1732	Élongation ("stretching") C=O
1635 et 1620	1635 et 1621	Élongation ("stretching") C=C
1469	1469	Cisaillement ("bending") CH <sub>2</sub>
1410	1410	Déformation (in plane) =CH <sub>2</sub>
1200	1197	Élongation ("stretching") C-O
1064	1065	Rotation plane ("rocking") =CH <sub>2</sub>
987	988	Balancement ("wagging") =CH, trans
810	810	Torsion ("twisting") =CH <sub>2</sub>

**Tableau V-1:** Attribution des principaux pics d'absorption du PENTA et Di-PENTA  
 (Xu, 1996).



**Figure V-4:** Principaux conformères des groupements acrylate dans le PENTA et  
 Di-PENTA.

### V.3. Résultats

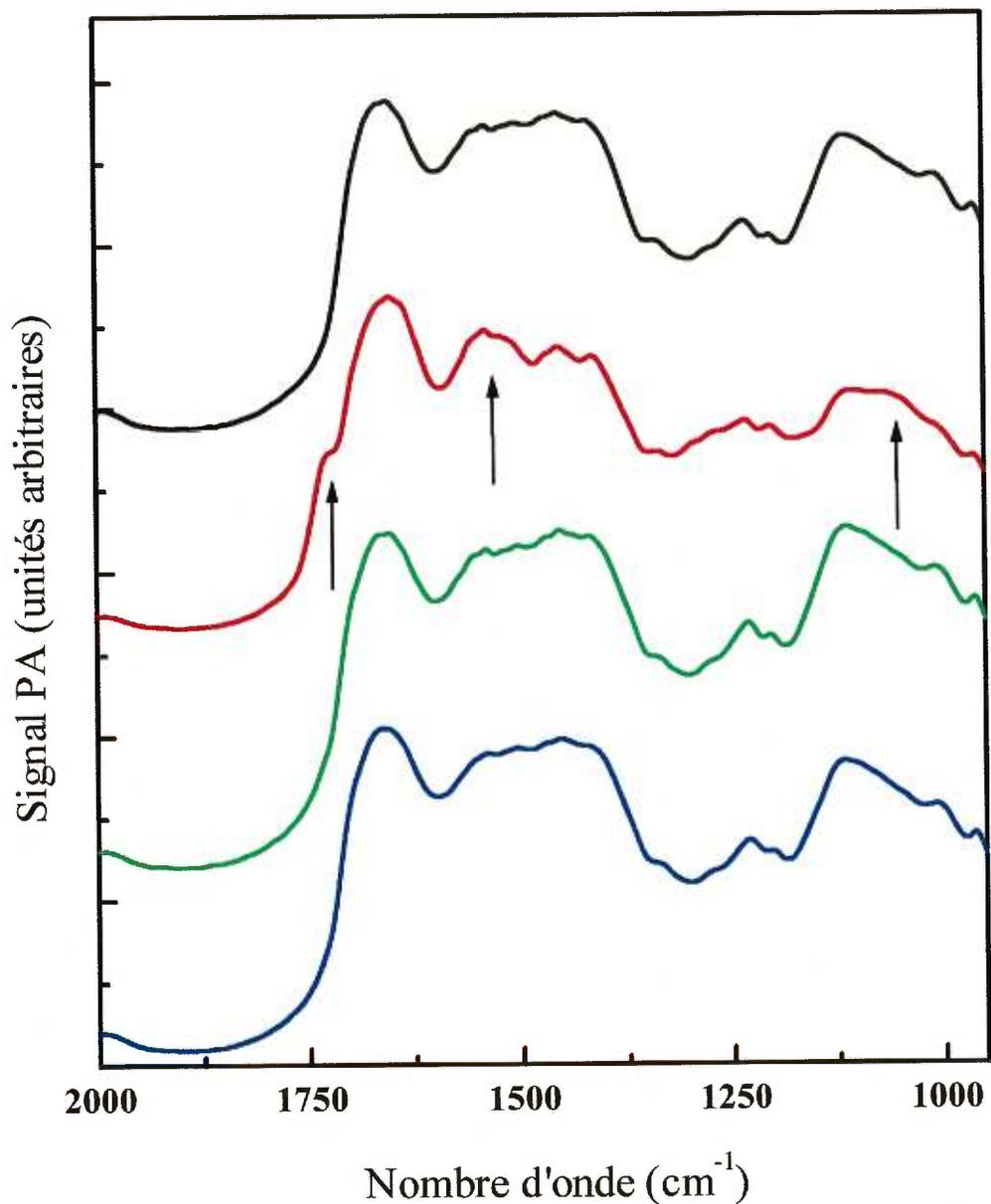
Les soustractions spectrales effectuées dans ce chapitre impliquent une combinaison de la normalisation des spectres à une bande commune ( $1665\text{ cm}^{-1}$ , pour le collagène et la dentine) ou jusqu'à la superposition de la la ligne de fond dans la région entre  $2500$  et  $2250\text{ cm}^{-1}$  (pour l'hydroxyapatite de calcium) et d'une simple soustraction numérique. Aussi, plusieurs figures (V-6, V-12 et V-14) contiennent des spectres dont l'échelle a été modifiée afin de faciliter la comparaison.

#### V.3.a. Traitement de la dentine

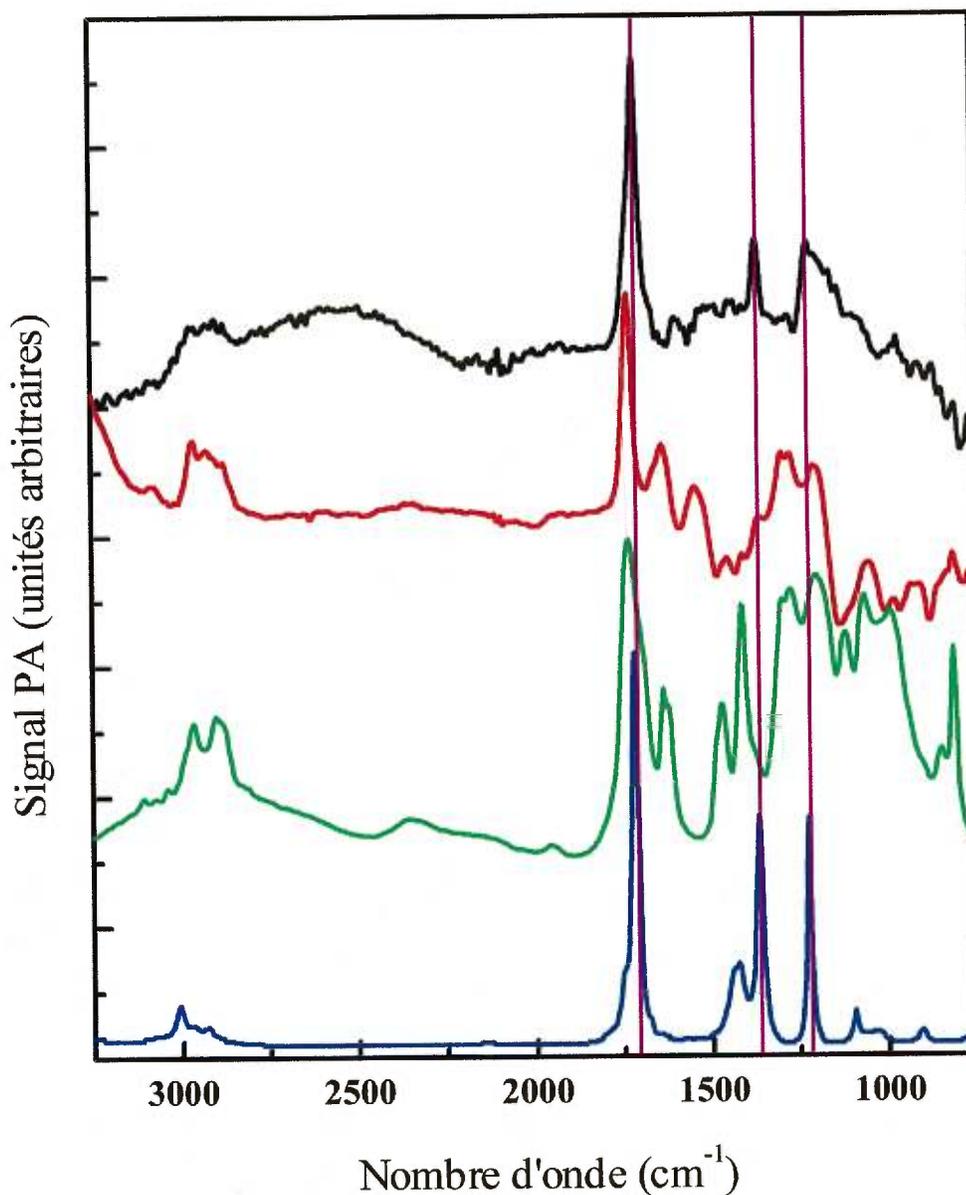
La figure V-5 présente les spectres de la dentine traitée (2 heures) avec une solution de PENTA 6% (v/v) dans l'acétone entre  $950$  et  $2000\text{ cm}^{-1}$ . L'échantillon a été par la suite rincé avec des fractions de 5 mL d'acétone. Le spectre du dépôt initial démontre la présence du PENTA par la bande d'absorption à  $\sim 1725\text{ cm}^{-1}$ , ainsi que quelques autres entre  $950$  et  $1550\text{ cm}^{-1}$ . Immédiatement après deux rinçages, la présence du PENTA diminue de façon importante. Au sixième lavage, le PENTA n'est plus percevable sans une soustraction spectrale. Une telle soustraction est présentée à la figure V-6.

Dans cette figure V-6, le spectre de dentine résulte de la soustraction du spectre de la dentine rincée six fois à l'acétone moins celui de la dentine non traitée. Les spectres de l'échantillon de la dentine traitée au PENTA sans rinçage (spectre de soustraction), de PENTA et d'acétone sont présentés afin d'identifier le dépôt restant sur la dentine après six rinçages à l'acétone.

Comme le démontrent les autres absorptions de cette soustraction, le pic de carbonyle observé à  $1710\text{ cm}^{-1}$  provient de l'acétone et non du PENTA. Ces pics d'absorption demeurent dans l'échantillon de dentine même après plusieurs jours de séchage sous vide. L'acétone demeure donc emprisonné dans l'échantillon.



**Figure V-5:** Spectres PA-FTIR du traitement de la dentine avec une solution de PENTA 6% (v/v) dans l'acétone. — Dentine non traitée. — Dentine + PENTA. — Dentine + PENTA, rincée 2 x 5mL d'acétone. — Dentine + PENTA, rincée 6 x 5mL d'acétone.



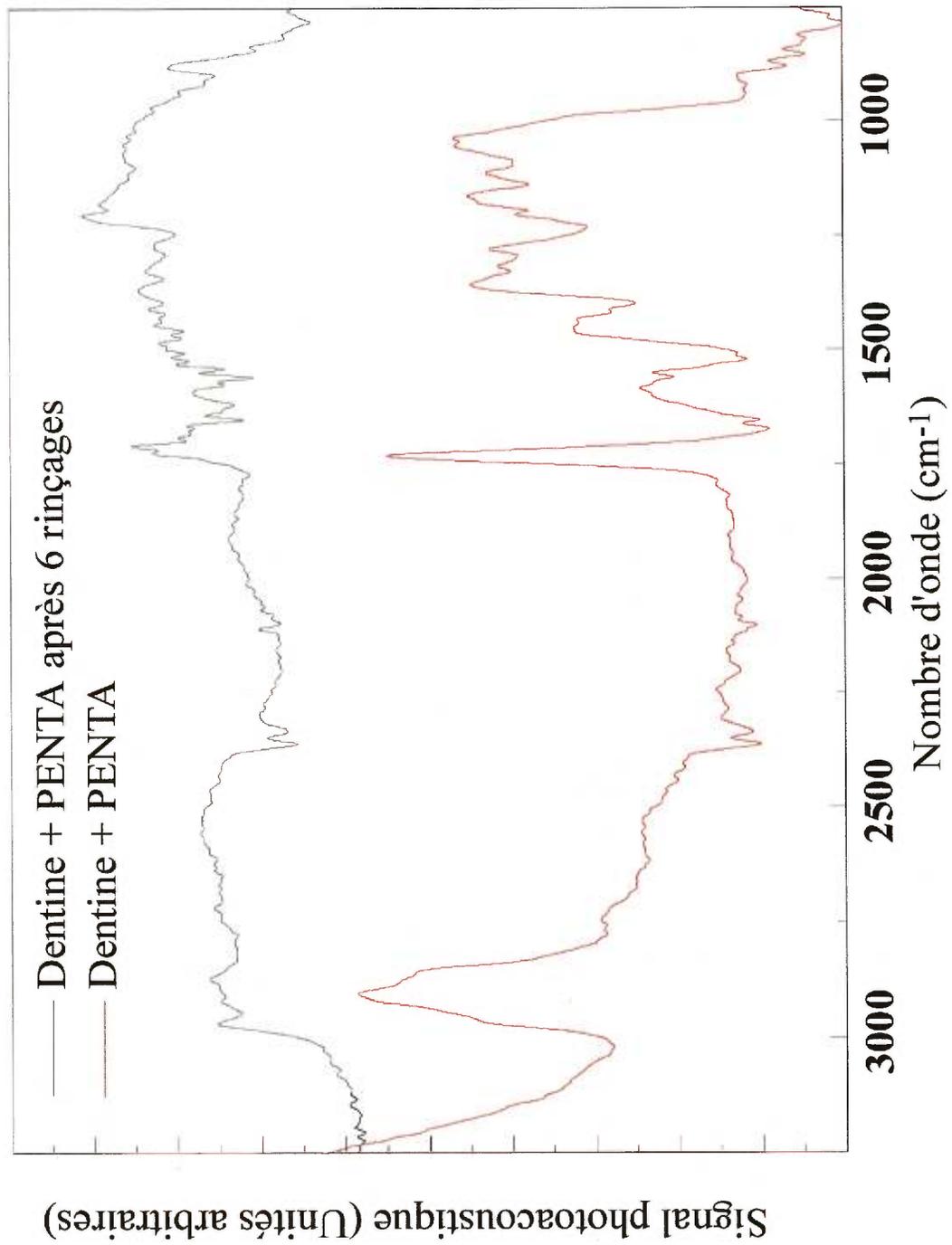
**Figure V-6:** Spectres PA-FTIR des résidus suite à six rinçages à l'acétone. — Spectre résultant de la soustraction spectrale de la dentine traitée de PENTA 6% (v/v) dans l'acétone après 6 rinçages de 5 mL d'acétone chaque moins la dentine non traitée. — Spectre résultant de la soustraction spectrale de la dentine traitée de PENTA 6% (v/v) dans l'acétone moins la dentine non traitée (aucun rinçage). — Spectre du PENTA. — Spectre de l'acétone.

Un traitement semblable à l'aide de solution de PENTA dans l'éthanol (figure V-7) présente des résultats différents. Dans cette expérience, les six rinçages ont été suffisants à enlever presque toute trace de PENTA et de l'éthanol. Puisque l'éthanol ne semble pas contaminer les échantillons, les autres solutions de PENTA utilisées à effectuer les travaux sur la dentine seront préparées dans l'éthanol.

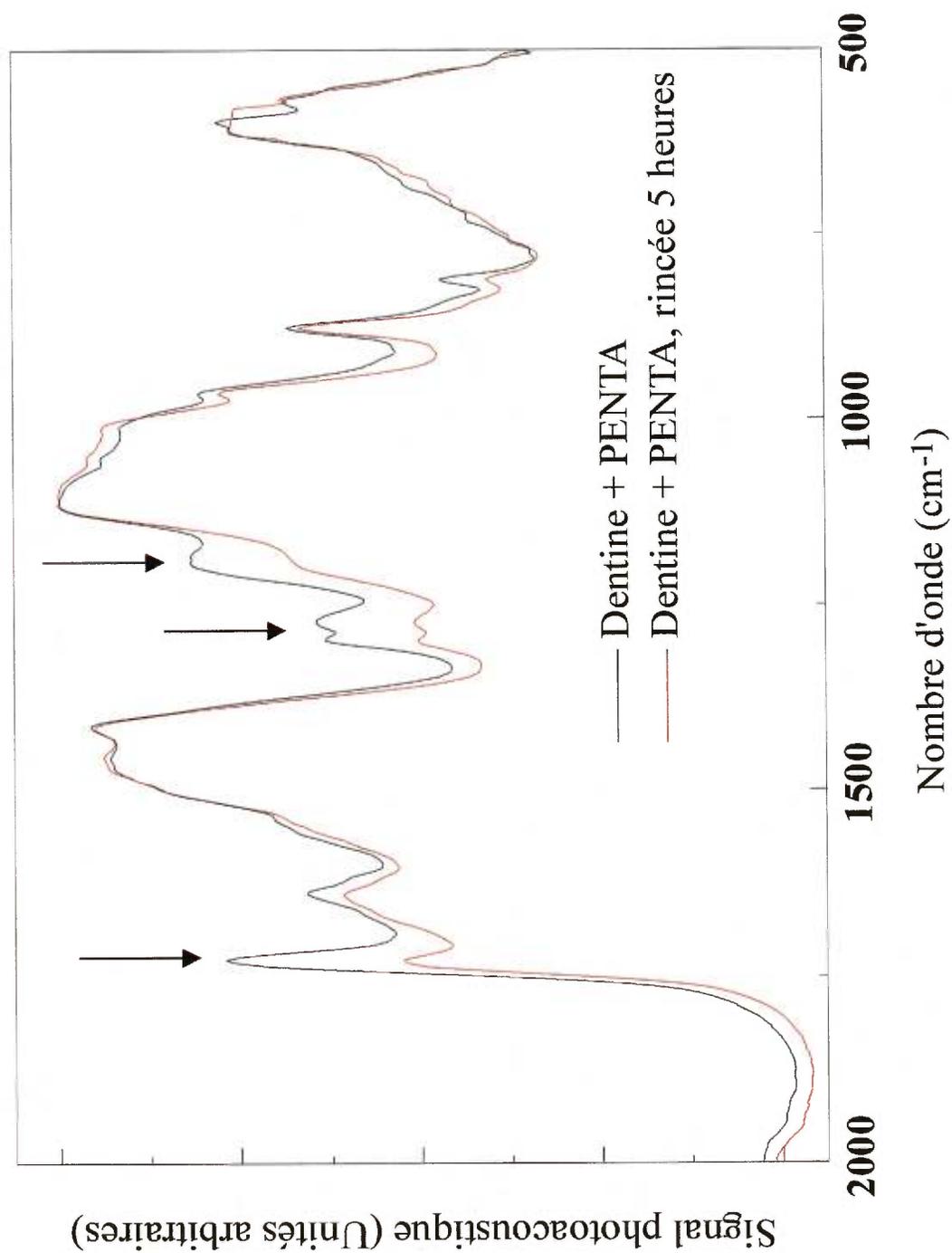
Dans une seconde expérience de ce type, les différences entre le PENTA et Di-PENTA ont été évaluées sur la dentine déprotéinée. Dans un premier cas, des échantillons de dentine déprotéinée à l'hypochlorite de sodium pendant six heures ont été traités pendant cinq minutes à l'aide de solutions 6% (p/p) de PENTA ou Di-PENTA dans l'éthanol. Ces échantillons ont été, par la suite, rincés avec 30 mL d'éthanol dans un bain à ultrasons pendant une heure. Cette dernière étape a été répétée pour une autre heure et finalement 3 heures. Les spectres PA-FTIR obtenus de ces échantillons sont présentés aux figures V-8 et V-9.

Il est clair, à partir des données de ces deux figures, qu'après un long rinçage à l'éthanol, le PENTA a une présence qualitativement plus marquée sur la dentine que le Di-PENTA. Un traitement semblable sur la dentine déprotéinée pendant une heure est présenté aux figures V-10 et V-11. Dans cette seconde série de spectres, le PENTA est encore qualitativement majoritaire quoiqu'en quantité moindre que celle observée chez les échantillons déprotéinés pendant six heures.

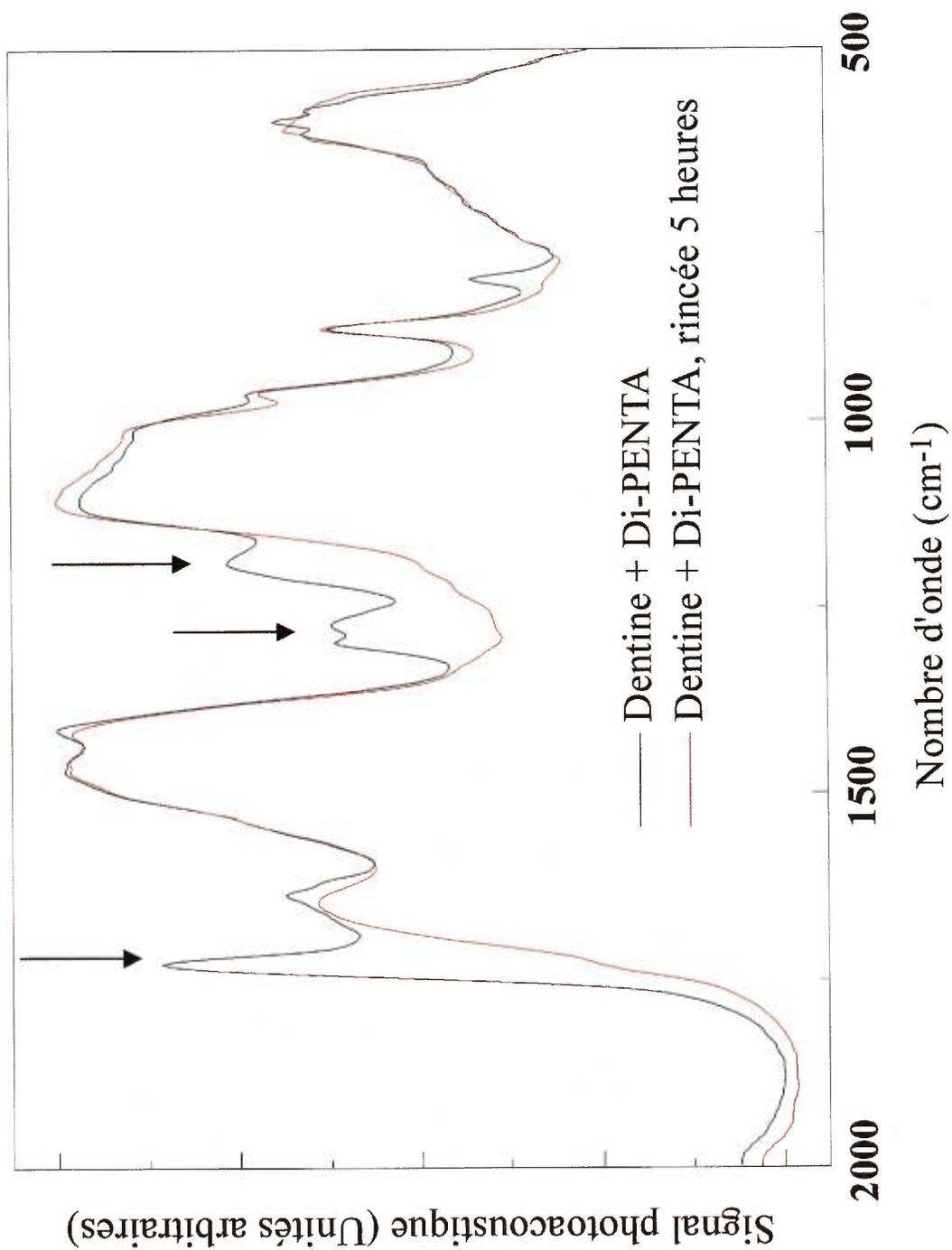
Une autre expérience compare les différences entre la déposition du PENTA (6% v/v dans l'éthanol) sur la dentine mordancée (acide maléique, pH=1.0, 2 minutes) et la dentine mordancée et déprotéinée (acide maléique, pH=1.0, 2 minutes et NaOCl, 2 minutes). Dans les deux cas, lors d'un rinçage prolongé aucune présence importante de PENTA n'a été détectée à la surface du substrat.



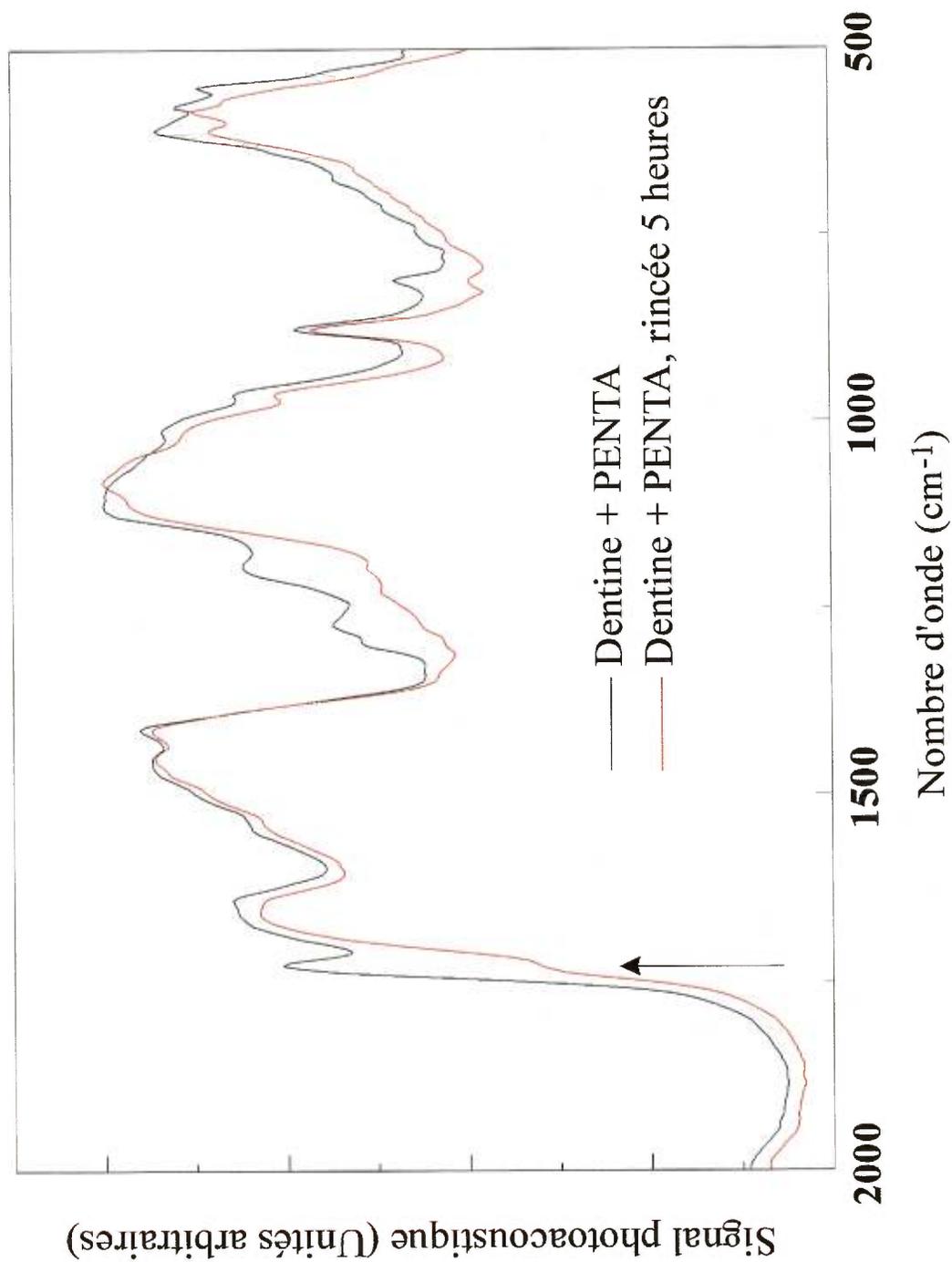
**Figure V-7:** Spectres PA-FTIR de soustraction des résidus de PENTA sur la dentine suite à six rinçages à l'éthanol.



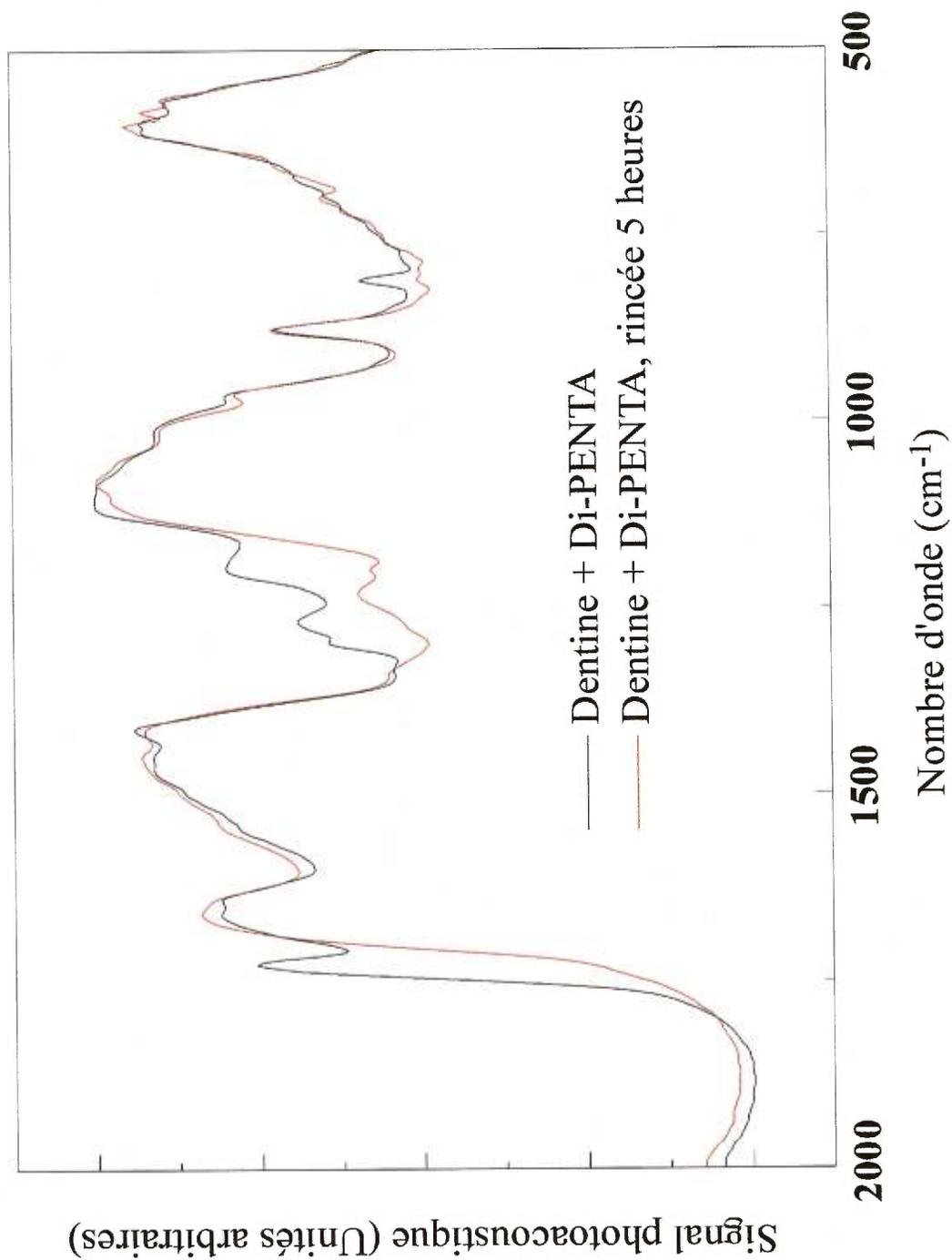
**Figure V-8:** Spectres PA-FTIR de la dentine déprotéinée pendant 6 heures et traitée avec une solution de PENTA 6% (v/v) dans l'éthanol.



**Figure V-9:** Spectres PA-FTIR de la dentine déprotéinée pendant 6 heures et traitée avec une solution de Di-PENTA 6% (v/v) dans l'éthanol.



**Figure V-10:** Spectres PA-FTIR de la dentine déprotéinée pendant 1 heure et traitée avec une solution de PENTA 6% (v/v) dans l'éthanol.



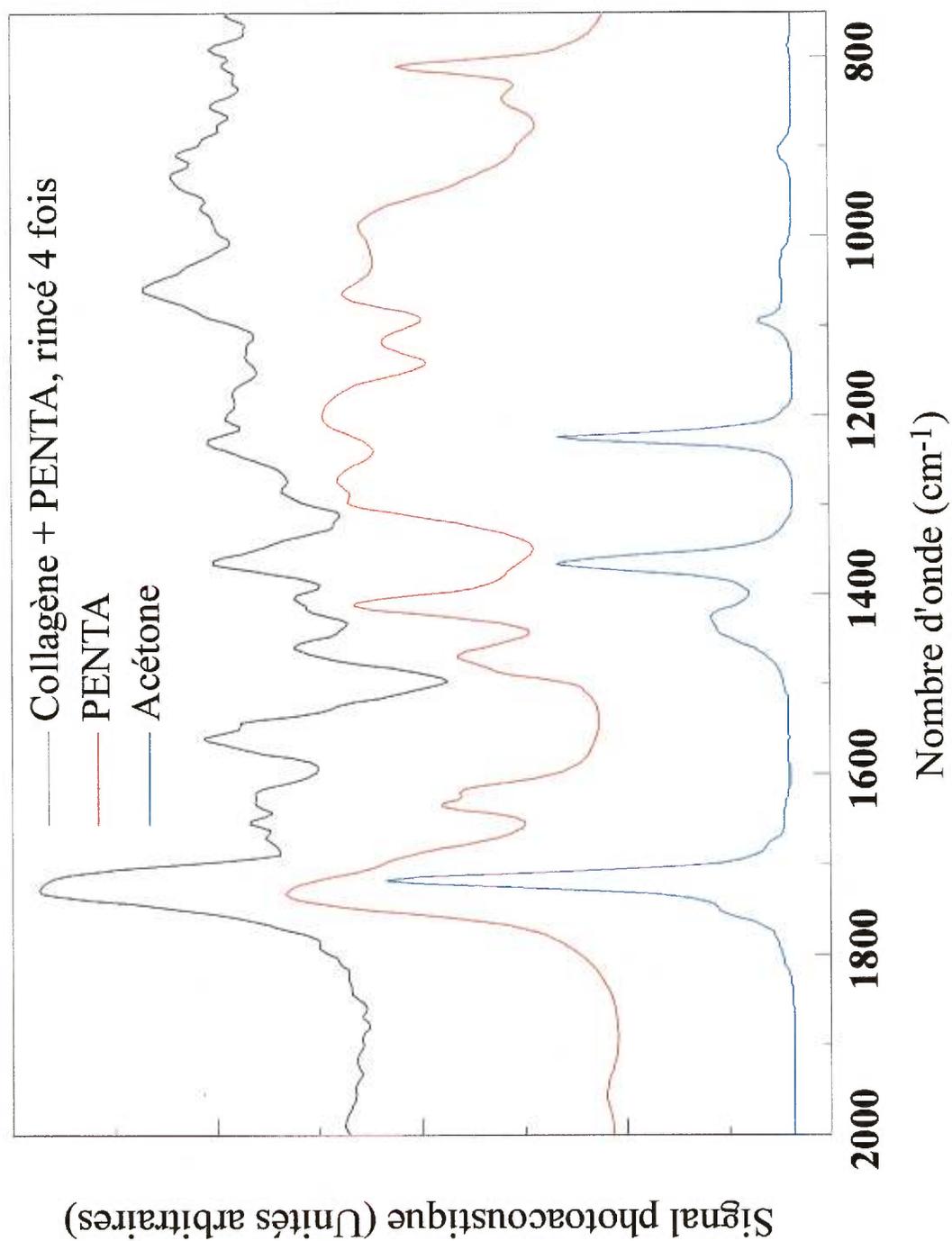
**Figure V-11:** Spectres PA-FTIR de la dentine déprotéinée pendant 1 heure et traitée avec une solution de Di-PENTA 6% (v/v) dans l'éthanol.

### V.3.b. Traitement du collagène

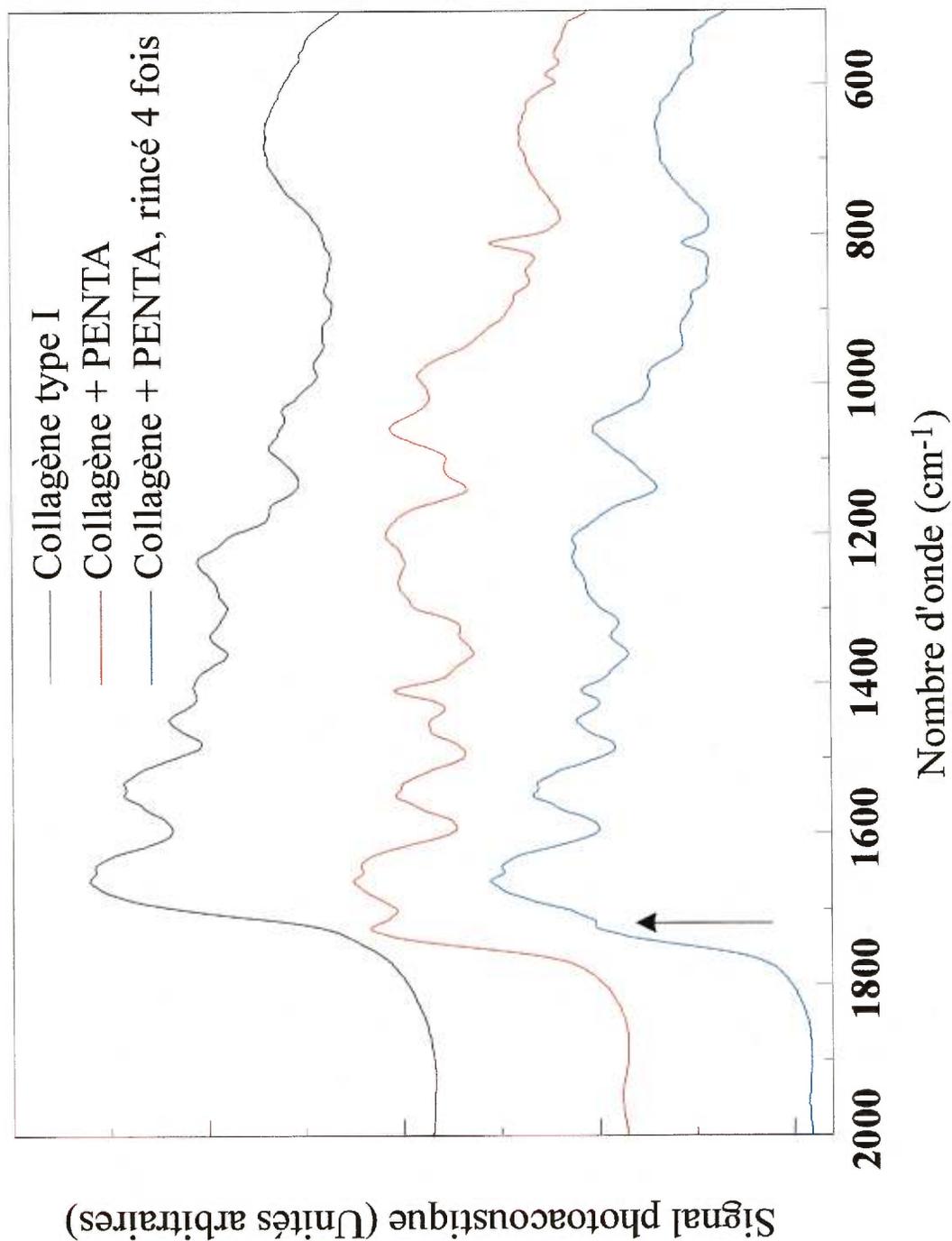
Des expériences impliquant l'action du PENTA avec différents solvants et d'autres comparant le PENTA et le Di-PENTA ont aussi été effectuées sur les composantes de la dentine humaine. La figure V-12 présente les spectres du collagène traité au moyen d'une solution de PENTA 6% (p/p) dans l'acétone et rincé avec quatre fractions (50 mL) de ce même solvant dans un bain à ultrasons. Après ces rinçages, quatre heures dans le bain à ultrasons et au-dessus de 20 heures sous vide, la soustraction spectrale montre encore la présence d'acétone dans l'échantillon. Par contre, des traces de PENTA peuvent encore être décelées par les bandes d'absorption à 1060, 1410 et 1625  $\text{cm}^{-1}$ .

Les figures V-13 et V-14 présentent le même traitement à l'aide d'une solution de PENTA dans l'éthanol. Dans ce cas, le rinçage a également été fait à l'éthanol. Pour cet échantillon, la présence de PENTA est remarquable sur le spectre même avant la soustraction (figure V-13, flèche).

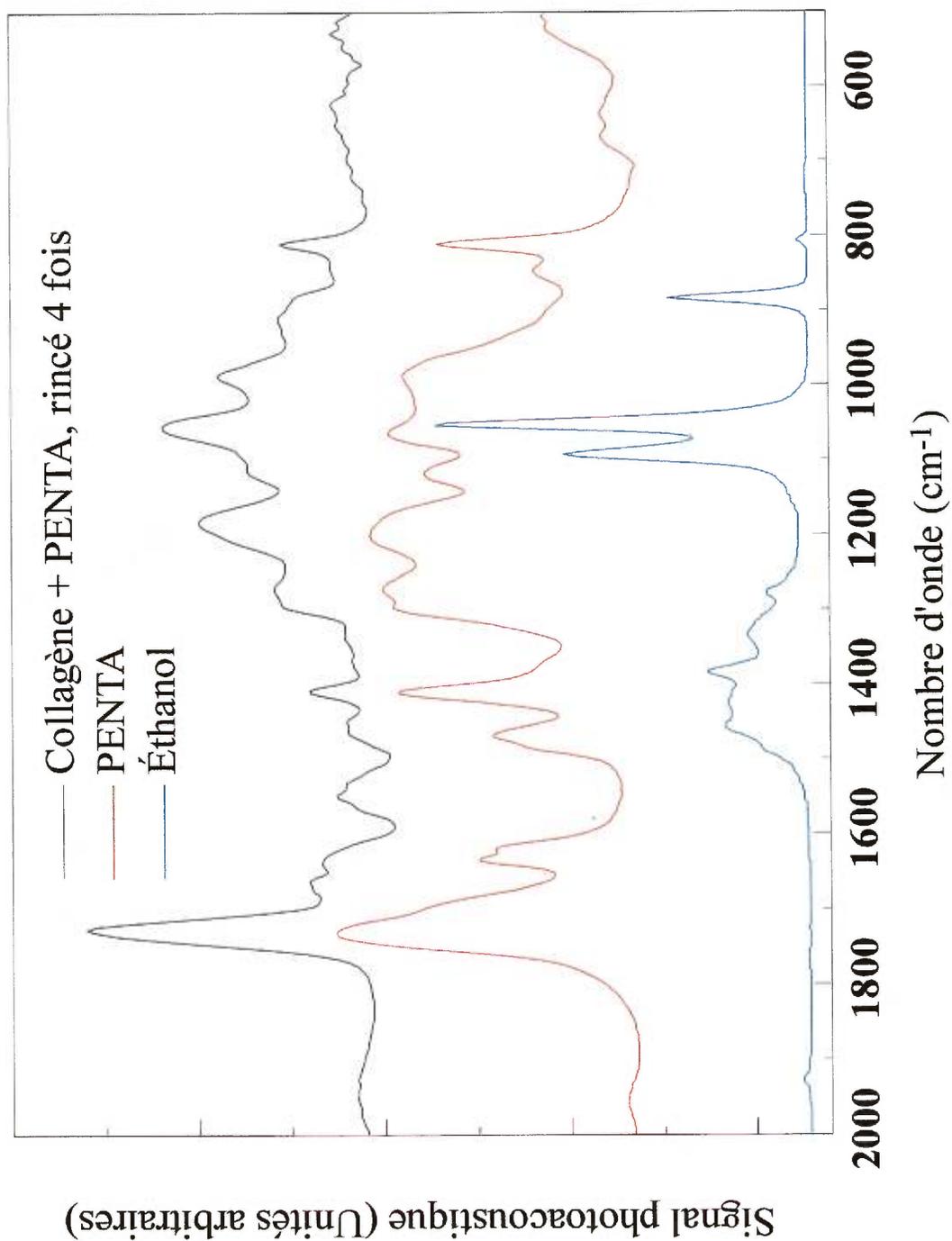
Puisque le collagène est contaminé par l'acétone, l'expérience comparant le Di-PENTA au PENTA sera effectuée dans l'éthanol. Cette dernière expérience sur le collagène implique l'exposition de ce substrat à une solution de PENTA ou Di-PENTA 6% (p/p) dans l'éthanol pendant 30 minutes. Le collagène a été ensuite rincé avec 5 mL d'éthanol dans un bain à ultrasons pendant une heure. Ce rinçage sera répété deux autres fois (pour un total de trois heures) et a été terminé avec deux rinçages à l'éthanol (5 mL chaque) dans le bain à ultrasons pendant trois autres heures. À chacune de ces étapes, le collagène a été centrifugé afin de faciliter la séparation, séché et caractérisé par son spectre PA-FTIR. Les spectres de soustraction du collagène traité au PENTA ou Di-PENTA et rincé six heures moins le collagène non traité sont présentés à la figure V-15.



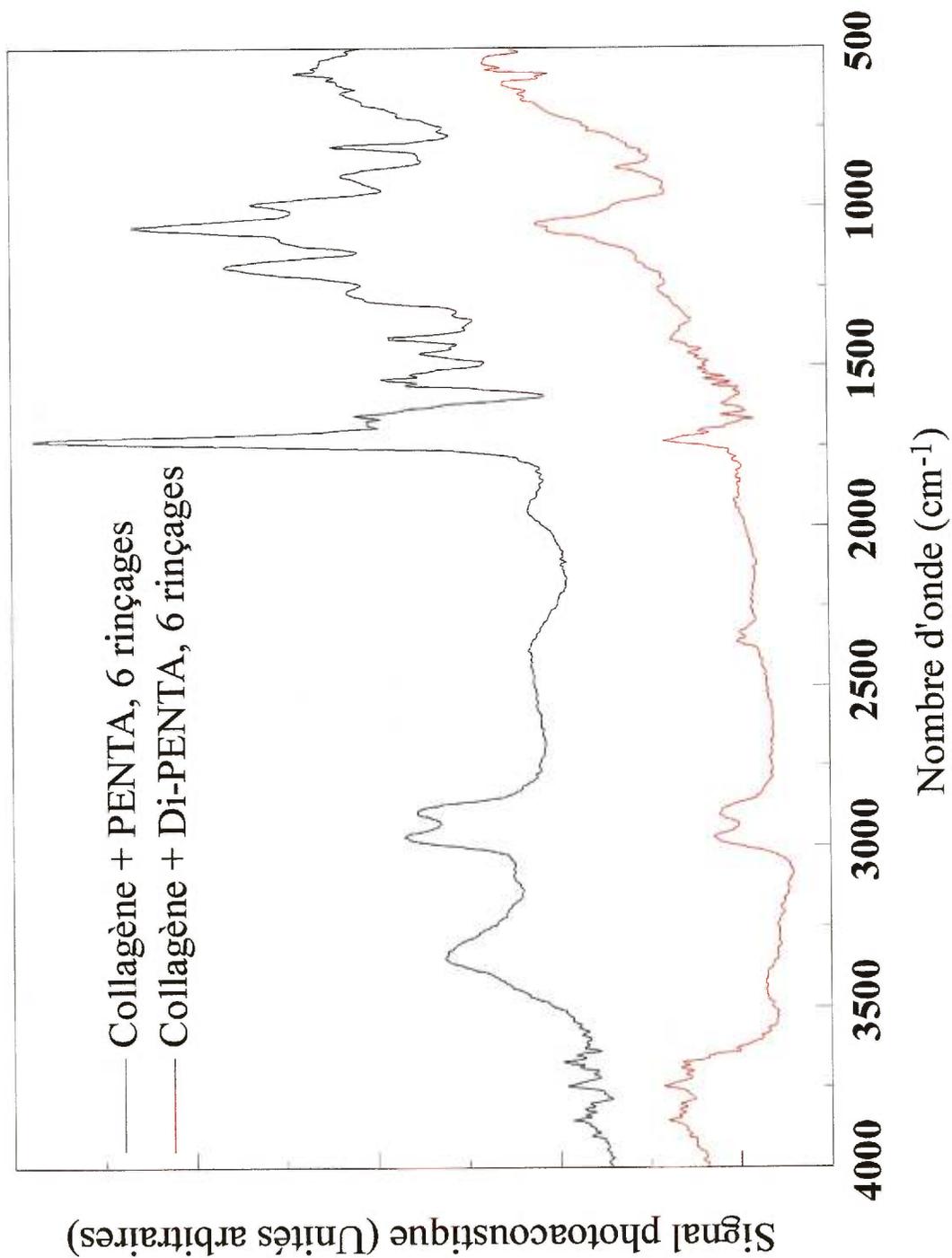
**Figure V-12:** Spectre PA-FTIR de soustraction du collagène traité par une solution de PENTA 6% (p/p) dans l'acétone.



**Figure V-13:** Spectres PA-FTIR du traitement du collagène avec une solution 6% (p/p) PENTA dans l'éthanol.



**Figure V-14:** Spectre PA-FTIR de soustraction du collagène traité par une solution de PENTA 6% (p/p) dans l'éthanol.



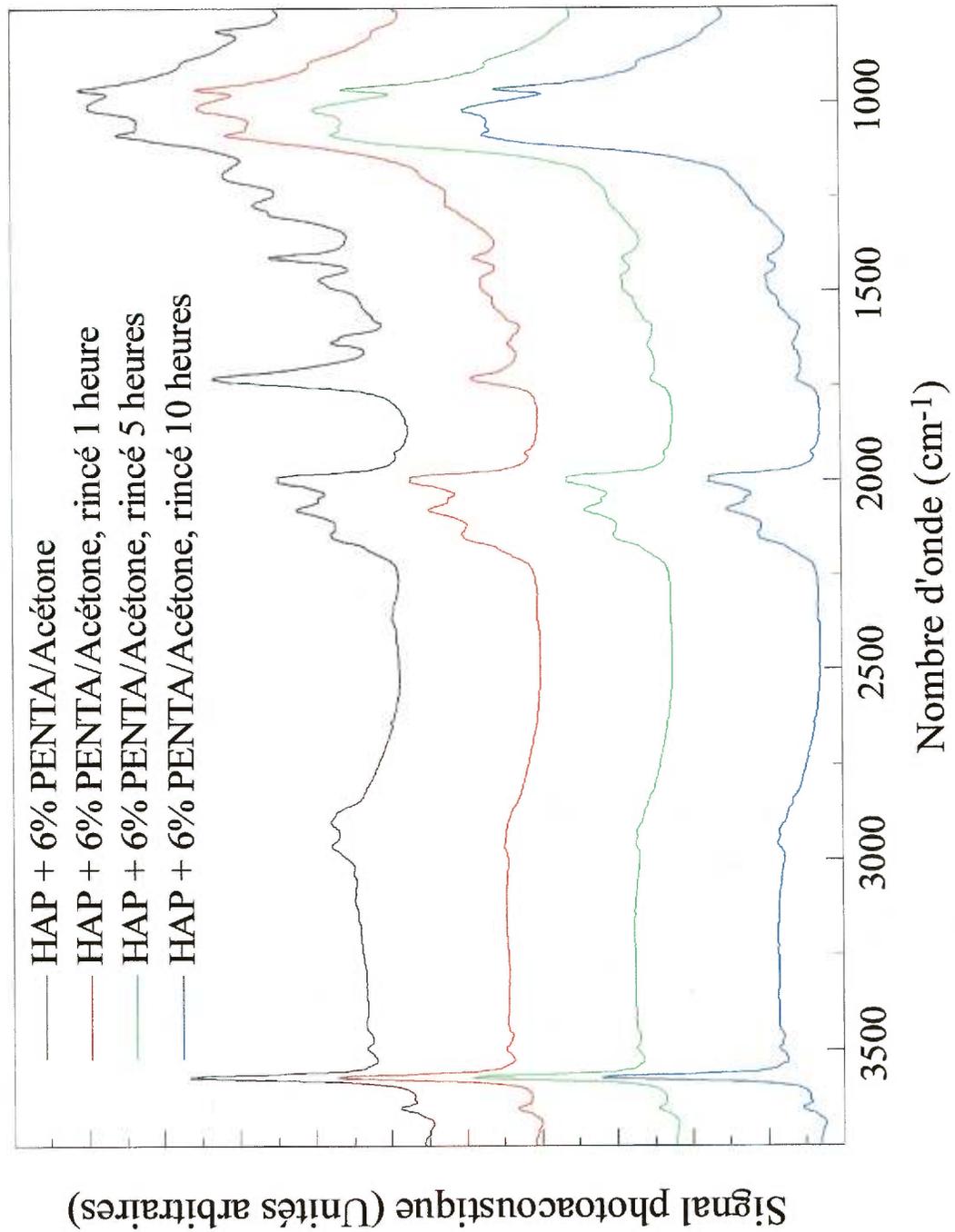
**Figure V-15:** Spectres de soustraction comparant l'interaction entre le collagène de type I et le PENTA ou Di-PENTA à partir d'une solution d'éthanol.

Ces spectres semblent démontrer une présence plus importante de PENTA que de Di-PENTA après des traitements semblables; c'est-à-dire, que le PENTA possède une affinité pour la phase organique de la dentine.

### **V.3.c. Traitement de l'hydroxyapatite de calcium**

L'hydroxyapatite de calcium a aussi été évalué pour les interactions avec le PENTA et Di-PENTA. Encore une fois, les échantillons ont été traités à l'aide de l'un des deux solvants utilisés auparavant. Les spectres des figures V-16 et V-17, présentent des échantillons de HAP traités par des solutions de 6% (p/p) de PENTA ou Di-PENTA dans l'acétone à plusieurs étapes de l'expérience; soit immédiatement après le traitement (30 minutes d'exposition), puis rincés avec 8 mL d'acétone dans un bain agité pendant 1, 5 et 10 heures. Les spectres présentés aux figures V-18 et V-19 correspondent à l'apatite traitée par des solutions de 6% (p/p) de PENTA et Di-PENTA dans l'éthanol. Ces échantillons ont été traités initialement pendant 30 minutes. Ensuite, ils ont été rincés pendant 1, 2 et 6 heures avec environ 10 mL d'éthanol dans un bain à ultrasons à chaque étape. Entre chacune de ces étapes, les échantillons ont été séchés sous vide pendant plusieurs heures.

Il faut prendre note que l'apatite des spectres V-16 et 17 a été fournie par le National Institute of Standards and Technology (NIST). Puisque les quantités fournies ont été insuffisantes pour compléter les expériences, les spectres en V-18 et 19 utilisent l'apatite de calcium de Calcitek. Ces apatites diffèrent quelque peu dans les bandes combinatoires (ca.  $2000\text{ cm}^{-1}$ ) ainsi que les bandes d'absorption de carbonate (ca.  $1450\text{ cm}^{-1}$ ) puisque l'apatite de Calcitek en a une concentration supérieure. Les autres bandes d'absorption demeurent inchangées.



**Figure V-16:** Spectres PA-FTIR du HAP représentant l'enlèvement du PENTA dissout dans l'acétone.

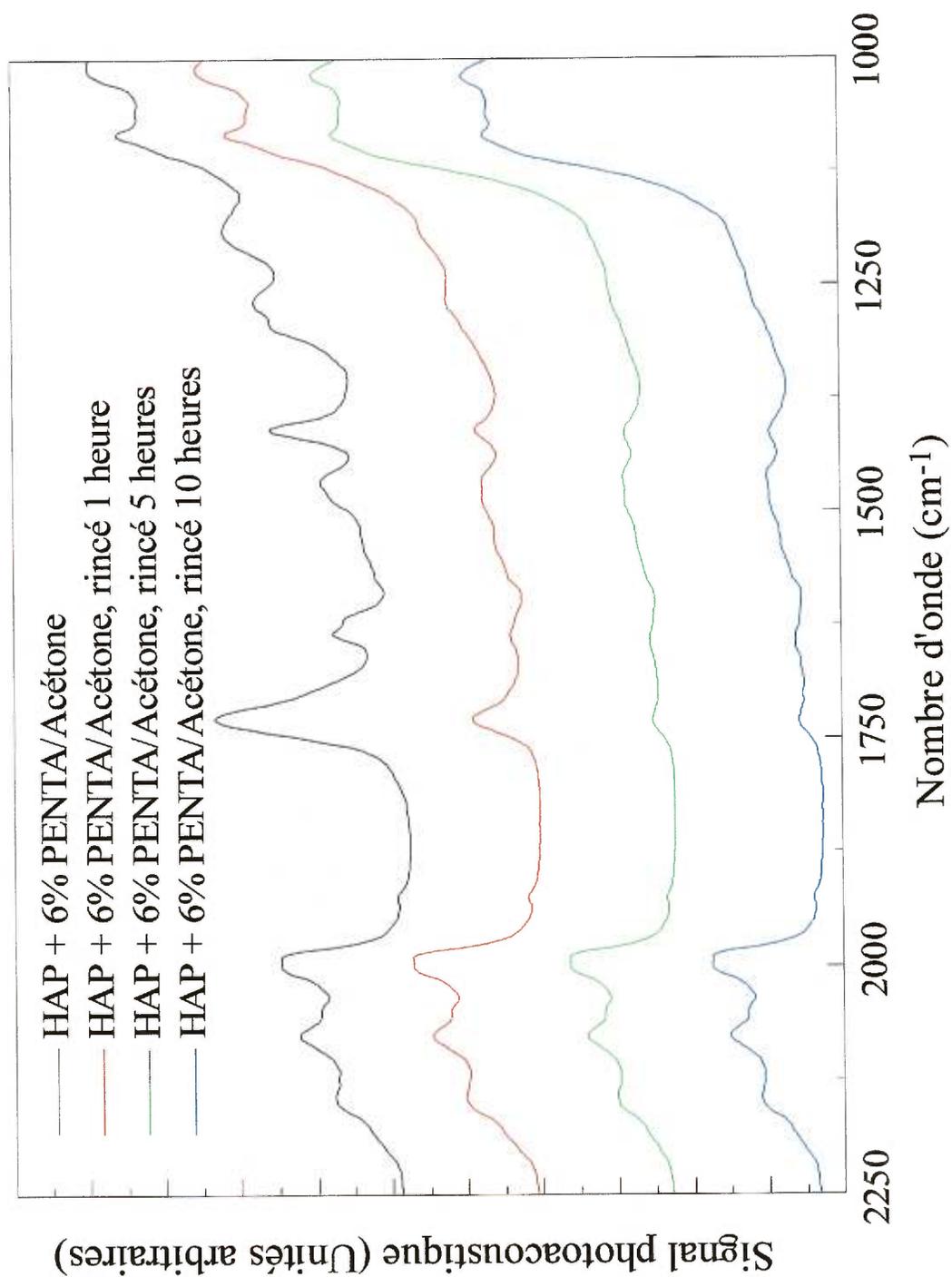
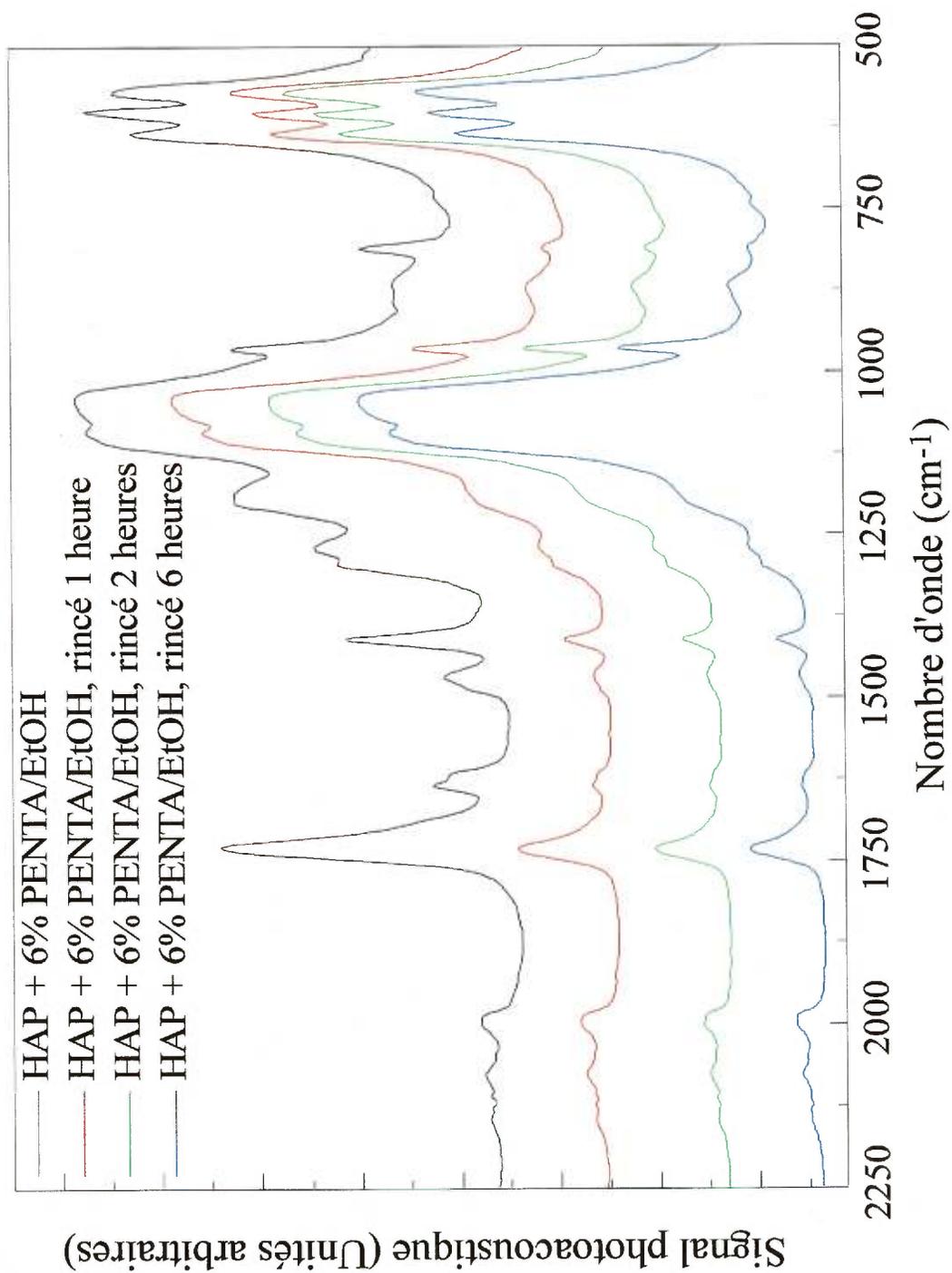


Figure V-17: Spectres PA-FTIR du HAP représentant l'enlèvement du Di-PENTA dissout dans l'acétone.



**Figure V-18:** Spectres PA-FTIR du HAP représentant l'enlèvement du PENTA dissout dans l'éthanol.

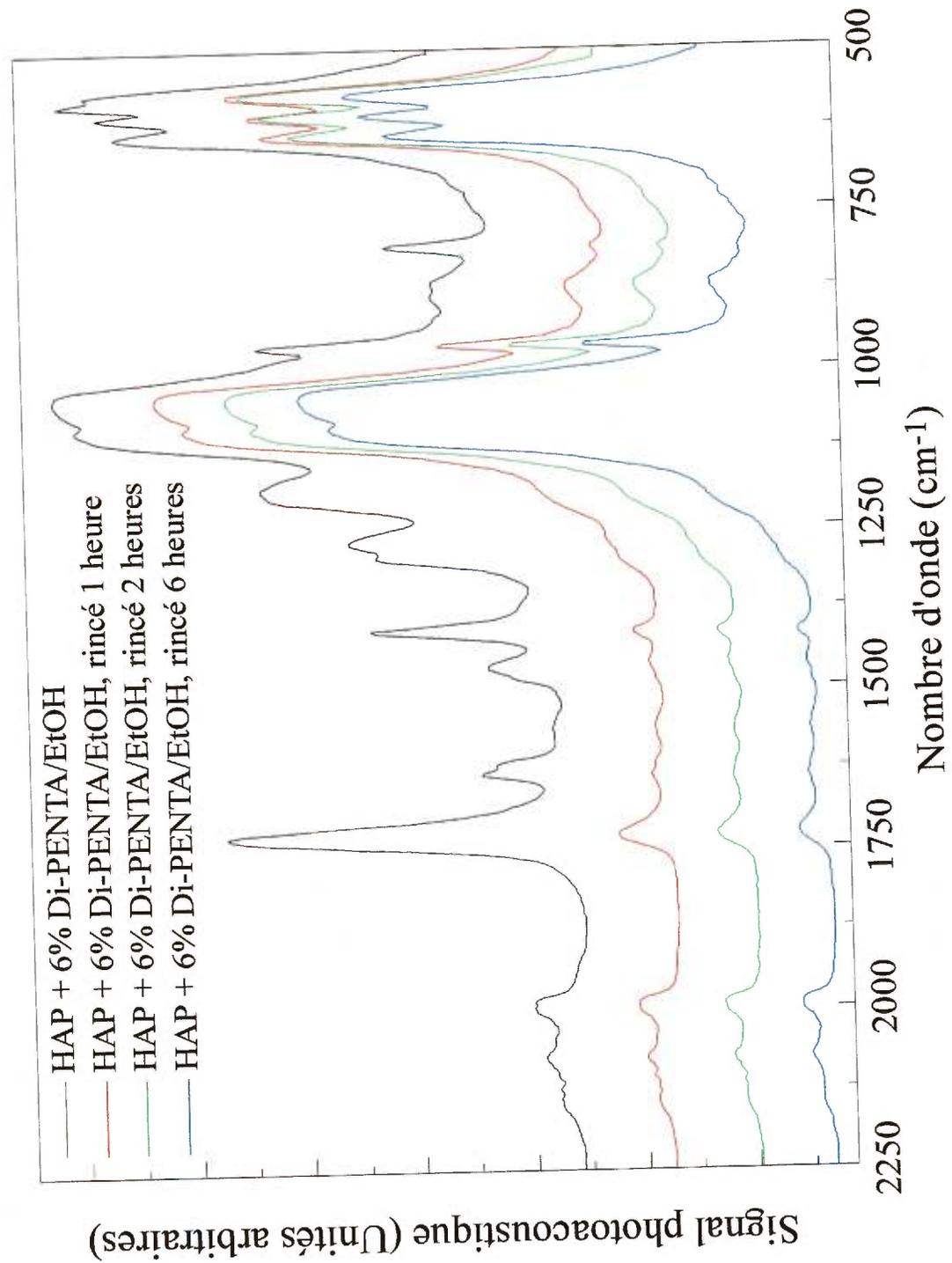


Figure V-19: Spectres PA-FTIR du HAP représentant l'enlèvement du Di-PENTA dissout dans l'éthanol.

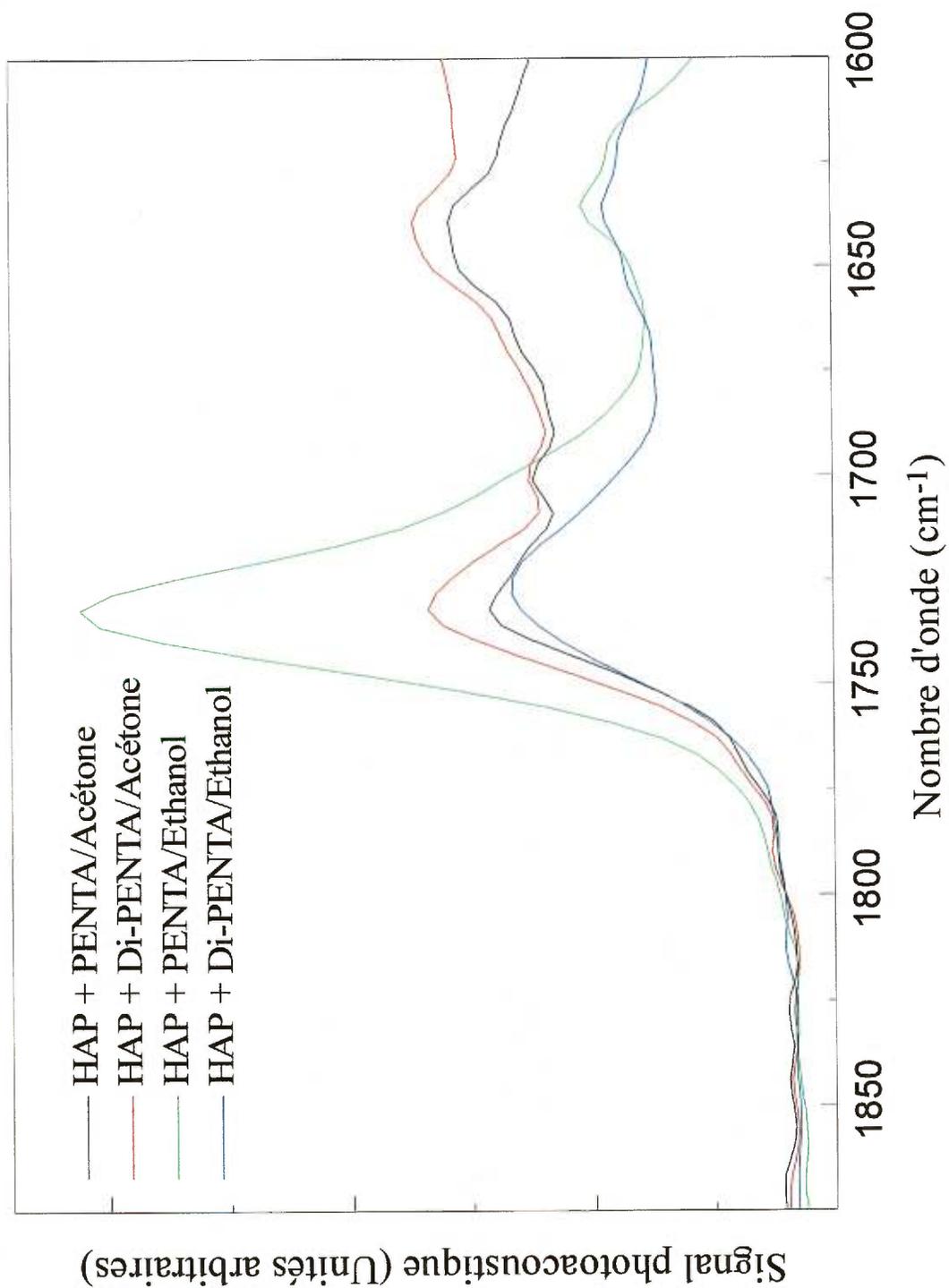
La figure V-20 compare les résidus après six rinçages pour tous ces échantillons d'apatite de calcium. Une fois de plus, les échantillons traités par la solution de PENTA dans l'éthanol présentent une intensité supérieure que soit la solution identique dans l'acétone ou les solutions de Di-PENTA qui possèdent des intensités qualitativement comparables.

#### V.4. Discussion

Les résultats présentés dans ce chapitre (résumés au tableau V-2) indiquent tous que lorsque le PENTA est dissout dans l'éthanol, le résidu de ce premier est toujours présent en plus grande proportion qu'avec les échantillons traités avec des solutions de Di-PENTA. À première vue et en ne se fiant qu'aux résultats du PENTA et Di-PENTA dissous dans l'éthanol, il serait possible de dire que le PENTA a une plus grande affinité pour la dentine et ses composantes. Par contre, ce postulat semble moins évident à la lumière des résultats observés pour ces mêmes produits dissous dans l'acétone.

Substrat	PENTA		Di-PENTA	
	Acétone	Éthanol	Acétone	Ethanol
Dentine Sans traitement	Contaminé par l'acétone	Faiblement présent	Contaminé par l'acétone	
Dentine Déprotéinée		Présent et majoritaire		Présent et minoritaire
Dentine Mordancée		Pas observé		Pas observé
Dentine Mordancée et Déprotéinée		Pas observé		Pas observé
Collagène	Contaminé par l'acétone	Présent et majoritaire	Contaminé par l'acétone	Présent et minoritaire
HAP	Présent et minoritaire	Présent et majoritaire	Présent et minoritaire	Présent et minoritaire

**Tableau V-2:** Tableau résumant les résultats observés pour les expériences impliquant le PENTA et le Di-PENTA.



**Figure V-20:** Spectre PA-FTIR des traitements de l'apatite de calcium suite à six rinçages.

Le PENTA possède une solubilité généralement plus faible que le Di-PENTA qu'il s'agisse de sa dissolution dans l'acétone ou l'éthanol. En effet, les observations faites lors de la préparation des solutions indiquent que le PENTA est qualitativement plus long à se dissoudre complètement dans ces deux solvants que sa contrepartie non phosphorylée. De plus, la mise en solution du PENTA dans l'éthanol est beaucoup plus lente que dans l'acétone; cette différence n'a pas été observée chez le Di-PENTA.

### V.5. Conclusions

La présence majoritaire du PENTA dans tous les échantillons traités à partir de solution à base d'éthanol n'est peut-être que le résultat de cette différence de solubilité. Malheureusement, ceci rend la détermination plus précise d'une interaction entre le PENTA et la dentine ou le collagène très difficile.

Les échantillons de HAP traités par le PENTA ou Di-PENTA dans l'acétone ont des quantités comparables de ces produits après plusieurs rinçages (figure V-20). De plus, les spectres présentés dans ce chapitre ne présentent aucune nouvelle bande d'absorption qui pourrait être assignée à la formation de nouvelles liaisons entre le PENTA et les substrats. Ces observations peuvent résulter de deux facteurs. Dans un premier temps, il est possible que l'interaction physico-chimique entre le PENTA et le HAP, et le Di-PENTA et le HAP soit comparable. Dans ce cas, la théorie selon laquelle le phosphate est le groupe fonctionnel responsable de l'efficacité du PENTA est éronnée. Ce produit serait donc aussi performant à cause de ses propriétés physiques et non chimiques.

La seconde possibilité implique une limite de la sensibilité du PA-FTIR qui n'est pas capable de déceler de différence entre ces deux produits. La possibilité existe qu'une interaction entre le PENTA et l'apatite de calcium se produit à l'échelle de quelques monocouches moléculaires. Puisque le rinçage n'est pas complètement efficace, le signal généré par ces monocouches est dissimulé parmi les intensités déjà existantes du HAP ou du PENTA.

**Références:**

Barkmeier, WW; Huang, C; Hammesfahr, PD; Jeffries, SR; 1990; *J Esthet Dent*; **2**; 134.

Colthup, NB; Daly, LH; Wiberly, SE; 1990; "Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy"; 3<sup>e</sup> édition; Academic Press, Boston, chap. 5, 7, 9, 10 et 12.

Detoni, S; Hadži, D; 1964; *Spectrochim Acta*; **20**; 949.

Fava, F; Prati, C; Marchetti, L; Montanari, G; 1990; *Ann Chim (Rome)*; **80**; 487.

Hadži, D; 1965; *Pure Appl Chem*; **11**, 435.

Huang, CT; Jeffries, SR; 1989; US Patent 4,814,423.

Huang, CT; Blackwell, GB; 1990; US Patent 4,966,934.

Stangel, I; Sacher, E; Young, C; Hanley, S; 1994; *J Adhesion*; **47**; 133.

Thomas, LC; Chittenden, RA; 1964; *Spectrochim Acta*; **20**; 489.

Xu, J; 1996; Thèse de Doctorat; Université McGill.

## **Chapitre VI**

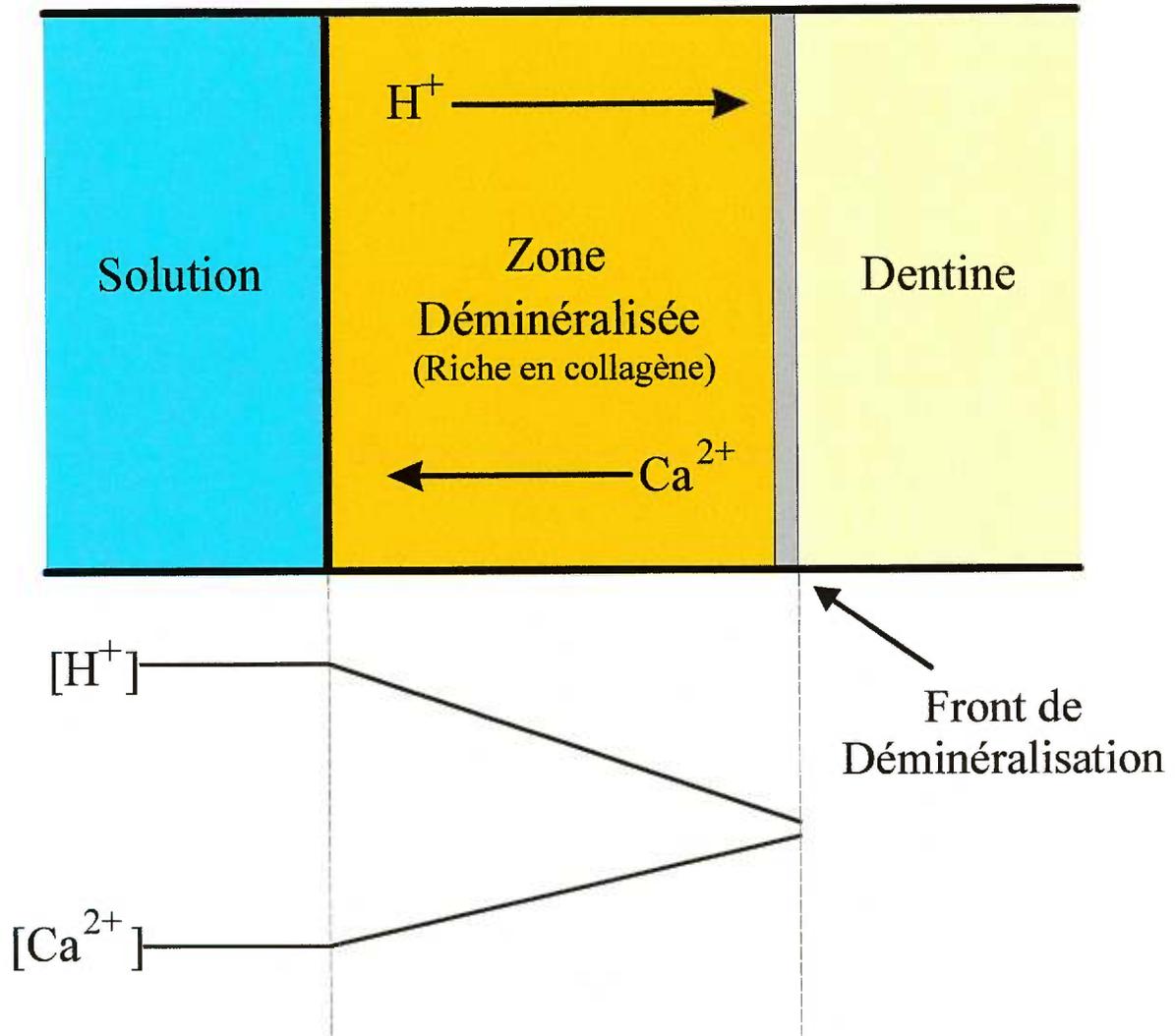
Conclusions globales

Ce dernier chapitre se consacre à une discussion globale des résultats de ce travail. Les chapitres qui ont précédé ont présenté une grande quantité d'information et plusieurs interprétations basées sur ces observations. Ce chapitre fera la synthèse des travaux effectués et des conclusions qui en ont été tirées. Les modifications de la surface de la dentine ont été une partie importante de ce travail et seront le principal sujet de notre attention. Le travail sur le PENTA n'a pas révélé la présence d'interaction chimique, mais a permis de déterminer plusieurs facteurs importants qui sont à surveiller lors de l'utilisation du PA-FTIR et de manipulations générale avec ce produit.

### **VI.1. Les modifications chimiques de la dentine**

La déminéralisation de la dentine a été étudiée à l'aide de l'absorption atomique et de la spectroscopie PA-FTIR. Les résultats obtenus ont démontré que cette déminéralisation procède par un processus qui est contrôlé par diffusion. Dans un tel type de réaction, la dissolution du substrat est fortement dépendante de la vitesse de diffusion des différentes espèces. Dans le cas de la dentine, les protons qui diffusent au travers de l'interface et les ions calcium qui la quittent limitent la vitesse de la réaction (figure VI-1).

Selon l'équation de déminéralisation de l'apatite de calcium, le mordantage de la dentine est dépendant de la concentration (ou l'activité) de l'acide. En effet, une augmentation de l'activité des protons devrait résulter en une dissolution plus rapide de l'apatite. Parmi les acides étudiés, seul l'acide chlorhydrique suit ce modèle simple. Il a été démontré que la déminéralisation dépend non seulement de la concentration des protons en solution mais qu'elle est aussi fortement dépendante de la nature de l'acide et du contre-ion.

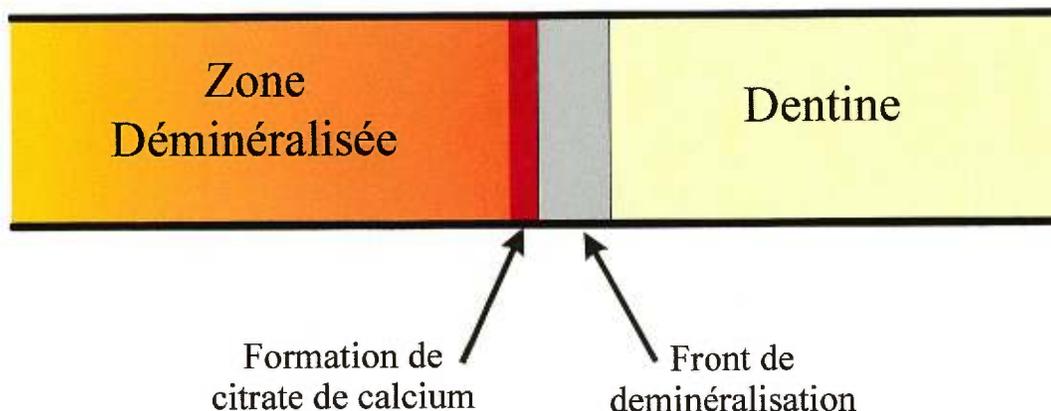


**Figure VI-1:** Schéma de la réaction contrôlée par diffusion à l'interface entre la solution acide et l'échantillon de dentine. Les variations de concentration sont indiquées comme étant linéaires, mais peuvent être non linéaires.

Les acides maléique et phosphorique ont une action constante qui varie peu avec le pH, du moins dans le domaine de pH étudié dans ce travail. À concentration élevée, ces deux acides sont moins performants à cause de leur viscosité accrue. Cette viscosité supérieure cause une diffusion plus lente en solution et à l'interface qui, à son tour, contrebalance l'activité d'un nombre plus élevé de protons. Dans le cas des concentrations plus faibles, ces acides sont plus performants puisque, en étant des acides faibles polyprotiques, ils s'autotamponnent ce qui résulte en une faible variation de leur activité avec le temps.

L'acide citrique présente un cas particulier. Cet acide possède une relation inverse avec l'activité des protons. Cette corrélation négative résulte de la formation d'espèces insolubles à l'interface (Misra, 1996). La formation de citrate de calcium à l'interface de la dentine gêne la diffusion des espèces vers la surface ce qui cause un ralentissement de la vitesse de réaction. La formation de ces espèces est favorisée par la présence de protons (qui permettent de dégager l'ion  $\text{Ca}^{2+}$ ) et une activité élevée de contre-ions. Il est prévu qu'à des valeurs de pH plus faibles, cette formation de sel soit favorisée et, donc, que la vitesse de la réaction diminue. En effet, c'est ce qui est observé pour l'acide citrique.

De plus, puisque ce précipité ne peut exister que dans une zone de concentration de  $\text{Ca}^{2+}$  élevée, il est dissous lorsque le front de déminéralisation se déplace vers l'intérieur du substrat (figure VI-2). Le résultat net est une vitesse de réaction observée pour les échantillons exposés à cet acide qui est toujours plus faible que pour les acides ne formant aucun précipité. Le précipité lui-même est difficile à déceler puisque sa formation est le résultat du processus dynamique qui se produit à l'interface. Il n'existe qu'en une très mince couche à l'interface la plus intime avec la surface et est rapidement dissous dans l'eau.



**Figure VI-2:** Formation du citrate de calcium à l'interface de déminéralisation.

De plus, les spectres PA-FTIR ont permis de vérifier que la dentine est composée d'une phase organique (principalement le collagène) et une phase minérale (principalement l'hydroxyapatite de calcium). Comme toute apatite biologique, l'HAP n'est pas stœchiométrique mais contient clairement une quantité importante de carbonate. L'enlèvement de la phase minérale crée une surface présentant une aire très élevée et qui est très riche en phase organique. En effet, la déminéralisation dégage les fibres de collagène qui sont normalement intercalées dans le réseau apatitique.

Les travaux impliquant le PA-FTIR ont démontré une déminéralisation graduelle de la surface de la dentine. L'enlèvement de la phase minérale comprend l'HAP ainsi que le carbonate. Cette déminéralisation est très prononcée pendant les deux premières minutes d'exposition à l'acide; une observation qui concorde avec les résultats de l'expérience d'AA où un tel comportement est prévu par le mécanisme réactionnel contrôlé par diffusion.

De plus, tel qu'observé par AA, les expériences de PA-FTIR ont aussi permis de vérifier l'effet moins marqué de l'acide citrique par rapport aux autres acides. Le tableau III-1 présente une diminution d'environ 10% de la bande phosphate (associée à l'apatite de calcium) lors de l'exposition de la dentine à l'acide citrique pendant deux minutes. Les

acides phosphorique et maléique conduisent à une réduction comparable, de près de 50%. Ces résultats montrent clairement l'action réduite de l'acide citrique et confirment que cet acide forme des précipités gênant la diffusion des autres espèces à l'interface. Aussi, l'acide maléique semble mordancer légèrement plus efficacement que l'acide phosphorique. La figure II-2 et le tableau III-1 démontrent, tous les deux, un effet faiblement supérieur de l'acide maléique.

Il a aussi été démontré que le traitement à l'acide peut aussi avoir une action sur le collagène. Le spectre de la figure III-13 indique l'apparition d'une bande d'absorption très faible à  $1724\text{ cm}^{-1}$  qui peut être le résultat de modifications chimiques causées par l'acide. Il a été suggéré (Gorbunoff et Timasheff, 1984) que la formation de groupements carbonyle résulte de l'enlèvement de la phase minérale qui serait liée à la phase organique par l'entremise de groupements ester. Une seconde possibilité résulterait d'une attaque de l'acide sur les chaînes peptidiques latérales du collagène formant de tels groupements (Veis et Cohen, 1955). Ces modifications sont mal connues et encore moins comprises, mais peuvent avoir un impact sur la nature chimique du collagène en ce qui regarde la formation de liens durables pour les restaurations. Des études sont présentement en cours afin de mieux comprendre l'effet des différents acides sur la structure morphologique et chimique du collagène.

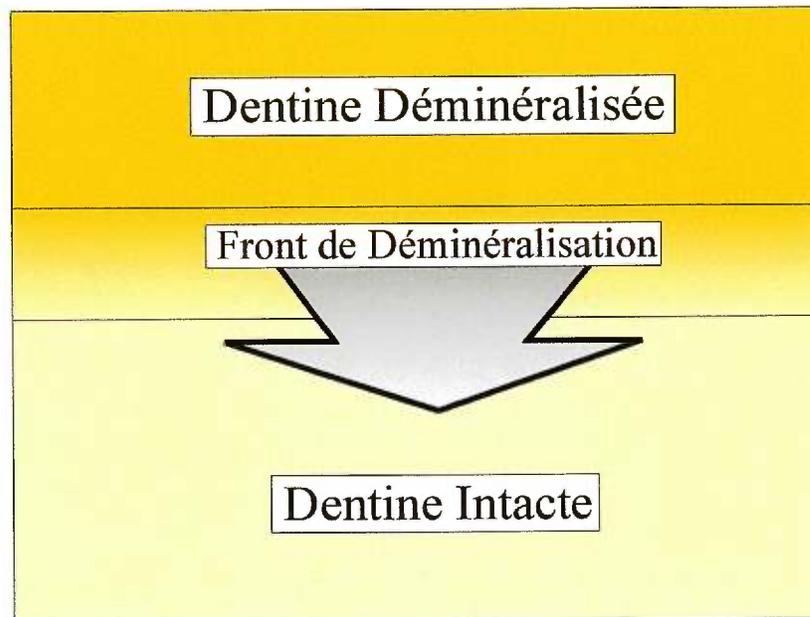
L'étude de la déprotéination de la dentine a présenté des résultats très intéressants. L'apatite biologique de la dentine humaine est une apatite très impure; elle contient une concentration élevée de carbonate et a une ressemblance marquée avec les apatites synthétiques obtenues à de faibles températures (Blumenthal et Posner, 1973). De plus, l'apatite dégagée par l'action de l'hypochlorite de sodium possède une mince couche d'eau à la surface.

Le processus d'enlèvement de la phase organique est différent de celui observé pour la déminéralisation. Les échantillons de dentine qui ont été déprotéinés pendant de longues périodes présentent encore des intensités attribuées à la phase

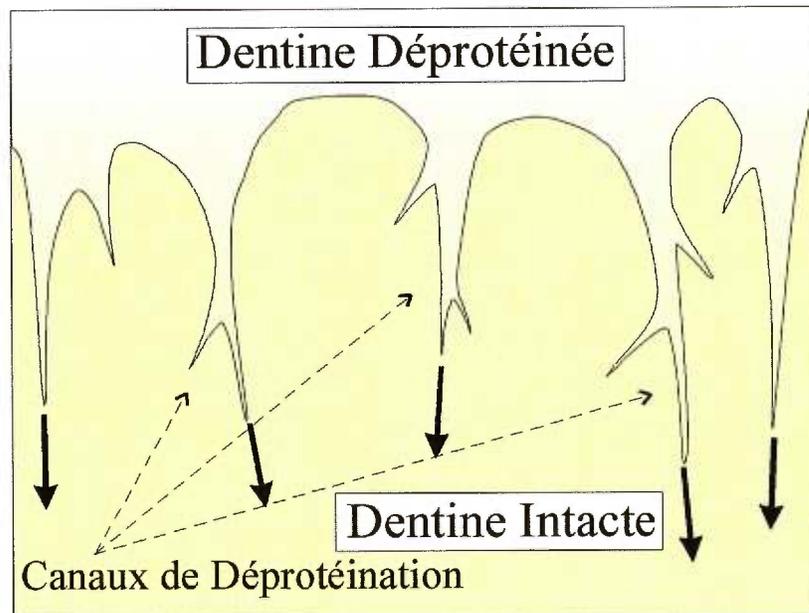
organique contrairement à la déminéralisation qui elle, présente une surface presque identique au collagène pur (figures III-9 et IV-2). La différence entre ces deux agents s'explique par la morphologie de la dentine. Dans le cas de la déminéralisation, la dissolution procède par la formation d'un front de dissolution qui descend uniformément vers l'intérieur de l'échantillon (figure VI-3A). La réaction de déprotéination suit un processus beaucoup plus lent que la déminéralisation. La lenteur de cette réaction de déprotéination est causée par la présence du réseau cristallin apatitique qui protège la phase organique de l'action de l'hypochlorite (figure VI-3B).

Lorsque la phase organique a été préalablement dégagée par l'action d'un acide, la déprotéination procède beaucoup plus rapidement. Cette réaction rapide se poursuit jusqu'à l'épuisement du collagène dégagé et puis reprend le rythme lent lorsqu'elle atteint le collagène encapsulé (figures IV-4 et IV-5). Un tel traitement séquentiel d'acide et d'hypochlorite présente la possibilité de générer des surfaces de dentine "propre" (sans débris de fraisage) en évitant de trop déminéraliser ou déprotéiner la surface et, surtout, sans avoir recours à des polissages mécaniques compliqués (figure VI-4).

Dans l'ensemble, ces travaux ont démontré que la déminéralisation ainsi que la déprotéination de la dentine sont des processus dynamiques. La déminéralisation de la dentine, quoique dépendante de l'acidité, est affectée par la nature même de l'acide ainsi que du contre-ion. La déprotéination est une réaction rapide si elle agit sur le collagène libre mais devient très lente si ce même collagène est incorporé au réseau cristallin apatitique de la dentine. La maîtrise de ces réactions est un facteur important dans la mise au point de systèmes adhésifs puisque l'efficacité de ces derniers jouent un rôle important dans le domaine des restaurations.

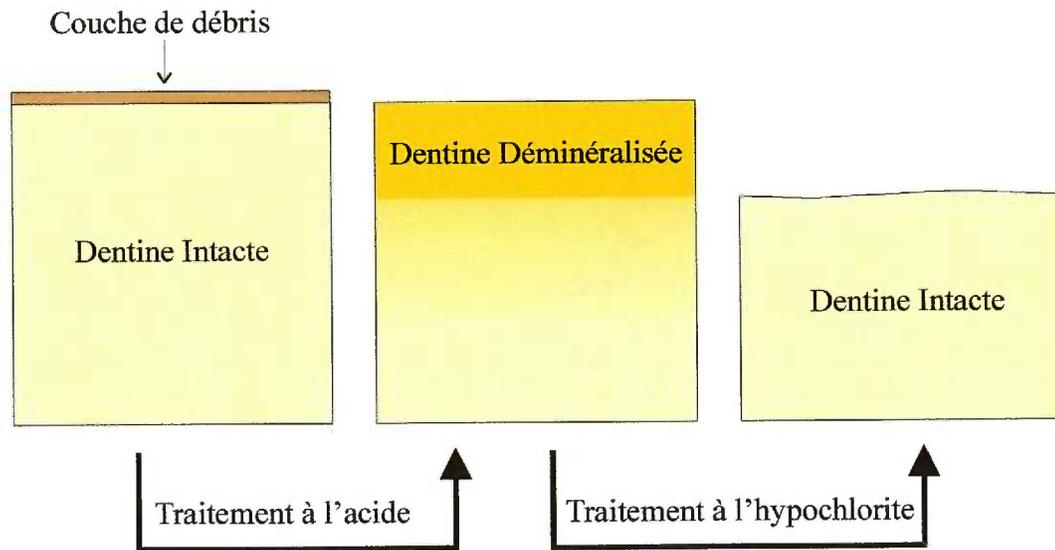


A



B

**Figure VI-3:** Comparaison entre la déminéralisation et la déprotéination de la dentine humaine.



**Figure VI-4:** Traitement séquentiel de la dentine par un acide et l'hypochlorite de sodium.

## VI.2. Le traitement de la dentine par le PENTA.

Malheureusement, l'efficacité du PENTA est toujours mal comprise. Ce produit est connu comme étant un agent d'adhésion efficace sur la dentine et présente une adhésion plus élevée que sa contrepartie non phosphorylée, le Di-PENTA. Par contre, peu de différence entre ces deux produits a été décelée par spectroscopie photoacoustique.

Une remarque importante a été faite lorsque la dentine est mise en contact avec l'acétone. Ce solvant semble avoir une affinité pour la dentine, ou, plus particulièrement, le collagène. En effet, l'acétone a été décelée auprès des échantillons (de dentine ou collagène) traités par des solutions contenant ce solvant et même lorsque traités uniquement avec l'acétone et ce, même après de nombreuses heures de séchage sous vide. L'effet sur la morphologie et la chimie de la présence d'acétone piégée dans la dentine n'a jamais été évalué.

Les résultats de ces travaux semblent indiquer très peu d'interaction entre le PENTA et le Di-PENTA et la dentine à l'exception du PENTA dissous dans l'éthanol. Cette présence du PENTA semble plus due à un effet diminué du rinçage à l'éthanol qu'à une interaction plus importante entre le PENTA et le substrat. Il est donc possible qu'une interaction marquée existe entre la dentine et le PENTA mais que cette interaction échappe à une analyse par spectroscopie PA-FTIR. En effet, une interaction subtile au niveau de quelques monocouches de PENTA et le HAP passerait inaperçue à cette technique qui sonde plusieurs micromètres de profondeur. Dans un tel cas, la quantité de PENTA serait très faible, possiblement inférieure à 1% du volume total de l'échantillon, et serait dissimulée parmi les intensités plus importantes des bandes du substrat, voir même le bruit de fond. Les expériences futures sur un tel système devront tenir compte de l'effet possible du solvant ainsi que des avantages et des inconvénients de la technique utilisée.

Des études préliminaires récentes sur les contraintes des agents d'adhésion (M. Yavari et I. Stangel, communication personnelle) ont démontré que l'application successive de PENTA suivie de Di-PENTA sur la dentine n'ayant subi aucun prétraitement présentent des forces de rétention semblables à une application de Di-PENTA suivie de PENTA. Ces observations suggèrent que l'action du PENTA ne se produit pas nécessairement à l'interface de la dentine. De plus, l'application du PENTA sur la dentine mordancée (et donc riche en collagène) donne une force de rétention plus élevée que la dentine non traitée. L'ensemble de ces résultats démontrent que l'exemple de l'interaction par complexation au calcium (figure V-2) est trop simplifié. Les études de l'action du PENTA devront donc se poursuivre. Pour ce faire, une meilleure compréhension des phénomènes impliqués dans l'interaction est à l'ordre. L'effet des solvants sur le PENTA et les substrats doit être bien compris et contrôlé, et une technique plus sensible que le PA-FTIR est requise afin de déceler l'existence définitive d'une interaction chimique entre ce produit et la dentine.

### VI. 3 Conclusions

Les expériences effectuées dans l'ensemble de ce travail ont permis d'éclaircir plusieurs aspects des modifications chimiques de la dentine. La déminéralisation de la dentine, tel que plusieurs autres substrats biologiques minéralisés, procède par une réaction dont les mécanismes sont gérés par la diffusion des espèces à l'interface. Aussi, le choix de l'acide utilisé pour déminéraliser a un effet capital sur la vitesse et l'efficacité de la dissolution de la phase minérale.

L'enlèvement de la phase organique procède par un processus lent, et ce à cause du réseau cristallin de la dentine. Ces travaux ont permis de mettre au point une technique par laquelle une surface de dentine peut facilement et rapidement être ramenée à son état natif en utilisant un traitement séquentiel d'acide et d'hypochlorite de sodium.

Ce travail est l'un des premiers à caractériser systématiquement les modifications de la dentine humaine et ses composantes par des techniques spectroscopiques. Ses résultats auront un impact important en ce qui regarde la mise au point des futures générations de systèmes adhésifs dentinaires qui devront présenter plus de résistance, plus d'étanchéité ainsi qu'une durabilité plus marquée que leurs prédécesseurs.

### VI. 4. Le futur

Des études sont déjà en cours afin de continuer les travaux débutés dans cette thèse, ainsi que de répondre à certaines questions qu'elle a soulevé. Parmi celles-ci, la détermination spectroscopique par PA-FTIR de l'effet qu'a le mordantage sur le collagène de la dentine ainsi que les effets résiduels de différents solvants a une place importante. De plus, la caractérisation des modifications chimiques de la dentine ainsi que leur impact sur la morphologie se poursuivent par de nombreuses techniques. Des expériences par AFM effectuées par des collaborateurs (El Feninat, communication

personnelle) ont déjà démontré que les acides engendrent des altérations morphologiques au sein du collagène. Des expériences par RMN en phase solide sont prévues afin de déterminer si cette technique est apte à caractériser l'interaction PENTA-dentine. De plus, la spectroscopie par rayons-X (XPS) ainsi que des mesures d'angle de contact et de contraintes commencent déjà à apporter des résultats prometteurs.

**Références:**

Blumenthal, NC; Posner, AS; 1973; *Calc Tiss Res*; **13**; 235.

Gorbunoff MJ, Timasheff SN; 1984; *Anal Biochem*; **136**, 440.

Misra, DN; 1996; *J Dent Res*; **75**; 1418.

Veis, A; Cohen, J; 1955; *J Am Chem Soc*, **77**; 2364.

## Remerciements

Je suis assis ici, en train d'essayer de dresser une liste des personnes à remercier... Une tâche qui n'est pas aussi simple qu'elle le semblait au début... La réalité est que dresser une liste détaillée et, surtout, complète devient rapidement impossible. Par contre, je vais essayer de la garder la plus succincte possible, tout en offrant mes excuses à ceux et celles que je ne mentionne pas directement ou que j'oublie...

Au tout début, je tiens à remercier mon directeur de thèse, le professeur Tom Ellis ainsi que nos deux collaborateurs, les docteurs Ivan Stangel et Ed Sacher. Ce triumvirat forme une équipe dynamique sans pareil au sein du groupe de recherche. Étant, de sorte, le "premier-né" de B.I.G. (Biomaterials Interface Group), j'ai eu d'excellents parents. Je garderai toujours des souvenirs précieux de nombreuses soirées passées au restaurant avec eux à scribouiller sur des napperons de papier pendant que les idées, théories, hypothèses et suggestions volaient à droite et à gauche. Il a été un honneur de travailler avec vous; mais le plus grand honneur est de vous considérer mes amis.

Ensuite, je remercie les étudiants passés et présents de mon laboratoire de recherche ainsi que de B.I.G. qui ont permis des échanges intellectuels lors de nombreuses discussions. C'est le fruit même des nouvelles idées.

Un gros merci va aux membres de l'atelier mécanique et électronique qui ont su combler toutes mes requêtes (quelquefois cauchemardesques) ainsi qu'à Clément Chayer et Sylvie Marceau pour leur support technique et matériel.

De plus, je tiens à remercier le Dr. H. Pham qui a généreusement fourni les dents nécessaires à la préparation des échantillons ainsi qu'à Dentsply, NIST et Calcitek pour leurs dons de produits.

Une mention particulière à Jean-François Archambeault qui a su transformer mon français en "vrai" français... Merci JF.

Finalement, je remercie ma famille qui m'a supporté pendant toutes ces années et m'a encouragé à continuer, même durant les moments difficiles. Merci à tous mes amis qui

m'ont offert de l'aide (morale et/ou intellectuelle) ou tout simplement un sourire au bon moment.

Merci à tous... MDR