

Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :
Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Discipline ou spécialité :
Science et Génie des Matériaux

Présentée et soutenue par :
Imane DEMNATI

le : jeudi 13 octobre 2011

Titre :

Développement et caractérisation de revêtements bioactifs d'apatite obtenus par projection plasma à basse énergie: application aux implants biomédicaux

Ecole doctorale :
Sciences de la Matière (SDM)

Unité de recherche :
Institut Carnot CIRIMAT

Directeur(s) de Thèse :

Mme. Christèle COMBES
Mr. David GROSSIN

Professeur, INP de Toulouse
Maître de Conf. INP de Toulouse

Rapporteurs :

Mr. Corrado PICONI
Mr. Hicham BENCHAYOUNE

Professeur, Univ. de Rome (Italie)
Professeur, Univ. de Reims

Mr. Jean PUGET
Mr. Karlis GROSS
Mr. Christian REY
Mr. Iñigo BRACERAS
Mr. Gérard COLONGES
Mr. Stéphane GONCALVES

Membre(s) du jury :
Professeur, Univ. de Toulouse III
Professeur, Univ. de Riga (Lettonie)
Professeur, INP de Toulouse
Ingénieur, Inasmet-Tecnalia (Esp)
Ingénieur, Projection Plasma System
Responsable R & D, Teknimed

Président
Examinateur
Examinateur
Membre invité
Membre invité
Membre invité

A ma famille...

*« On ne peut prévoir l'incidence qu'auront certains événements dans le futur ;
C'est après coup seulement qu'apparaissent les liens.
Vous pouvez seulement espérer qu'ils joueront un rôle dans votre avenir.
L'essentiel est de croire en quelque chose : votre destin, votre vie, votre karma ...
Cette attitude a toujours marché pour moi, et elle a régi ma vie. »*

Steve Jobs

Remerciements

Cet opuscule serait incomplet si je ne remerciais pas tous ceux qui y ont pris part, quelle que soit leur implication. En effet, si j'ai écrit l'essentiel de ces pages, nombreux sont ceux qui y ont apporté leurs corrections, ou simplement leur amicale influence. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude.

*Toute ma reconnaissance s'adresse en particulier à mes directeurs de thèse, M. **David Grossin**, Mme **Christèle Combes** et M. **Christian Rey**, pour leur travail d'encadrement remarquable, leurs encouragements perpétuels et leur compétence scientifique qui ont été les facteurs déterminants de la réussite de ce projet. Ce fût un immense plaisir de travailler sous votre direction durant ces années de thèse.*

Merci David pour ta disponibilité, tes conseils éclairés. Ton écoute et tes conseils ont été pour moi un atout précieux. Je te remercie aussi pour ton amitié et ta gentillesse ainsi que ta bonne humeur qui m'ont souvent encouragée surtout pendant mes moments de panique et de stress. Merci Christèle, pour tes conseils précieux, ta rigueur et ta disponibilité malgré un emploi du temps très chargé. Enfin, je souhaite mettre l'accent sur tes qualités humaines et ta gentillesse qui ont grandement contribué à l'avancement de ce travail.

Merci Christian pour tout ce que vous avez pu m'apporter scientifiquement ainsi que pour vos innombrables idées d'expériences. Vos conseils avertis m'ont permis de progresser, et d'élargir mon champ de vision du travail de chercheur.

*J'assume ma profonde gratitude à M. **Jean Puget**, professeur à l'université de Toulouse III et chirurgien orthopédique au centre hospitalier universitaire de Rangueil, qui m'a fait l'honneur de présider mon jury de thèse, d'avoir montré autant d'enthousiasme pour le sujet et les résultats présentés.*

*Je suis très reconnaissante à M. **Hicham Benhayoune** (Université de Reims) et M. **Corrado Piconi** (Université Catholique de Rome) d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail, et qui me font l'honneur de faire partie du jury. Vous avez toute ma gratitude pour les différentes critiques constructives, que vous avez pu faire au gré de vos lectures de ce mémoire.*

*Un très grand merci également à M. **Karlis Gross** (Université de Riga, Lettonie) d'avoir accepté d'être membre du jury en y apportant le point de vue d'un spécialiste de la projection plasma et surtout d'avoir montré un immense intérêt pour ce travail depuis le début de ma troisième année.*

Cette thèse s'inscrit dans le cadre d'un projet européen en partenariat avec les sociétés Inasmet-Tecnalia (San sebastian, Espagne), 2PS (Montbazens, France) et Teknimed (L'union, France).

*Je remercie M. **Iñigo Braaceras**, responsable du département Biomatériaux (Inasmet-Tecnalia) pour sa participation à l'avancement des travaux et sa présence dans le jury. Je souhaite également remercier Mme **Maria Parco** (Inasmet-Tecnalia) pour son implication importante dans le développement de la mini-torche plasma, la réalisation des revêtements ainsi que son aide scientifique et technique.*

*Je ne peux remercier suffisamment Monsieur **Gérard Collonges** (2PS) pour sa grande contribution à ce projet et pour avoir jugé ces travaux d'un point de vue industriel.*

*Je tiens à remercier sincèrement Monsieur **Stéphane Gonçalvès** (Teknimed) pour son aide précieuse tout au long de ces trois années et pour sa participation à ce jury.*

*J'adresse toute ma reconnaissance et ma gratitude à M. **Didier Mathon**, chirurgien vétérinaire de l'ENVT de Toulouse pour son professionnalisme et sa grande contribution dans cette étude. Merci à **Anne Brouchet** pour l'intérêt qu'elle porte à ce projet, j'espère qu'on réussira à décortiquer les résultats de l'étude in vivo qui intéresse autant les externes du projet que les porteurs du projet.*

*Toute ma reconnaissance à Mme **Nadine LeBolay**, professeur au laboratoire de génie chimique de Toulouse pour son aide précieuse dans l'étude de l'amélioration de la coulabilité de la fluorhydroxyapatite par broyage.*

Je souhaiterai également remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à cette thèse :

- ***Cédric Charvillat** pour son soutien technique en DRX.*
- *Une grande partie de ma thèse concerne l'analyse par microspectroscopie Raman, je remercie donc **Olivier Marsan** pour tous ses conseils et son aide surtout pour la réalisation des cartographies.*
- ***Gérard Dechambre** pour ses conseils précieux sur les caractérisations mécaniques des dépôts et surtout pour le travail considérable qu'il a fourni pour la mise en place et le fonctionnement du four tubulaire pour la synthèse de la chlorapatite.*
- ***Diane Samelor** pour son aide précieuse concernant la mesure de l'adhérence par scratch test,*
- ***Vicent Baylac** pour la réalisation des mesures de rugosité*

Un chapitre de thèse entier serait nécessaire pour remercier en détail tous les collègues et amis du CIRIMAT avec qui j'ai partagé de très bons moments, leurs aides, leurs conseils et leur sympathie au quotidien. Vous étiez tous ma famille de substitution à Toulouse. Je n'en ferai ici qu'un bref résumé.

*Pour sa sympathie, sa générosité et son grand cœur, merci **Patricia**. Je te souhaite plein de bonheur dans ta vie.*

***Ahmed**, merci pour tes conseils et ta gentillesse, trouve ici l'expression de ma profonde amitié.*

*Merci petite **Oriana**, pour ta sincère amitié et les pauses déj cours d'espagnol. Je pense que je n'étais pas une très bonne élève !*

***Sylvaine**, tu es arrivée au laboratoire en apportant ta bonne humeur et ta surdose de sérotonine. Je me souviendrais de ces discussions de haut vol, sur l'art, la photo, l'inde...*

*Mes remerciements s'adressent également à **Marie-Alix**, merci d'avoir ajouté du rayonnement et du dynamisme à nos vendredis.*

***Amal**, tu as commencé ce sujet avant moi pendant que je faisais des ciments dopés aux antibio, et le hasard a voulu qu'on échange nos rôles. Je tiens à te remercier pour m'avoir bien accueilli au Labo et pour ton amitié.*

***RaMona**, merci pour toute l'aide que tu m'a donnée depuis ton arrivée. Je te souhaite plein de bonne chose dans ta vie.*

***Hélène**, merci pour tes conseils précieux et les discussions bio que j'ai eu le plaisir de partager avec toi malgré le peu de temps que tu passais au labo.*

*Que la gentillesse et la lumineuse bonne humeur de **Françoise Bosc** trouvent ici les remerciements adéquats.*

*Merci à **Nicolas, Caroline, Sabrina MR, Sabrina M, Jean-phi, Stéphanie, Anne**, pour le bout de chemin qu'on a parcouru ensemble. **A Solenn**, merci de rester toujours près de nous par le cœur, tes gestes sont très touchants. Je souhaite beaucoup de chance aux nouveaux arrivés, à **Pierre** mon collègue de bureau, à **Hassan**, bon courage pour tout ce qui t'attend !*

*Je n'oublie pas de remercier **Farid** qui m'a soutenue et encouragée durant toute ces années et pour lequel ces phrases ne seront pas suffisantes pour dire MERCI.*

*Lors de mon premier séjour au CIRIMAT, j'ai été accueilli de manière très agréable par **Christophe Drouet**, Je le remercie beaucoup pour l'aide qu'il m'a apportée.*

*Mes remerciements s'adressent également à **Sophie Cazalbou** pour sa participation dans mon encadrement pendant mon premier stage au Labo.*

*Je tiens à remercier **Michèle** pour sa grande gentillesse. Merci **Jean-Louis** pour vos encouragements. Merci à **Domi** et **Jeanny** pour tout le travail que vous faite tout en gardant le sourire.*

*Je remercie également toutes les personnes de la partie pharmacie de notre équipe : **Anne-marie, Fabieng, Audrey, Sandrine, Hélène**, aux deux **Sophie, Alex**...*

*Je ne peux pas imaginer cette aventure sans penser à **Mary**, ma meilleure amie, qui a su me comprendre avant de parler, j'ai beaucoup apprécié ta gaieté et ta sérénité, je n'oublierai jamais nos voyages découvertes et je suis sûre qu'il y en aura d'autres dans l'avenir.*

*Merci **Sandra**, pour ton amitié et tes encouragements tout au long de ces années. Merci pour les inestimables moments partagés autour d'une table de restaurant ou d'un banoffee. J'ai eu beaucoup de chance de te rencontrer toi et **Faten** et je suis heureuse de rester encore un an à Toulouse pour continuer nos stages danse ensemble.*

*Merci à **Aurélia** et **Aneesha** pour leur aimable amitié, c'était un grand plaisir de faire votre connaissance.*

*Je termine par remercier toute ma famille et plus particulièrement mes parents pour leur soutien et leur confiance ; sans eux, je ne serais pas aller si loin ! Merci à mes frères **Anas, Oussama** et **Yassir** ainsi qu'à mon adorable mami.*

Résumé

Compte tenu de leur bioactivité et de leur ostéoconduction, les revêtements d'hydroxyapatite (HA) favorisent le développement de tissu osseux et contribuent à l'adhérence et à la prolifération des cellules osseuses tout en préservant l'intégrité mécanique du dispositif métallique de l'implant. Toutefois, des signes de résorption de cette couche ont été constatés et l'introduction du procédé de projection plasma pour la réalisation de dépôts d'HA a donné lieu à plusieurs controverses. Certaines études ont montré que les dépôts d'HA par projection plasma présentent une mauvaise adhérence sur le titane, une dégradation et écaillage avec le temps. Ce phénomène est attribuable à la décomposition de l'HA au cours de la projection et à l'existence de phases secondaires cristallisées ou amorphes qui fragilisent le dépôt.

A l'heure actuelle, les recherches de nouvelles apatites thermiquement plus stables se développent. Ainsi des dépôts à base de fluorapatite ou de fluorhydroxyapatite fournissent des dépôts plus stables et plus adhérents. Il existe d'autres formes d'apatites comme la chlorapatite (CIA) qui fond sans se décomposer ce qui permettrait d'éviter la formation des phases étrangères qui provoquent l'écaillage du dépôt.

Ce travail porte sur la synthèse et la caractérisation de phosphates de calcium apatitiques destinés au recouvrement de prothèses ostéoarticulaires et/ou d'implants dentaires métalliques. L'élaboration des poudres d'apatite a été réalisée par réaction solide-solide, en solution aqueuse ou en sel fondu. Plusieurs apatites ont été étudiées : la fluorapatite, la fluorhydroxyapatite, la chlorapatite et l'apatite calcostrontique. On obtient des poudres pures, bien cristallisées et stœchiométriques. Nous avons ensuite étudié la stabilité thermique des poudres d'apatite par analyse thermogravimétrique. La stabilité thermique de la CIA et sa fusion sans décomposition permettent d'obtenir des dépôts sans phases secondaires avec un taux de cristallinité élevé. Parmi toutes les poudres étudiées, nous avons choisi de sélectionner la chlorapatite pour la suite de l'étude ainsi que l'hydroxyapatite comme référence.

La poudre de CIA est déposée sur un substrat en titane via une mini-torche plasma mobile à basse énergie, conçue pour les implants dentaires ou orthopédiques de petites tailles et de géométries complexes. La projection par la mini-torche plasma permet de réaliser des dépôts fins et adhérents. Les propriétés structurales et microstructurales des dépôts de CIA et d'HA effectués dans les mêmes conditions ont été évaluées par diffraction des rayons X, spectroscopies FTIR et Raman. L'analyse des revêtements de CIA et d'HA par diffraction des rayons X atteste de la présence d'une seule phase cristalline. Néanmoins, le rapport de cristallinité des dépôts de CIA est largement supérieur à celui des dépôts d'HA, pour lesquels le rapport de cristallinité est supérieur à la norme requise. Ce résultat est dû à la stabilité thermique de la CIA par rapport à l'HA. Les spectroscopies FTIR et Raman montrent la présence d'un faible taux de phase amorphe et d'oxyapatite. Nous avons également développé une nouvelle méthode semi-quantitative par cartographie Raman permettant de déterminer l'homogénéité de composition du dépôt. Enfin, nous avons montré que l'adhérence des dépôts de CIA au substrat déterminée suivant la norme ASTM C633 est équivalente à celle de l'HA. La réponse biologique des dépôts a été étudiée *in vitro* avec des cellules pré-ostéoblastes humaines sur les deux compositions CIA et HA. Les tests montrent que quelle que soit la composition du dépôt, la prolifération cellulaire augmente au cours du temps d'incubation. Une étude *in vivo* a été menée sur un modèle animal ovin en site fémur et humérus pour des durées de 2 et 6 mois afin d'évaluer le potentiel ostéoconducteur des dépôts d'HA et de CIA. Aucune réaction inflammatoire n'a été observée et l'interprétation des résultats d'analyses histologiques et physico-chimiques est en cours.

Abstract

Plasma-sprayed hydroxyapatite (HA) has been shown to enhance bone apposition as compared with uncoated metal implants. In spite of their good clinical performances, implant bio-integration is still limited due to the poor adhesion of HA-coating on the titanium surface and the decomposition of HA into several foreign phases during plasma spray. The plasma-spray process was thus considered not to be optimum for HA coatings. To circumvent these disadvantages, other types of calcium phosphates have been proposed to replace HA, such as tricalcium phosphate or biphasic calcium phosphate with little improvement. Chlorapatite (CIA) however has never been tested despite its ability to melt without decomposition which could be a decisive advantage to avoid apatite decomposition and could increase coating crystallinity.

This work concern the synthesis and the characterization of apatitic calcium phosphate as coating for endoprostheses and dental implants.

The syntheses of the different apatite powders were performed by solid-solid reaction, in aqueous solution or by molten salt reaction. Several apatites were studied: fluorapatite, fluorhydroxyapatite, chlorapatite and strontium substituted apatite. The as-synthesized powders are pure, well crystallized and stoichiometric.

The thermal properties of apatite powders were compared using thermogravimetric analysis. The thermal stability of CIA and its melting without decomposition allows to obtain deposits with no secondary phases and with a degree of crystallinity close to 100 %. We have therefore chosen CIA and HA as feedstock powders to achieve coatings. The as-synthesized CIA powder was deposited on a titanium substrate using a novel low energy plasma mini-gun characterized by a low power range (< 13 kW) and portability allowing in-situ coating deposition designed for dental and orthopedic small implants with complex geometry. The plasma spray with the mini-gun gives thin and adherent coatings. It also provides economic benefits such as low energy and a higher yield of feedstock powder than conventional gun. The structural and microstructural properties of CIA and HA coatings performed under the same conditions were evaluated by X-ray diffraction, Raman and infrared spectroscopy. X-ray diffraction analyses on the CIA and HA coatings indicate the presence of crystalline apatite as the only crystalline phase. However, the crystallinity ratio of CIA coatings was much higher than that of HA coatings but superior to the required standard in both cases. This difference is due to the thermal stability of CIA powder. IR and Raman spectroscopy shows the presence of low levels of amorphous phase and oxyapatite. We have also developed a new semi-quantitative method by Raman imaging in order to determine coating homogeneity. The mechanical properties of coatings were determined according to the standard test measurements ASTM C633. The adhesion of CIA coatings to the substrate is equivalent to HA coatings. The biological response of the coatings was studied *in vitro* with human pre-osteoblast cells on both CIA and HA coatings. Tests show that whatever the composition of coating, cell proliferation increases with time of incubation. The *in vivo* osteoconductive properties of coatings were studied in femur and humerus sites of an ovine animal model during 2 and 6 months. No inflammatory reaction has been observed and the interpretation of histological and physico-chemical results is in progress.

Sommaire

<i>ABREVIATIONS</i>	5
<i>INTRODUCTION GENERALE</i>	6
<i>GLOSSAIRE</i>	12
<i>CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</i>	13
I. LES TISSUS CALCIFIES.....	14
I-1. Généralités.....	14
I-2. Le tissu osseux.....	14
I-3. Les dents	17
II. LES BIOMATERIAUX.....	18
II-1 .Les métaux : cas du titane et de ses alliages	20
II-2. Les phosphates de calcium.....	21
II-2-1. Le phosphate tricalcique	22
II-2-2. Le phosphate tétracalcique.....	24
II-2-3. Le phosphate de calcium amorphe	25
II-3. Les apatites phosphocalciques.....	26
II-3-1. L’hydroxyapatite	27
II-3-2. La fluorapatite et la fluorhydroxyapatite	31
II-3-3. La chlorapatite.....	34
II-3-4. La chlorapatite calcostrontique	37
III. Applications des revêtements de phosphates de calcium	41
III-1. Généralités	41
III-2. Les prothèses orthopédiques et implants dentaires	43
III-2-1. Choix des matériaux et traitement de surface	43
III-2-2. Les revêtements d’hydroxyapatite sur implants et prothèses	46
IV. Procédés de recouvrement appliqués aux phosphates de calcium	47
IV-1. Généralités	47
IV-2. Dépôt par électrophorèse (EPD)	48
IV-3. Dépôt par la méthode sol-gel.....	49
IV-4. Dépôt par ablation laser (PLD).....	50
IV-5. Dépôt par la méthode CVD	51
IV-6. Dépôt par projection plasma.....	52

CHAPITRE II : ELABORATION ET ETUDE DES PROPRIETES DES POUDRES D'APATITES PHOSPHOCALCIQUES STECHIOMETRIQUES POUR LA PROJECTION PLASMA	54
<u>PARTIE A</u> : Synthèse et caractérisations physico-chimiques des poudres	56
I. Etude expérimentale de L'HA stoechiométrique.....	56
I-1. Description de l'hydroxyapatite utilisée	56
I-2. Caractérisation physico-chimique de l'hydroxyapatite.....	56
I-3. Conclusion.....	63
II. Synthèse et caractérisation de La fluorapatite et de la fluorhydroxyapatite	63
II-1. Synthèse et caractérisation de la fluorapatite (FA).....	63
II-2. Synthèse de la fluorhydroxyapatite	67
II-3. Caractérisation physico-chimique de la fluorhydroxyapatite-50	69
II-4. Conclusion.....	74
III. Synthèse et caractérisation de la chlorapatite stoechiométrique	74
III-1 Synthèse de la chlorapatite stoechiométrique.....	74
III-2. Caractérisation physico-chimique de la chlorapatite.....	75
III-3. Conclusion	80
IV. Etude expérimentale des chlorapatites calcostrontiques	81
IV-1. Synthèse des apatites calcostrontiques	81
IV-2. Caractérisation physico-chimique des apatites calcostrontiques	81
IV-3. Conclusion	87
<u>PARTIE B</u> : Etude expérimentale de la stabilité thermique des poudres	88
I. Analyse ATD/ATG couplée à la spectroscopie (FTIR)	88
I-1. Protocole opératoire	88
I-2. Résultats	89
II. Caractérisation des poudres après traitement thermique.....	92
II-1. Protocole opératoire.....	93
II-2. Analyse thermogravimétrique	93
III. Conclusion	98
<u>PARTIE C</u> : Discussion	99
Conclusion et perspectives	102

CHAPITRE III : REVETEMENTS D'HYDROXYAPATITE ET DE CHLORAPATITE OBTENUS PAR MINI-TORCHE PLASMA.....	103
I. ELABORATION DES DEPOTS	105
I-1. Choix et préparation du substrat.....	105
I-2. Projection thermique par mini-torche plasma à basse énergie	105
I-3. Elaboration des dépôts	107
II. CARACTERISATION DE LA SURFACE.....	109
II-1. Analyse de la surface des dépôts par MEB/EDS	109
II-2. Mesure de la rugosité de surface des dépôts.....	113
II-3. Conclusion.....	115
III. ANALYSE STRUCTURALE DES DEPOS	116
III-1. Caractérisation par diffraction des rayons X	116
III-2. Caractérisation par spectroscopie infrarouge	122
III-3. Caractérisation par micro-spectroscopie Raman.....	124
III-4. Conclusion	132
IV. ETUDE DE L'INTERFACE DEPOT/SUBSTRAT	133
IV-1. Préparation et observation des échantillons	133
IV-2. Observations par microscopie électronique à balayage	135
IV-3. Analyse par micro-spectroscopie Raman	136
V. ETUDE DE L'ADHERENCE MECANIQUE DES DEPOTS.....	142
V-1. Mesure de l'adhésion/cohésion des dépôts plasma	143
V-2. Mesure de l'adhérence des dépôts par micro-rayure (scratch-test).....	145
VI. ETUDE DE LA BIOACTIVITE DES REVETEMENTS.....	147
VI-1. Caractérisation par diffraction des rayons X	148
VI-2. Caractérisation par spectroscopie infrarouge (FTIR).....	150
VI-3. Observation par microscopie électronique à balayage.....	154
VI-4. Conclusion	154
VII. ETUDE DE LA DISSOLUTION DES DEPOTS	155
VII-1. Généralités	155
VII-2. Etude expérimentale	156
VII-3. Résultats	158
VIII. DISCUSSION.....	160
IX. CONCLUSION	167

CHAPITRE IV : TRANSFERT INDUSTRIEL DE LA TORCHE BASSE ENERGIE ET EVALUATIONS BIOLOGIQUES 168

PARTIE A : Optimisation des paramètres de projection à basse énergie d'une torche plasma conventionnelle 170

I. Rappel bibliographique sur les effets des paramètres de projection plasma	170
II. Procédure expérimentale	171
III. ESSAI 1 : Influence des paramètres de projection en condition conventionnelle (haute énergie)	172
IV. ESSAI 2 : Modification du gaz plasmagène et influence de la puissance de la torche en condition basse énergie.....	175
V. ESSAI 3 : Influence du préchauffage du substrat et du traitement thermique post-projection en condition basse énergie	178
VI. ESSAI 4 : Influence de la distance de tir en basse énergie.....	181
VII. Conclusion	185

PARTIE B : Etude de la biocompatibilité des revêtements d'apatites élaborés dans les conditions basse énergie..... 186

I. MATERIAUX ET METHODES	186
II. RESULTATS.....	188
III. CONCLUSION	190

PARTIE C : Conclusion et Description de l'étude in vivo 191

I. Discussion-conclusion	191
II. Description de l'étude <i>in vivo</i> chez le mouton	192

CONCLUSION GENERALE 195

Liste des publications et communications issues de ce projet..... 199

REFERENCES 201

ANNEXES..... 214

Annexe 1	215
Annexe 2	224

Abréviation

ACP	Phosphate de calcium amorphe
ATG	Analyse thermogravimétrique
ATD	Analyse thermique différentielle
BET	Mesure de surface spécifique, méthode de Brunauer-Emmet-Teller
CaO	Oxyde de calcium
CIA	Chlorapatite
DRX	Diffraction des rayons X
EDS	Détecteur à rayons X à dispersion d'énergie
EDTA	Acide éthylène diamine tétracétique
FA	Fluorapatite
FHA	Fluorhydroxyapatite
FTIR	Spectroscopie d'absorption infrarouge à transformée de Fourier
HA	Hydroxyapatite
ICP/OES	Spectrométrie d'émission optique par plasma à couplage inductif
IR	Infrarouge
JCPDS	Joint Committee on Powder Diffraction Standards
MEB	Microscopie électronique à balayage
MTBE	mini-torche plasma à basse énergie
OA	Oxyapatite
OHA	Oxy-hydroxyapatite
SBF	Simulated body fluid
SrAp	Apatite calcostrontique
TCPa	phosphate tricalcique apatitique
TCPam	phosphate tricalcique amorphe
α-TCP	phosphate tricalcique de type α
β-TCP	phosphate tricalcique de type β
TTCP	phosphate de calcium tétracalcique (<i>tetracalcium phosphate</i>)

Introduction générale

Aujourd'hui, l'augmentation de l'espérance de vie et l'exigence en matière de qualité de vie jusqu'à un âge avancé nécessite la mise au point de techniques et matériaux de réparation des lésions tissulaires, en particulier au niveau des articulations, qui soient de plus en plus efficaces, facilement transposables à grande échelle et dont le coût de revient pour notre société reste raisonnable. En effet, le cartilage articulaire permet les mouvements des articulations et protège l'os sous-jacent contre les agressions mécaniques et traumatiques. Plusieurs pathologies (obésité, ostéoporose, arthrose ...) et/ou traumatismes (fracture du col du fémur,..) sont la source de douleur et d'immobilisation principalement chez des patients âgés mais également chez des jeunes. Cependant la durée de vie limitée des implants, souvent plus courte que l'espérance de vie des patients, conduit de plus en plus fréquemment à effectuer des opérations chirurgicales de reprises, lourdes et coûteuses.

A l'heure actuelle, la pose d'une prothèse totale de hanche est la seule option raisonnable pour maintenir la mobilité, alléger voire éliminer la douleur et bénéficier d'une vie confortable même à un âge avancé. Plus de 130 000 prothèses de hanche sont implantées par an en France dont 15% environ sont des cas de reprise de prothèse.

Les revêtements bioactifs à base de phosphates de calcium se sont développés car ils permettent une réparation osseuse plus rapide et ils pourraient accroître la durée de vie des prothèses orthopédiques et dentaires en facilitant leur intégration au tissu osseux. Compte tenu de leur bioactivité et de leur ostéoconduction, ces revêtements favorisent le développement de tissu osseux et contribuent à l'adhésion et à la prolifération des cellules osseuses tout en gardant l'intégrité mécanique du dispositif métallique de l'implant (Caulier, Hayakawa et al. 1997; Rey 1998; Lind, Overgaard et al. 1999). En particulier, les dépôts d'hydroxyapatite (HA) réalisés par projection plasma ont été employés pour améliorer la bioactivité et l'ancrage chimique de l'implant métallique (De Groot, Geesink et al. 1987; Gross and Berndt 1998).

Toutefois, l'introduction de ce procédé a donné lieu à plusieurs controverses et des échecs ont eu lieu notamment avec des implants dentaires en titane recouverts de dépôts d'hydroxyapatite (HA) obtenus par projection plasma. En effet, plusieurs défauts altèrent encore la qualité de l'interface implant-tissu et sa biointégration, notamment la mauvaise adhésion du revêtement au métal, sa dégradation et son écaillage avec le temps.

Ce phénomène est en partie attribuable à la décomposition de l'hydroxyapatite au cours du recouvrement par projection plasma (Cheang and Khor 1996; Gross and Berndt 1998; Sun, Berndt et al. 2001) et à la formation de phases minérales plus solubles que l'hydroxyapatite qui peuvent être rapidement dégradées en milieu biologique (Gross and Berndt 1998; Heimann 2006) : la formation d'une phase amorphe et d'une ou plusieurs phases cristallines ont été reportées. La phase amorphe, notamment, est facilement formée au cours de la projection plasma (Gross, Berndt et al. 1998). La phase cristalline contient des particules

d'HA et une phase oxyapatite formée en raison de la perte de groupements hydroxyde de l'HA pendant la projection (Trombe 1972; Ranz 1996; Gross, Berndt et al. 1998). Plusieurs études ont signalé la présence de phosphate tricalcique, phosphate tétracalcique et d'oxyde de calcium dans les dépôts d'hydroxyapatite élaborés par projection plasma (Gross, Berndt et al. 1998; Carayon and Lacout 2003; Heimann 2006). Cependant, la composition des dépôts obtenus après projection plasma reste variable et dépend de nombreux facteurs notamment des conditions de projection et des caractéristiques physico-chimiques des poudres et du substrat.

L'étude des phénomènes qui interviennent durant le processus de formation des dépôts a fait l'objet de nombreux travaux (De Groot, Geesink et al. 1987; Cheang and Khor 1996; Gross and Berndt 1998; Heimann 2006; Lima and Marple 2007). Ainsi, il a été établi que la formation d'un dépôt résulte de la combinaison du phénomène d'écrasement et de solidification rapide de particules totalement ou partiellement fondues transportées par le plasma sur le substrat et du balayage de la surface à traiter. Ce processus d'écrasement fait intervenir un mécanisme complexe qui dépend d'une part des caractéristiques des particules elles-mêmes (vitesse, composition chimique, température, degré de fusion), et d'autre part de celles du substrat (nature, rugosité, température).

Afin de pallier aux difficultés liées à la décomposition de l'HA, d'autres phosphates de calcium ont été proposés en remplacement de l'hydroxyapatite, toutefois avec peu de succès, comme le phosphate tricalcique et le phosphate de calcium biphasique. La fluorapatite ainsi que la fluorhydroxyapatite ont été utilisées pour l'élaboration de revêtements par projection plasma et ont prouvé leur succès clinique (Ranz 1996; Gineste, Gineste et al. 1999; Bhadang and Gross 2004). La chlorapatite (CIA) par contre, n'a jamais été étudiée en tant que revêtement d'implants malgré sa stabilité thermique et sa fusion sans décomposition, qui pourrait permettre d'éviter la formation des phases étrangères et d'augmenter le taux de cristallinité du dépôt.

Le développement de revêtements bioactifs adhérents sur des objets de petite taille et de différentes formes géométriques, comme les implants dentaires, les cages de fusion vertébrale, soulève d'autres difficultés. Il requiert non seulement la connaissance des aspects structuraux et thermiques mais aussi une bonne maîtrise du procédé ainsi que des paramètres de projection plasma et une bonne maniabilité de la torche.

Les systèmes de projection actuels ne permettent pas de déposer des couches fines et homogènes en raison de la taille élevée des particules inhérente au procédé. Le rendement est assez mauvais (10 à 20 % de la masse d'apatite injectée est réellement déposée). Le système est peu précis et nécessite des masquages manuels des parties à protéger associés à des nettoyages.

Peu d'études ont été engagées à la fois sur le rôle des propriétés physico-chimiques des poudres initiales destinées aux dépôts et des paramètres de projection plasma. Une telle approche présente cependant un intérêt certain pour la mise en œuvre du procédé de projection plasma à l'aide de nouveaux dispositifs (torches).

Une mini-torche plasma a été conçue par nos partenaires de la région basque espagnole avec pour objectif l'amélioration de la qualité des dépôts et l'extension de leur champ d'application. Cette mini-torche permet de réaliser des dépôts fins adhérents sur des substrats de petites tailles. La mise au point d'un procédé plus versatile, précis et économique serait un avantage décisif pour les sociétés impliquées dans ces activités. Parmi les avantages conceptuels du système on peut citer : un petit diamètre de la flamme et une distance de projection plus courte offrant une plus grande précision, des énergies plus faibles (13 kW), une grande maniabilité et facilité de mise en œuvre, et des coûts d'investissement et de fonctionnement compétitifs.

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre du projet Nanomed2, «*Revêtements céramiques nano-structurés pour implants médicaux*» (2008-2011), du programme de recherche européen MNT-ERA-NET financé par la Région Midi-Pyrénées, OSEO, et la Région Basque Espagnole. Ce projet de recherche et transfert de technologies comporte en parallèle une contribution à la mise au point d'une mini-torche plasma fonctionnant à basse énergie conçue par nos collaborateurs, ainsi que la synthèse de nouvelles poudres destinées au revêtement de prothèses.

Parmi les améliorations visées :

(i) La mini-torche basse énergie (MTBE), permettra de disposer d'un procédé plus économique, plus précis avec un rendement amélioré et permettant la réalisation de dépôts fins et plus adhérents sur des implants de petite dimension.

(ii) Les nouvelles poudres mieux adaptées à ce nouveau procédé devraient permettre la réalisation de revêtements plus stables, durables et aux performances biologiques accrues.

Le but ultime est de proposer des équipements de production des dépôts performants et faciles à rentabiliser, sous licence, à des développeurs indépendants pour favoriser la diffusion du nouveau procédé. Le nouveau procédé devrait permettre un élargissement des applications à des implants de petite taille. Nous visons également une amélioration des performances biologiques des revêtements réalisés avec de nouvelles poudres d'apatites ce qui permettrait d'élargir le domaine d'application des prothèses revêtues tout spécialement chez les patients âgés aux capacités d'ostéosynthèse diminuées.

Les partenaires industriels et académiques du projet Nanomed2, coordonné par l'Institut Carnot CIRIMAT, sont issus de la région basque espagnole et de la région Midi-Pyrénées :

1. *Institut Carnot CIRIMAT-INPT-ENSIACET* *Toulouse*
Pr. Christian Rey ; Dr. David Grossin ; Dr. Christèle Combes ; Mlle Imane Demnati
2. *INASMET-Tecnalía* *San Sebastian (Espagne)*
M. Inigo Braceras ; Dr. Maria Parco
3. *Projection Plasma System (2PS)* *Montbazens*
M. Gérard Collonges
4. *Société Teknimed* *L'Union*
Dr. Stéphane Goncalves
5. *Iontech* *Irun (Espagne)*
Dr. I.Fagoaga
6. *Service de chirurgie des animaux de compagnie, ENVT* *Toulouse*
Dr. Didier Mathon ; Pr. André Autefage
7. *Département de cytologie et anatomie pathologique, CHR Rangueil* *Toulouse*
Dr. Anne Brouchet-Gomez ;
8. *BTI-dental implant system* *Vitoria (Espagne)*

Le projet ayant démarré un an avant le début de ce travail de thèse. Durant cette première année les partenaires espagnols ont pu développer puis breveter la mini-torche basse énergie (MTBE) de projection plasma (Barykin 2008). Cette partie a été principalement réalisée par les docteurs M. Parco (Inasmet), I. Fagoaga (Iontech) qui ont réalisé les revêtements à l'aide de la MTBE et les essais mécaniques normalisés.

Ce manuscrit est structuré en 4 chapitres de la manière suivante :

- Un chapitre de revue bibliographique présentant un état de l'art sur les biomatériaux de substitution osseuse et en particulier le titane et les phosphates de calcium, les implants orthopédiques et dentaires ainsi qu'une description des principaux procédés de recouvrement de prothèses.
- Dans le chapitre 2, nous présenterons la synthèse et la caractérisation physico-chimique de différentes poudres d'apatites phosphocalciques.
- Le troisième chapitre porte sur l'élaboration de revêtements d'apatites sur un substrat en titane par projection plasma à l'aide d'une mini-torche basse énergie et l'étude détaillée des revêtements obtenus à partir de poudres de chlorapatite ou d'hydroxyapatite .
- Le chapitre 4 est divisé en deux parties. La première porte sur l'étude de l'influence des paramètres de projection par torche industrielle en configuration basse énergie sur les propriétés de revêtements obtenus. La deuxième présente les résultats de l'étude de l'adhésion et de la prolifération de cellules, ainsi que la description de l'évaluation préliminaire *in vivo* chez le mouton qui est en cours.

Introduction générale

Enfin, une conclusion générale reprend les discussions et les conclusions et perspectives majeures de ce travail.

Glossaire

<u><i>Biocompatibilité :</i></u>	capacité d'un matériau à être accepté par un être vivant.
<u><i>Biotolérance :</i></u>	correspond au degré minimal de la biocompatibilité. Un matériau biotoléré peut avoir des effets nocifs. Il se recouvre d'une enveloppe fibreuse d'encapsulation assez épaisse.
<u><i>Bioinerte :</i></u>	le biomatériau n'a pas d'effet nocif et l'enveloppe fibreuse d'encapsulation est très fine voire inexistante.
<u><i>Bioactivité :</i></u>	capacité d'un matériau à interagir de façon positive avec l'organisme en accélérant les processus de réparation tissulaire. On observe un contact direct entre le tissu et le matériau.
<u><i>Biorésorption :</i></u>	capacité d'un matériau à se résorber et à être remplacé par un tissu vivant.
<u><i>Ostéoconduction :</i></u>	capacité d'un matériau à favoriser la formation du tissu osseux lorsqu'il est mis en contact avec un os.
<u><i>Ostéoinduction :</i></u>	capacité d'un matériau à engendrer la formation de tissu osseux lorsqu'il est implanté en site extra-osseux.

CHAPITRE I :

Revue bibliographique

Cette revue bibliographique a pour objectif de situer notre travail dans un contexte plus général. La première partie concerne la présentation succincte des tissus calcifiés en particulier les os et les dents. Ensuite, nous présenterons les biomatériaux de substitution osseuse et nous détaillerons en particulier l'état de l'art concernant les biomatériaux métalliques ainsi que ceux à base de phosphates de calcium puis des revêtements de phosphates de calcium sur implant métallique. Enfin, nous terminerons par la présentation des différents procédés de dépôts.

I. LES TISSUS CALCIFIES

I-1. Généralités

L'étude des tissus biologiques calcifiés a une place importante dans le développement des matériaux et des procédures chirurgicales et/ou thérapeutiques permettant la réparation de ces tissus. Selon Weiner et Wagner, les tissus calcifiés des vertébrés constituent une famille de matériaux qui résultent tous de la minéralisation des fibres de collagène (Wagner and Weiner 1992). On distingue deux types de tissus calcifiés plus ou moins minéralisés présents dans le corps humain et celui de nombreux vertébrés : la dent et le tissu osseux.

Le Tableau 1.1 permet de comparer les compositions et les propriétés des tissus durs chez l'adulte (os, email, dentine) avec celles de l'hydroxyapatite stœchiométrique (HA), le phosphate de calcium synthétique de structure et de composition proches de celles du minéral apatitique rencontré dans ces tissus calcifiés.

I-2. Le tissu osseux

Le tissu osseux est le support mécanique essentiel du squelette ; il permet la locomotion, transmet les forces issues de la contraction musculaire d'une partie du corps à une autre pendant le mouvement et assure la protection des organes internes. Outre son importance capitale sur le plan biomécanique, il constitue un réservoir métabolique de sels minéraux, en particulier de calcium et contribue ainsi à la régulation de la composition du fluide extracellulaire.

Tableau 1.1 : Compositions et paramètres de la maille cristallographique de l'hydroxyapatite stœchiométrique et de l'apatite constituant l'os, la dentine et l'émail, d'après (LeGeros 1981) et (Elliott 1994).

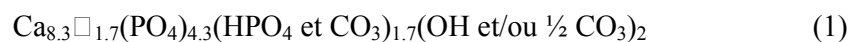
	Os	Dentine	Email	HA
Composition (% massique)				
Phase inorganique (minérale)	65.0	70.0	97.0	100.0
Phase organique	25.0	20.0	1.0	-
Eau	10.0	10.0	1.5	-
Composition phase minérale (% massique)				
Calcium	34.8	35.1	36.5	39.6
Phosphore	15.2	16.9	17.7	18.5
→ Rapport atomique Ca/P	1.71	1.61	1.62	1.67
Sodium	0.9	0.6	0.5	Trace
Potassium	0.03	0.05	0.08	Trace
Magnésium	0.72	1.23	0.44	Trace
Carbonate	7.4	5.6	3.5	-
Fluor	0.03	0.06	0.01	-
Chlore	0.13	0.01	0.30	-
Pyrophosphates	0.07	0.10	0.022	-
Éléments traces: Sr^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} ...	Trace	Trace	Trace	-
Paramètres de la maille hexagonale (Å)				
	a = 9.41	a = 9.421	a = 9.44	a = 9.418
	c = 6.89	c = 6.882	c = 6.88	c = 6.884

Le tissu osseux est un tissu conjonctif spécialisé assimilable à un matériau composite. Il est constitué de fibres organiques, le collagène, intimement associées à une phase minérale à base d'apatite phosphocalcique (Glimcher 1989). L'os est constitué d'une matrice extracellulaire et de cellules osseuses : les ostéoblastes, les ostéocytes et les ostéoclastes.

C'est une structure dynamique en perpétuel remaniement (remodelage osseux) : il est continuellement produit par les ostéoblastes, modifié par les ostéocytes et détruit par les ostéoclastes et possède la capacité de se régénérer lorsqu'il est endommagé (Figure 1.1).

Au cours de la minéralisation, les sels emmagasinés dans l'os prennent progressivement la place de l'eau naturellement associée aux fibres de collagène. Les ions calcium et phosphate se combinent pour former la phase apatitique.

La dureté et la rigidité du tissu osseux sont dues à la présence de nanocristaux d'apatite au sein de la matrice collagénique. Les nanocristaux d'apatite précipités ont une composition chimique moyenne qui peut être représentée par la formule suivante d'une apatite carbonatée déficiente en calcium (Legros *et al.* 1986) :



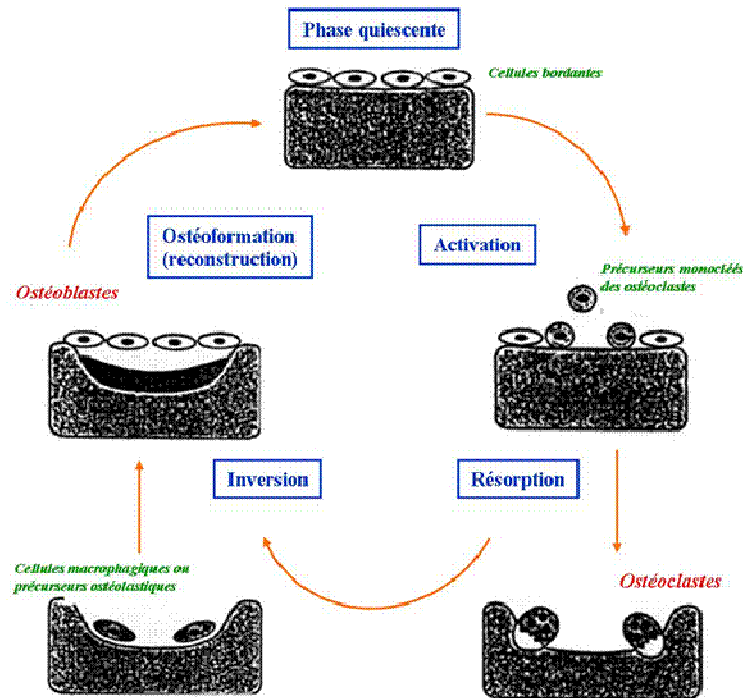


Figure 1.1 : Description schématique du remodelage osseux

Il a été démontré que ces apatites biologiques ainsi que leurs analogues de synthèse ont une très grande réactivité de surface et présentent de fortes capacités d'échanges ioniques et d'adsorption de protéines, engendrant des interactions avec les fluides biologiques environnants (Figure 1.2). Ces propriétés pourraient être liées à l'existence d'environnements ioniques non apatitiques présents dans une couche hydratée structurée à la surface de ces nanocristaux d'apatite (Rey *et al.* 1989).

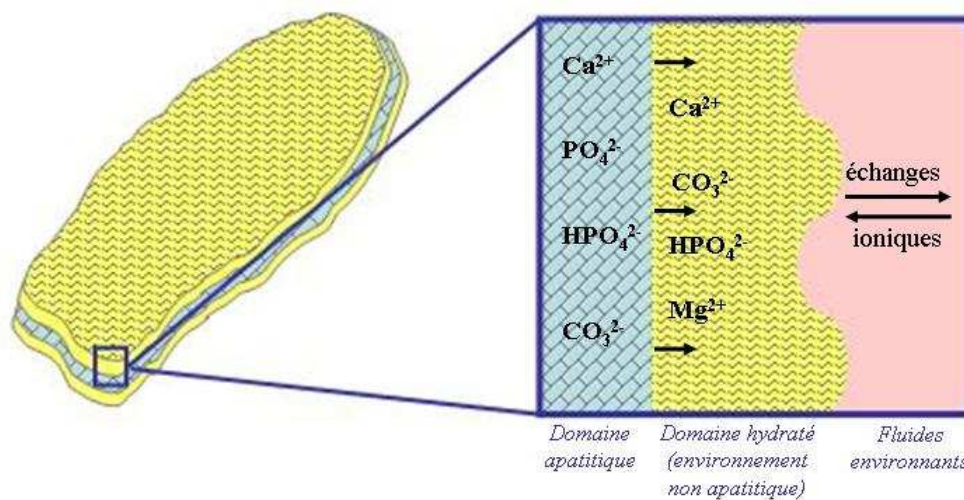


Figure 1.2 : Schéma représentant le modèle de la couche hydratée à la surface d'un nanocristal d'apatite biologique sous forme de plaquette, d'après (Rey *et al.* 1989)

Avec le vieillissement de la population, les pathologies liées à la dégénérescence tissulaire sont de plus en plus nombreuses. Parmi elles, il existe des maladies dues à la dégradation du tissu cartilagineux (pathologies rhumatismales) ou osseux (ostéoporose).

Ces deux types de pathologies peuvent conduire à une perte de la fonction articulaire, soit directement, soit indirectement à l'issue des traumatismes tels que les fractures fémorales.

Il est aujourd'hui possible de pallier ces défaillances par des prothèses à base de divers types de matériaux (polymères, métaux...), choisis en fonction du tissu ou de l'articulation d'origine à substituer (ménisque, fémur...).

I-3. Les dents

Les dents sont les deuxièmes tissus calcifiés normaux rencontrés chez les vertébrés (Lowenstam and Weiner 1989). Constituées d'une couronne et d'une racine dont le collet forme la séparation anatomique, les dents sont composées de trois tissus minéralisés : l'émail (à l'extérieur), la dentine (à l'intérieur) et le cément (entre la dentine et l'os) (Figure 1.3),

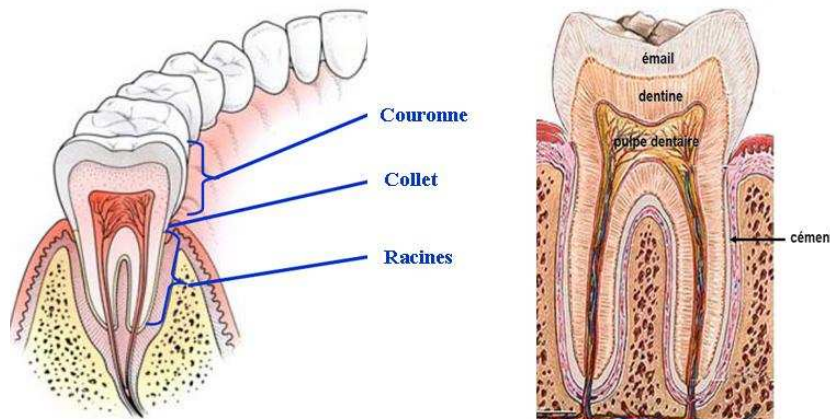


Figure 1.3 : Coupe transversale d'une dent montrant ses différentes composantes

L'émail forme la surface de la couronne. Il constitue la substance la plus minéralisée et la plus dure de l'organisme (97% de minéral, contre 70% pour la dentine), (Tableau 1.1). L'émail est composé de 1% seulement de matière organique, le reste est constitué d'eau (Williams and Elliott 1989). Il est à noter que la composition chimique de la phase inorganique de l'émail se rapproche de celle de l'hydroxyapatite stoechiométrique.

La dentine ou ivoire entoure la pulpe dentaire et forme la majeure partie de la dent. Elle est entièrement recouverte, soit par l'émail, soit par le cément. C'est une matrice extracellulaire calcifiée composée de 70% de phase minérale, 20% de phase organique (dont 18% de collagène), le reste étant constitué d'eau (Williams and Elliott 1989). La majorité de cette matière inorganique est constituée d'apatite. La dentine contient du collagène ce qui la rend moins dure que l'émail (Dean 2006).

L'émail dentaire contient des cristaux d'apatite plus grands que ceux du minéral osseux et de la dentine et sa phase organique est dépourvue de collagène. Bien que de compositions différentes l'émail, la dentine et l'os sont constitués d'une phase minérale présentant une même structure cristallographique : celle d'une hydroxyapatite carbonatée déficiente en calcium (Schroeder and Frank 1985; Bres *et al.* 1990).

II. LES BIOMATERIAUX

En référence à la définition qui a été proposée lors du congrès de la société européenne de biomatériaux en 1986 à Chester (Rey 1995), les biomatériaux sont des matériaux non vivants conçus et utilisés dans un dispositif médical destinés à interagir avec les systèmes biologiques à des fins thérapeutiques ou préventives. La notion de biomatériau est entièrement contenue dans la nécessaire prise en compte du contact temporaire ou permanent de ces matériaux avec des tissus ou fluides vivants.

En relation directe avec l'existence d'un contact avec des tissus ou des fluides biologiques, la notion de *biocompatibilité* est essentielle dans le domaine des biomatériaux. Elle est définie par le fait qu'après implantation, le biomatériau ainsi que ses produits de dégradation ne doivent pas induire de fortes réactions inflammatoires, cytotoxiques et/ou allergiques.

Le concept de biocompatibilité est complété par la notion très actuelle de *bioactivité*, par laquelle l'on souhaite que le biomatériau ne soit pas nécessairement inerte, mais au contraire qu'il soit capable de réagir avec le tissu vivant. C'est par exemple le cas des matériaux ostéoconducteurs à base de phosphates de calcium qui facilitent la croissance osseuse au contact du tissu osseux.

Les biomatériaux actuellement employés sont de composition et de structure très diverses (Tableau 1.2). Dans un premier temps, les matériaux biologiques naturels (Tableau 1.2) provenant soit du patient lui-même (autogreffe), soit d'un donneur (allogreffe), soit d'un animal (xenogreffe) ont été utilisés. Ces matériaux ont généralement une grande affinité avec le site récepteur, néanmoins leurs utilisations restent limitées à cause de l'insuffisance de tissu disponible (autogreffe), parfois de sa mauvaise qualité (en cas d'ostéoporose par exemple), de la carence de certains tissus endogènes et des difficultés techniques à les utiliser (greffes de cartilage par exemple) ainsi que du risque de contamination qu'ils comportent. Il faut également considérer que les traitements obligatoires (congélation, stérilisation aux rayons γ , lyophilisation, traitements thermiques...) que subissent ces matériaux peuvent altérer leurs propriétés biologiques et mécaniques. Ces matériaux naturels tendent à être de moins en moins utilisés, au profit des produits synthétiques capables de se conformer à des normes strictes et présentant une qualité constante, facilement stockables et disponibles immédiatement.

Ces considérations ont poussé les praticiens à se tourner vers l'utilisation de biomatériaux d'origine synthétique à base de différentes classes de matériaux : métaux et alliages, céramiques, polymères, composites (Tableau 1.2). Ces biomatériaux peuvent être disponibles en grande quantité, limitent les risques de contamination, et leur coût peut être maîtrisé.

Tableau 1.2 : Classification des biomatériaux (Muster *et al.* 1999)

Biomatériaux d'origine non vivante	
<i>Biomatériaux métalliques</i>	
Métaux purs	* précieux (Au, Ar, Pt) * non précieux (Ti, Ta, W, Nb)
Alliages métalliques	* aciers inoxydables (316L, ...) * de titane (TiAl6V4, TiAl5Fe2.5, ...) * chrome-cobalt (avec ou sans W, Mo, Ni)
Composés inter-métalliques	* amalgames dentaires Ag-Sn-Ag * à mémoire de forme (Nitinol,...)
<i>Biomatériaux céramiques</i>	
Céramiques bio-inertes	* à base d'oxydes (Al ₂ O ₃ , ZrO ₂ , ...) * à base de carbures et de nitrures (Si, Ti) * carbones (vitreux, pyrolytique, quasi-diamant ...)
Céramiques bioactives	* à base de phosphates de calcium (HA, TCP, OCP, ...) * à base d'autres sels de calcium (carbonates, sulfates, aluminates)
<i>Biomatériaux à base de polymères de synthèse</i>	
Non résorbables	
Elastomères	* silicones, polyuréthanes,
Plastiques	* thermodurcissables (résines époxy, triazines, ...) * thermoplastiques (PMMA, PHEMA, PVA, PE, PTFE, ...)
Biorésorbables	* PGA, PLA, polydioxanone, ...
<i>Biomatériaux composites de synthèse</i> (organique-organique, minéral-minéral, organo-minéral)	
Biomatériaux d'origine biologique	
Végétale	* bois et dérivés (cellulose, ...) squelette d'algues rouges
Humaine & Animale	* dérivés tissulaires allogéniques ou xénogéniques (dent, os, cartilage, collagène, fibrogène, chitine, corail, ...)
Biomatériaux composites mixtes	
Biomatériaux d'origine biologique associés à des biomatériaux d'origine non vivante	

Le choix du biomatériau utilisé se fait en fonction de ses propriétés chimiques, biologiques, mécaniques ainsi que du site où sera placé l'implant.

II-1. Les métaux : cas du titane et de ses alliages

Le titane est un métal abondant sur Terre. Il est le quatrième élément métallique le plus abondant après le fer, l'aluminium et le magnésium.

Le titane pur est commercialisé sous plusieurs qualités en fonction de la teneur en oxygène dissous et en fer. Sa résistance mécanique augmente avec la teneur en oxygène.

Des propriétés mécaniques élevées ont été obtenues par l'emploi du titane sous forme d'alliages notamment l'alliage Ti6Al4V (ou TA6V) qui contient 90 % de titane, 6 % d'aluminium et 4 % de vanadium. Il est l'alliage commercial le plus répandu en particulier pour les applications aérospatiales. Il est également très utilisé dans le domaine biomédical pour l'élaboration de prothèses orthopédiques et dentaires (prothèse totale de hanche, implants dentaires,...). Par rapport au titane pur, les alliages Ti6Al4V présentent une conductivité thermique environ moitié moindre et une limite de fatigue supérieure d'environ 50 %. L'alliage TA6V présente une excellente tenue à la corrosion et à la fatigue-corrosion, mais il faut remarquer que ces propriétés ne peuvent être optimisées que par des techniques industrielles rigoureuses. L'élimination des irrégularités de surface et des contaminants lors de la réalisation d'un matériel destiné à l'implantation est importante, comme pour tous les métaux.

Au cours des quinze dernières années, les préoccupations concernant les possibles effets négatifs du relargage du vanadium dans l'organisme ont servi de prétexte au développement d'alliages nouveaux dont le Ti5Al2,5Fe.

Les inconvénients du titane sont essentiellement liés à son comportement médiocre à l'usure et à la survenue d'une coloration bleue ou noire dans les tissus voisins. La grande sensibilité à l'usure du titane, qui peut induire la libération de particules d'oxydes de titane ou d'alliages de titane dans les tissus environnants, peut provenir de frottements (surfaces articulaires), de micromouvements (contact avec l'os ou avec le ciment), de l'abrasion (par les tissus environnants) et du contact métal-métal (délibéré ou involontaire). Des solutions à ces problèmes sont la nitruration en surface par plasma froid ou l'implantation ionique d'azote.

La biocompatibilité de chaque métal est régie par le degré de corrosion et la toxicité des ions métalliques libérés. Pour le titane, son excellente résistance à la corrosion et le taux très bas de diffusion des ions métalliques à l'intérieur des tissus, associés à l'apparente absence d'effets biologiques du métal, contribuent à une bonne biocompatibilité. Ceci a été confirmé par diverses études cliniques et expérimentales, toutes en faveur d'une réponse tissulaire minimale à ce métal (Borsa 2008). Toutefois, la biocompatibilité du titane et de ses alliages n'est pas toujours idéale en raison de la destruction de la couche de passivation (oxydes de titane) par les forces de cisaillement. Les modifications qui en résultent dans les charges de

surface peuvent conduire à des modifications majeures de la conformation des protéines adsorbées, qui vont, à leur tour, entraîner une réaction biologique (Borsa 2008).

En résumé, bien que d'un coût élevé, le titane présente un certain nombre d'avantages. Il est bien accepté par les tissus durs ou mous, sa résistance à la fatigue-corrosion est nettement supérieure à celle des autres alliages métalliques utilisés en implantologie, grâce à une fine couche de passivation spontanée (25 – 100 Å), faiblement soluble. Son élasticité est plus proche de celle de l'os (deux fois celle de l'acier). En général, les produits de corrosion sont bien tolérés et il n'y a pas de réactions immunologiques défavorables (hypersensibilité, allergie) décrites chez l'homme. Toutefois, certains cas de sensibilisation ont été décrits chez l'animal et récemment chez l'homme : ils sont en général le fait des alliages (TiAlV) (Borsa 2008).

Le titane et l'alliage TA6V sont assez largement utilisés en orthopédie et en chirurgie cardiovasculaire, et la tendance générale est de les préférer de plus en plus aux autres métaux. Il en est de même en chirurgie orale et maxillo-faciale notamment des implants dentaires, des attelles porte-greffons, dans la reconstruction mandibulaire, les plaques d'ostéosynthèse et la reconstruction crânienne.

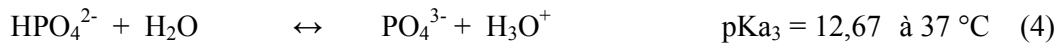
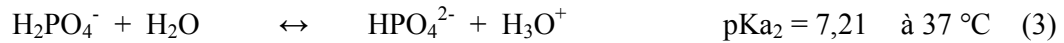
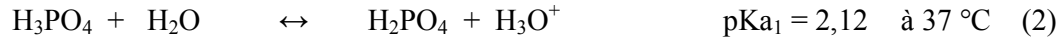
D'autre part, l'option du recouvrement des prothèses métalliques avec une phase céramique s'est développée depuis quelques années, en vue d'améliorer la qualité de l'interface implant-tissu et par conséquent permettre une meilleure biointégration de l'implant. Le recouvrement à base d'hydroxyapatite sur certaines parties de prothèses fémorales, de genoux, de cheville permet de faciliter la fixation de la prothèse au tissu osseux environnant. On n'observe plus de tissu fibreux, l'os se forme même à la surface de l'implant (Ducheyne *et al.* 1990). En France, près de 40% des prothèses mises en place sont recouvertes d'hydroxyapatite. L'état de l'art sur les procédés de dépôts à la surface des prothèses métalliques sera présenté dans la suite de ce chapitre.

II-2. Les phosphates de calcium

Les orthophosphates de calcium sont les constituants inorganiques les plus importants des tissus calcifiés chez les vertébrés. Ils sont présents sous forme d'hydroxyapatite carbonatée dans l'os, les dents et les tendons et assurent leurs stabilité et dureté et participent à leurs fonctions biologiques (Dorozhkin and Epple 2002).

Les phosphates de calcium présentent de nombreuses compositions chimiques mais également des structures cristallines variées.

Les sels de phosphates de calcium constituent une grande famille de composés minéraux issus de la neutralisation de la première, la deuxième ou la troisième acidité de l'acide orthophosphorique dont les trois constantes d'acidité sont indiquées ci-après.



Selon le degré de neutralisation, on obtient les orthophosphates monocalciques, dicalciques ou tricalciques. Il est aussi possible d'obtenir des composés plus basiques comme l'hydroxyapatite et l'orthophosphate tétracalcique.

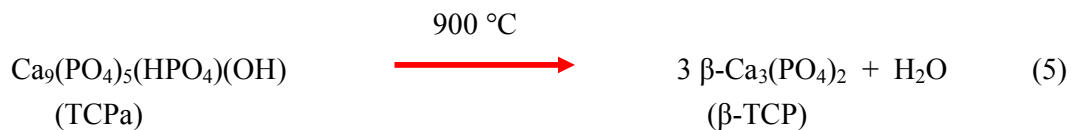
Les principaux sels de phosphates de calcium sont reportés dans le Tableau 1.3 en fonction leur rapport atomique Ca/P. De nombreux substituts osseux synthétiques à base de phosphates de calcium sont commercialisés et étudiés que ce soit sous forme de poudre, de fibres, de céramiques frittées, de ciments ioniques ou encore de revêtements sur substrat métallique.

II-2-1. Le phosphate tricalcique

Le terme phosphate tricalcique regroupe une famille de composés dont le rapport Ca/P est égal à 1.5 et qui correspondent à la neutralisation des trois acidités de l'acide phosphorique (Tableau 1.3) :

- Le phosphate tricalcique amorphe (TCPam) de formule chimique $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2, n\text{H}_2\text{O}$
- Le phosphate tricalcique apatitique (TCPa) de formule chimique $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_5(\text{HPO}_4)(\text{OH})$
- Le phosphate tricalcique de type α ou β (α et β TCP) : $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

Le phosphate tricalcique de type β est le plus communément utilisé. Il peut s'obtenir par calcination d'un phosphate de calcium, e.g. une hydroxyapatite déficiente en calcium (avec un Ca/P = 1.5) à 800 °C ou un phosphate tricalcique apatitique à 900 °C (Heughebaert and Montel 1977) selon l'équation suivante :



Le $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ présente une structure rhomboédrique dont les paramètres cristallographiques sont reportés dans le Tableau 1.3 et dans la fiche JCPDS 09-169 (Annexe 2).

A haute température le $\beta\text{-TCP}$ se transforme en $\alpha\text{-TCP}$ à 1125°C. La préparation de ce dernier est effectuée généralement par calcination du phosphate tricalcique β à 1400 °C suivie d'une trempe rapide.

En effet, la forme α est une phase métastable à température ambiante (Dorozhkin and Epple 2002) Elle présente une structure monoclinique dont les paramètres cristallographiques sont reportés dans le Tableau 1.3 et dans la fiche JCPDS 9-348 (Annexe 2).

Tableau 1.3 : Liste des principaux orthophosphates de calcium avec leurs caractéristiques physico-chimiques

Composé	Formule chimique	Groupe d'espace	Paramètres de maille (en Å)	Z	Densité	rapport Ca/P
Phosphate monocalcique anhydre (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	triclinique P1	$a=7.5577(5)$, $b=8.2531(6)$, $c=5.5504(3)$ $\alpha=109.87(1)$, $\beta=93.68(1)$, $\gamma=109.15(1)$	2	2.58	0.5
Phosphate monocalcique monohydraté (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	triclinique P1	$a=5.6261(5)$, $b=11.889(2)$, $c=6.4731(8)$ $\alpha=98.633(6)$, $\beta=118.262(6)$, $\gamma=83.344(6)$	2	2.23	0.5
Phosphate dicalcique anhydre (DCPA: monétite)	CaHPO_4	triclinique P1	$a=6.910(1)$, $b=6.627(2)$, $c=6.998(2)$ $\alpha=96.34(2)$, $\beta=103.82(2)$, $\gamma=88.33(2)$	4	2.89	1.0
Phosphate dicalcique dihydraté (DCPD: brushite)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	monoclinique Ia	$a=5.812(2)$, $b=15.180(3)$, $c=6.239(2)$ $\beta=116.42(3)$	4	2.32	1.0
Phosphate octocalcique (OCP)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	triclinique P1	$a=19.692(4)$, $b=9.523(2)$, $c=6.835(2)$ $\alpha=90.15(2)$, $\beta=92.54(2)$, $\gamma=108.65(1)$	1	2.61	1.33
Phosphate tricalcique α (α -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	monoclinique P21/a	$a=12.887(2)$, $b=27.280(4)$, $c=15.219(2)$ $\beta=126.20(1)$	24	2.86	1.5
Phosphate tricalcique β (β -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	rhomboédrique R3cH	$a=b=10.439(1)$, $c=37.375(6)$ $\gamma=120$	21	3.07	1.5
Phosphate de calcium amorphe (ACP)	$\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y \cdot n\text{H}_2\text{O}$					1.2 - 2.2
Hydroxyapatite déficiente en calcium (CDHA)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ($0 < x < 1$)					1.5 - 1.67
Hydroxyapatite (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	monoclinique P2 ₁ /b ou	$a=9.84214(8)$, $b=2a$, $c=6.8814(7)$ $\gamma=120$	4	3.16	1.67
		hexagonal P6 ₃ /m	$a=b=9.4302(5)$, $c=6.8911(2)$ $\gamma=120$	2		
Phosphate tétracalcique (TTCP)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	monoclinique P2 ₁	$a=7.023(1)$, $b=11.986(4)$, $c=9.473(2)$ $\beta=90.90(1)$	4	3.05	2.0

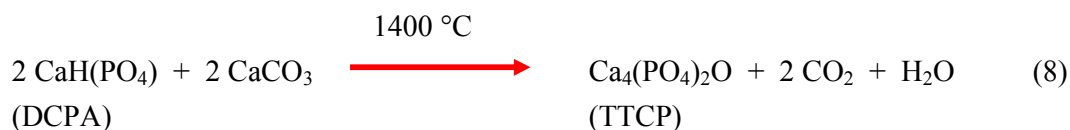
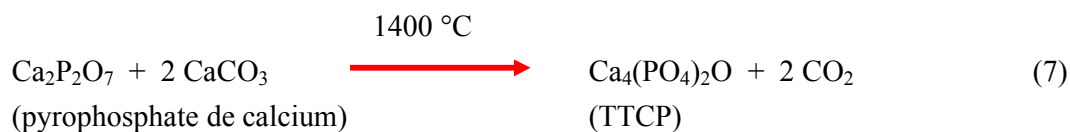
Le β -TCP est la variété de phosphate tricalcique la moins soluble dans l'eau. On ne le trouve jamais dans les tissus calcifiés. Il existe par contre, dans les organismes vivants, une phase isostructurale contenant du magnésium appelée « Whitlockite » de formule chimique : (LeGeros *et al.* 1994; LeGeros 2001) On trouve cette forme dans les calculs salivaires et les caries dentaires, l'urine, le cartilage arthrosique ainsi que dans certains tissus mous.

En médecine, le β -TCP est utilisé dans la préparation des ciments phosphocalciques pour comblement osseux (Mirtchi *et al.* 1989a; Mirtchi *et al.* 1989b; Mirtchi *et al.* 1990) et commercialisé également sous forme de céramique biphasique (BCP) en association avec l'hydroxyapatite (Nery *et al.* 1992; Daculsi *et al.* 1999).

II-2-2. Le phosphate tétracalcique

Le phosphate tétracalcique (TTCP) est le composé phosphocalcique qui possède le rapport atomique Ca/P le plus élevé. Il est le plus basique des orthophosphates de calcium mais sa solubilité dans l'eau est supérieure à celle de l'hydroxyapatite (Fernandez *et al.* 1999a; 1999b).

De formule chimique : $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$, il est obtenu par réaction solide/solide à haute température (1400 °C) puis trempé à la température ordinaire dans l'azote liquide. On peut l'obtenir en faisant réagir le pyrophosphate de calcium ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) et le carbonate de calcium (CaCO_3) (Eq. 7) ou à partir d'un mélange équimolaire homogène de phosphate dicalcique anhydre (DCPA) et de carbonates de calcium sous air sec (Eq. 8).



Le TTCP présente une structure monoclinique dont les paramètres cristallographiques sont reportés dans le Tableau 1.3 et dans la fiche JCPDS 25-1137 (*Annexe 2*). Il n'est pas très stable en solution aqueuse et s'hydrolyse lentement en hydroxyapatite et en hydroxyde de calcium (Elliott 1994). Par conséquent, on ne le trouve jamais à l'état naturel. Cependant, il est très souvent utilisé dans la préparation des ciments phosphocalciques.

II-2-3. Le phosphate de calcium amorphe

Le phosphate de calcium amorphe (ACP) est souvent rencontré comme phase de transition durant la formation des phosphates de calcium en solution aqueuse. Habituellement, l'ACP constitue la première phase obtenue par co-précipitation rapide d'une solution sursaturée de calcium et d'une solution de phosphate. La composition chimique de l'ACP dépend fortement de la valeur du pH de la solution de co-précipitation (Termine and Eanes 1972; Eanes *et al.* 1973; Wuthier *et al.* 1985).

La structure de l'ACP reste incertaine ; son spectre d'absorption infrarouge montre des bandes larges correspondant aux groupements phosphates mais ne s'apparentant à aucun composé phosphocalcique connu.

L'analyse par diffraction des rayons X montre que l'ACP est un composé amorphe. Cependant, la microscopie électronique de ce composé met en évidence la présence de particules sphériques avec un diamètre compris entre 20 et 200 μm au sein desquelles une organisation à courte distance de type structure apatitique est très probable. Cette hypothèse est soutenue par la spectroscopie d'absorption des rayons X (EXAFS ; Extended X-ray absorption fine structure) sur des phosphates de calcium amorphes d'origine biologique et synthétique (Taylor *et al.* 1998; Peters *et al.* 2000).

Une étude effectuée par Betts et Posner montre que l'unité structurale basique des ACP est d'un diamètre égal à 9.5 Å. Elle est globalement composée de groupements sphériques ayant la composition chimique $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$ (Betts and Posner 1974b; 1974a).

Ces groupements ont été découverts expérimentalement comme constituants des germes au cours de la cristallisation de l'hydroxyapatite, et un modèle descriptif de cette cristallisation a été proposé montrant que la cristallisation de l'HA consiste en un assemblage progressif de ces unités d'ACP (Onuma and Ito 1998).

L'ACP est utilisé dans la préparation des ciments phosphocalciques (Khairoun *et al.* 1998; Knaack *et al.* 1998; Combes *et al.* 2006) ainsi que de certains composites bioactifs à base de polymères et destinés au comblement osseux et/ou dentaire (Skrtic, Antonucci *et al.* 1996; Skrtic, Hailer *et al.* 1996; Schiller, Siedler *et al.* 2001).

II-3. Les apatites phosphocalciques

Les apatites constituent une famille de composés isomorphes de formule chimique :



dans laquelle « Me » représente un cation divalent (Ca^{2+} , Ba^{2+} , Sr^{2+} , Pb^{2+}), XO_4 un anion trivalent (PO_4^{3-} , VO_4^{3-} , AsO_4^{3-}) et Y un anion monovalent (OH^- , Br^- , Cl^- , F^-). Leur structure se caractérise par l'existence de tunnels où se localisent les ions Y⁻. La présence de ces tunnels offre une mobilité remarquable aux ions qu'ils renferment et autorise des substitutions aisées au sein du réseau (Elliott 1994).

Plusieurs recherches ont permis de développer considérablement les connaissances sur les apatites phosphocalciques élaborées en milieu aqueux et un grand nombre de paramètres agissant sur leur structure et leur composition chimique ont été maîtrisés. Une précipitation lente, à des températures élevées (100 °C) et des pH appropriés (12-13), aboutit à des hydroxyapatites proches de la stœchiométrie (Trombe 1967)

La substitution des sites trivalents XO_4 par des ions bivalents HPO_4^{2-} et CO_3^{2-} est également possible. Le rééquilibrage des charges s'effectue notamment grâce à la création de lacunes cationiques ou anioniques. Il peut conduire à des apatites déficientes, mal cristallisées, analogues au minéral osseux.

Les applications biomédicales des apatites phosphocalciques restent très vastes. Grâce à leurs excellentes propriétés de biocompatibilité et de bioactivité, l'hydroxyapatite est largement utilisée en tant que substitut osseux sous forme de bloc céramique, de ciment ou de poudre. Il a été démontré que les dépôts à base d'hydroxyapatite favorisent le développement du tissu osseux sur le dispositif prothétique et contribuent à l'adhésion et à la prolifération des cellules osseuses. Par ailleurs, d'autres apatites phosphocalciques telles que la fluorapatite et la chlorapatite possèdent de très bonnes propriétés physico-chimiques et thermodynamiques et ces composés pourraient conduire à des revêtements de meilleure qualité.

II-3-1. L'hydroxyapatite

L'hydroxyapatite phosphocalcique (HA) est l'ultime phosphate de calcium dans le système $\text{CaO-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$. La maille cristalline contient un motif $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ et sa structure cristallographique résulte d'un empilement hexagonal des groupements PO_4 qui forment deux types de tunnels parallèles à l'axe c dans lesquels se localisent les ions Ca^{2+} (Figure 1.4).

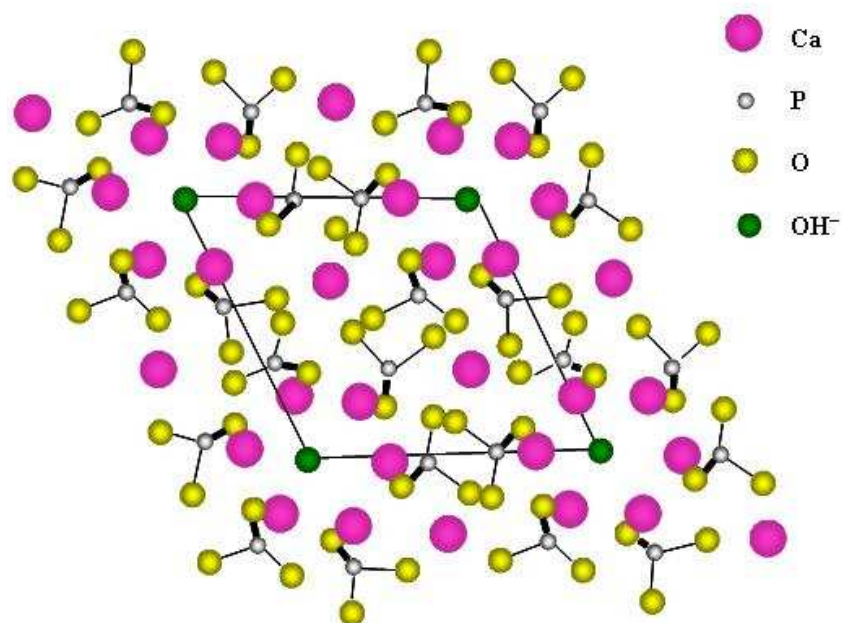
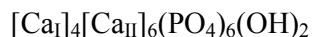


Figure 1.4 : Projection sur le plan de base (001) de la maille de l'hydroxyapatite selon Young (Young 1973)

Dans le premier tunnel, 4 ions calcium (Ca_I) se positionnent à $z=0$ et $\frac{1}{2}$. Ces cations Ca_I sont entourés de 9 atomes d'oxygène qui forment un tunnel de diamètre de 2,5 Å environ. Le second type de tunnel, d'un diamètre de 3 à 4,5 Å contient les 6 autres cations (Ca_{II}) qui se localisent à $z = \frac{1}{4}$ et $\frac{3}{4}$ en formant 2 triangles équilatéraux alternés autour de l'axe sénaire hélicoïdal. Les ions OH^- se logent le long de cet axe. La coordination des ions Ca_{II} est égale à 7. En tenant compte des sites cristallographiques du calcium, on peut donc représenter l'HA par la formule suivante :



La présence de ces tunnels confère aux apatites des propriétés d'échangeurs d'ions. Au cours de ces échanges ioniques, la structure cristallographique reste inchangée mais les paramètres de maille (a et c) sont modifiés. Les substitutions de valence différente nécessitent une compensation de charges qui peut être réalisée soit par une substitution couplée soit par la création de lacunes. Ces dernières peuvent se localiser en sites cationiques Ca^{2+} ou anioniques OH^- . De ce fait, certaines synthèses d'hydroxyapatites peuvent conduire à des composés non-

stœchiométriques en raison de l'introduction d'ions hydrogénophosphates HPO_4^{2-} ou carbonates CO_3^{2-} dans le réseau cristallin.

Il existe trois grandes voies de synthèse des apatites : la synthèse par précipitation, par voie sèche et par voie liquide-solide.

La synthèse par précipitation est une voie qui regroupe les méthodes de synthèse par double décomposition et par neutralisation. Ces procédés sont les plus utilisés pour la production industrielle de l'hydroxyapatite et permettent d'obtenir une hydroxyapatite stœchiométrique.

Ces méthodes consistent en une précipitation lente à températures élevées et à pH basique contrôlé. On peut citer la neutralisation à la chaux (Walleys 1952; Trombe 1972) et la synthèse par double décomposition d'un sel de calcium et d'un sel de phosphore selon la méthode de Trombe (Trombe 1972). L'HA est facilement identifiable par diffraction des rayons X (JCPDS 09-432) (Figure 1.5), ses paramètres cristallographiques sont présentés dans le Tableau 1.3. Les raies de diffraction intenses, fines et bien résolues témoignent de sa bonne cristallinité.

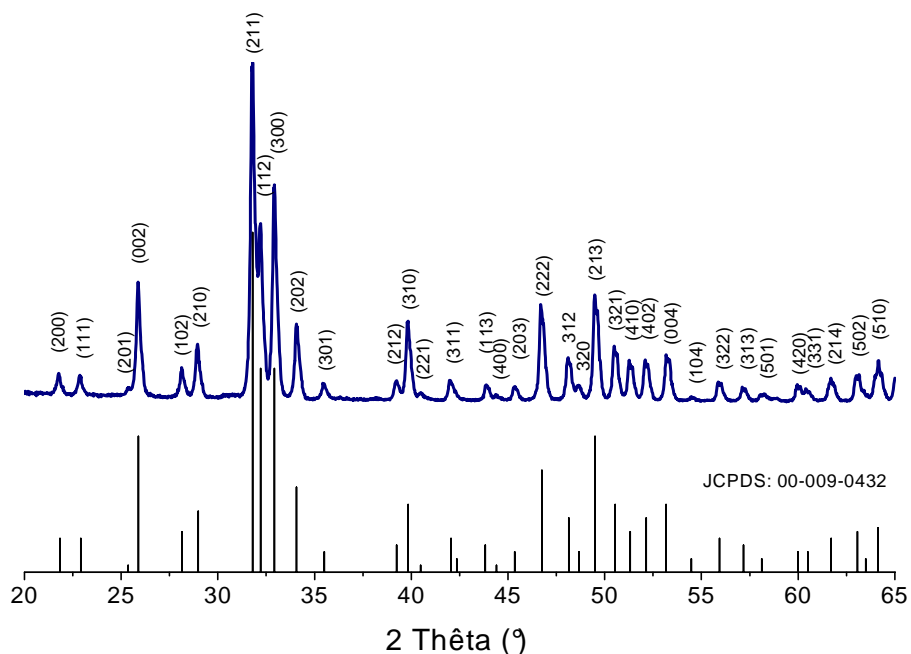


Figure 1.5 : Diagramme de DRX d'une hydroxyapatite stœchiométrique

La composition chimique de l'HA est déterminée par le rapport atomique Ca/P : celui-ci est de 10/6 (1.67) pour une hydroxyapatite stœchiométrique. Le rapport Ca/P peut être déterminé par des dosages chimiques du calcium et du phosphore dans l'apatite. Ce rapport peut varier et atteindre les valeurs limites de 8/6 (1.33) pour une hydroxyapatite contenant un maximum d'ions HPO_4^{2-} (2 par maille) et de 8/4 (2) pour une HA contenant un maximum d'ions CO_3^{2-} (hydroxyapatite carbonatée). La composition qualitative (présence d'ions HPO_4^{2-} et/ou CO_3^{2-}) de l'hydroxyapatite peut être déterminée par spectroscopie infrarouge à transformée de

Fourier (FTIR) (Trombe and Montel 1973) (Figure 1.6) et/ou micro-spectroscopie Raman (Figure 1.7).

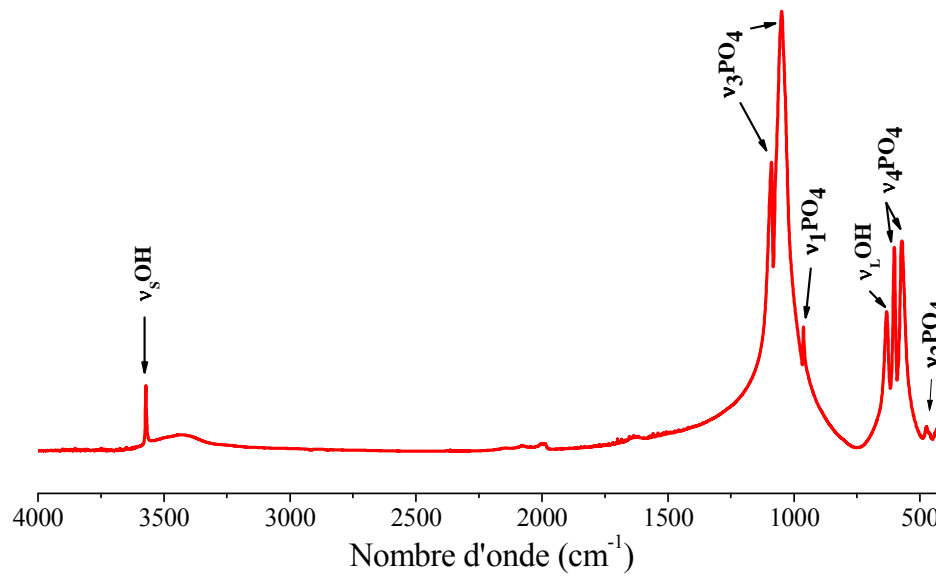


Figure 1.6 : Spectre FTIR d'une hydroxyapatite stœchiométrique

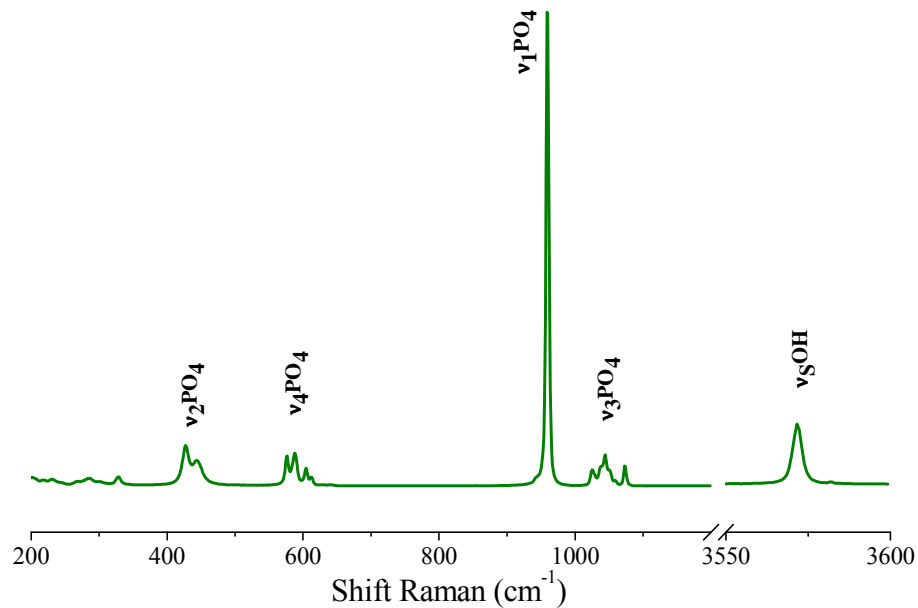


Figure 1.7 : Spectre Raman d'une hydroxyapatite stœchiométrique

L'HA présente une structure très stable. Sa décomposition thermique n'intervient qu'à des températures élevées (1300 °C) (Figure 1.8).

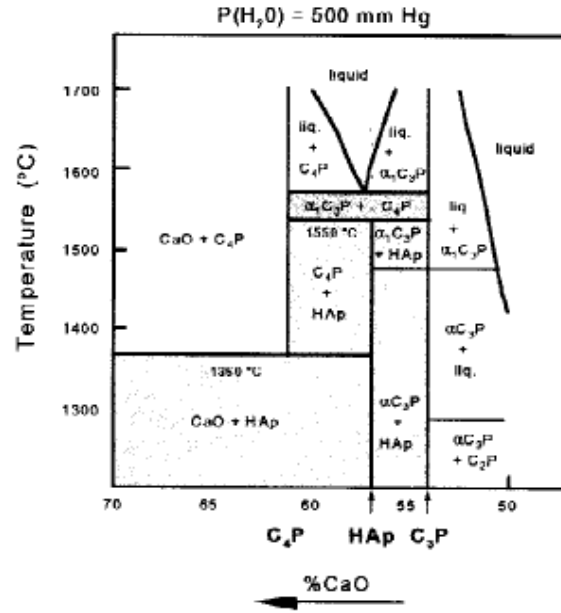
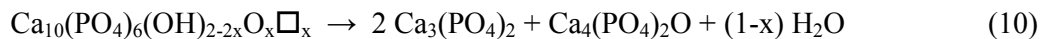
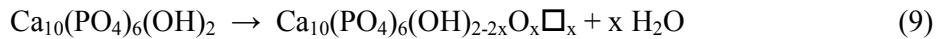


Figure 1.8 : Diagramme de phase du système CaO-P₂O₅ (C=CaO, P= P₂O₅) à P = 500 mm Hg (Gross and Berndt 1998)

A des températures avoisinant les 1000 °C, l’hydroxyapatite commence à perdre ses ions hydroxyles. Ce phénomène engendre une deshydroxylation partielle de l’HA conduisant à la formation de l’oxy-hydroxyapatite (ou l’oxyapatite dans le cas d’une deshydroxylation complète). A 1300 °C, l’oxyapatite se décompose en phosphate tricalcique et phosphate tétracalcique avant de se transformer en oxyde de calcium et en une phase liquide à 1640 °C.



Des entreprises du secteur des biomatériaux comme TOMITA, TEKNIMED, BIOPOWDERS adoptent des méthodes de synthèse permettant d’obtenir des poudres d’hydroxyapatite phosphocalcique stœchiométrique dont le rapport atomique Ca/P est égal à 1.67 et répondant aux normes internationales pour implants chirurgicaux (ISO 13779-3 : 2008).

L’utilisation de poudres d’apatites plus résistantes à la décomposition que l’HA peut être envisagée en vue de limiter la formation des produits de décomposition et d’améliorer la cristallinité des dépôts. Des apatites telles que la fluorhydroxyapatite (FHA) qui n’auraient pas ces inconvénients pourraient être utilisées. D’autres apatites intéressantes n’ont pas encore été testées, comme la chlorapatite qui fond sans se décomposer.

II-3-2. La fluorapatite et la fluorhydroxyapatite

Le rôle du fluor en tant qu'agent résistant à l'attaque acide est bien connu. Il a été utilisé depuis plusieurs années dans le domaine biomédical pour traiter des maladies impactant la densité osseuse telles que l'ostéoporose ou pour accroître la résistance à l'attaque de l'émail dentaire (Nakade *et al.* 1999; Kim *et al.* 2003).

Les apatites fluorées ont été largement étudiées durant les dix dernières années en raison de leurs grandes stabilités chimique et thermique (Figure 1.9). De manière générale, la substitution des ions hydroxyde par des ions fluorure améliore la résistance à la dissolution acide (Young *et al.* 1969; Christoffersen *et al.* 1984). Farley *et al.* ont montré que les ions fluorure favorisent la minéralisation et la formation de l'os en stimulant la prolifération et la différenciation des cellules osseuses (Farley *et al.* 1983) Toutefois, l'excès de fluor peut produire des troubles de croissance associés à divers désordres du squelette (exemple: fluorose).

Plusieurs techniques ont été utilisées pour caractériser la fluorapatite, en particulier la diffraction des rayons X ainsi que la spectroscopie d'absorption infrarouge.

Les raies de diffraction d'une fluorapatite pure sont reportées sur la Figure 1.10 (JCPDS 15-876). La substitution des ions hydroxyle par les ions fluorure engendre une diminution du paramètre « a » et une légère augmentation du paramètre « c » de la maille.

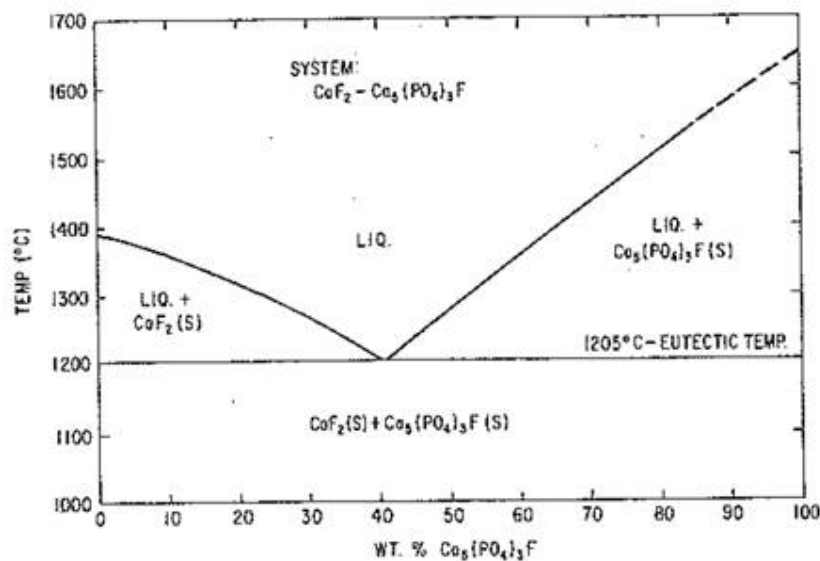


Figure 1.9 : Diagramme de phase du système $\text{CaF}_2\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

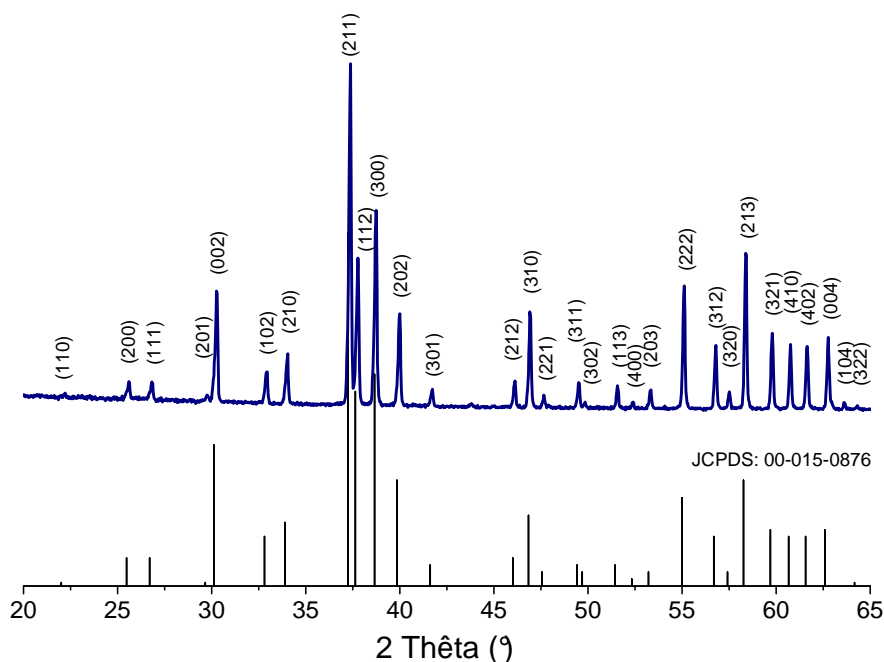


Figure 1.10 : Diagramme de DRX d'une fluorapatite stœchiométrique ; (CoK α 1)

La fluorapatite peut être synthétisée selon différentes voies qui sont décrites ci-après.

Synthèse par voie sèche :

Par voie sèche, on peut obtenir la fluorapatite selon deux méthodes différentes :

- La première méthode de synthèse est réalisée à partir d'un mélange d'orthophosphate tricalcique et de fluorure de calcium chauffé à haute température (Wallaeys 1952; Montel 1958; Hamad 1980). Cette réaction est généralement conduite à 900 °C sous gaz secs (argon ou hélium) afin d'éviter tout phénomène d'hydrolyse des ions fluorures au cours du chauffage et avec un excès de 5% de CaF₂ pour faciliter la réaction. Cependant, la fluorapatite obtenue est non stœchiométrique et déficiente en calcium (Hamad 1980).

- La deuxième méthode est une fluoruration gazeuse à haute température (Amrah-Bouali 1993) en faisant réagir une hydroxyapatite stœchiométrique avec du fluorure d'ammonium selon l'équation ci-dessous :



Le principe de cette synthèse consiste à placer la poudre d'hydroxyapatite dans le centre d'un four tubulaire dont le tube est balayé par un flux de gaz inerte. Le fluorure d'ammonium est placé en aval de la nacelle contenant l'échantillon d'apatite, à une température avoisinant 165 °C pour obtenir une sublimation lente. La formation de fluorapatite est observée à partir de 500 °C et la fixation du fluor résulte d'une diffusion ionique dans le réseau apatitique. Le taux

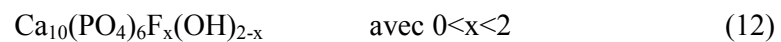
du fluor introduit dans l'apatite augmente avec la température de traitement et la mobilité ionique dans le réseau. Toutefois ce procédé a révélé qu'à basse température, l'HA se décompose en réagissant avec le gaz et conduit à la formation d'impuretés (fluorure de calcium et phosphate fluoré amorphe).

Cette voie de synthèse se heurte à plusieurs difficultés en la transposant à l'échelle industrielle notamment le taux de fluoruration difficilement contrôlable (Amrah-Bouali 1993), le coût de revient assez élevé ainsi que les risques de contamination du four par le fluor.

Synthèse par voie aqueuse :

La synthèse par voie aqueuse offre la possibilité de fluorurer l'hydroxyapatite en solution avec des taux de fluor maîtrisés. Le principe consiste à mettre en solution l'hydroxyapatite stœchiométrique calcinée avec la quantité stœchiométrique d'ions fluorure. Les travaux de Amrah-Bouali (Amrah-Bouali 1993) ont conclu que les processus de fluoruration en milieu aqueux sont fortement dépendants de la concentration en ions fluorure F^- : échange ionique superficiel entre ions fluorure et hydroxyle et/ou dissolution de l'HA-précipitation de fluorapatite à basse concentration en ions fluorure, et dissolution de l'HA-précipitation du fluorure de calcium à forte concentration en ions fluorure. L'amplitude de ce processus varie considérablement en fonction de la force ionique. Toutefois, les ions fluorure sembleraient favoriser la formation d'apatite stœchiométrique à l'extrême surface, et limitent l'hydrolyse superficielle des ions PO_4^{3-} .

Les méthodes de synthèse déjà citées ne permettent pas d'obtenir une fluorapatite pure et stœchiométrique à la fois. Toutefois la fluorhydroxyapatite (FHA) obtenue est l'une des apatites les moins solubles et les plus résistantes à l'attaque acide. Cette stabilité est liée à l'existence de liaison hydrogène entre les ions fluor et hydroxyde qui stabilisent le réseau (Freund and Knobel 1977). Les fluorhydroxyapatites (FHA) sont des solutions solides de composition :



Si les ions fluorure et hydroxyde se répartissent de façon statistique le long des tunnels, la fluorhydroxyapatite de formule chimique : $Ca_{10}(PO_4)_6F(OH)$ sera la plus stable car elle présentera le maximum d'interactions. En ce qui concerne les revêtements d'implants orthopédiques et dentaires, les travaux de Ranz montrent que la projection plasma de fluorhydroxyapatite permet de réduire la biodégradabilité des dépôts et d'obtenir des revêtements bioactifs, homogènes et bien cristallisés avec moins de décomposition (Ranz 1996).

La fluorhydroxyapatite pourrait être synthétisée soit par voie sèche soit par voie aqueuse. La synthèse par voie sèche est similaire aux deux méthodes citées ci-dessus et consiste en une substitution à l'état solide des ions hydroxyde par des ions fluorure à des températures

proches de 900 °C qui conduit à un dégagement d'eau. Toutefois, comme cela a déjà été mentionné, la voie sèche ne permet pas de contrôler la quantité de fluor introduite dans le réseau et engendre la pollution du four ainsi qu'un coût de production très élevé.

La synthèse par voie aqueuse par contre offre la possibilité de synthétiser la FHA en grande quantité tout en contrôlant le taux de fluor introduit. Les travaux de thèse de X. Ranz se sont concentrés sur l'optimisation de la synthèse de la FHA à travers un plan d'expériences visant à faire varier les différents paramètres de synthèse (température, débit d'ajout de la solution phosphate, pH, masse du fluorure ajoutée...) (Ranz 1996). Le but de ces travaux était de trouver les conditions optimales d'obtention d'une FHA stœchiométrique : température, pH, durée d'ajout de la solution, et % du fluorure dans la structure apatitique.

Beaucoup de biomatériaux contenant du fluor et conçus pour des applications biomédicales en orthopédie n'ont pas encore atteint le stade du développement industriel (à l'exception des verres ionomères pour comblement dentaire) malgré l'existence d'innombrables études scientifiques montrant leurs bonnes propriétés mécaniques, leur stabilité ainsi que leur comportement dans les milieux biologiques en particulier leur bioactivité et biodégradabilité. Ce problème est peut être dû à la difficulté de synthèse des fluorapatites à l'échelle industrielle ainsi qu'à la réticence des praticiens vis-à-vis des biomatériaux fluorés. Parmi les propriétés les plus prometteuses, citons la stabilité des apatites fluorées ainsi que leur dégradation lente.

II-3-3. La chlorapatite

Les produits chlorés ont un ressenti relativement négatif dans l'imaginaire collectif et on les considère souvent comme nocifs. Pourtant des molécules chlorées sont présentes et produites dans l'organisme. Par ailleurs, les ions chlorures sont présents en grande quantité dans le plasma sanguin. Dans le cas de l'os, l'importance des chlorures réside dans leur capacité à développer un environnement acide à la surface de l'os, ce qui active l'action des ostéoclastes et amorce donc le processus de résorption osseuse. La présence des ions chlorure s'avère donc vitale pour le développement de pH acides capables de solubiliser les sels alcalins du minéral osseux et pour synthétiser les matrices organiques sous l'action des hydrolases acides secrétées par les ostéoclastes (Schlesinger *et al.* 1997).

La chlorapatite (CIA) est l'une des apatites les plus anciennement étudiées. La chlorapatite synthétique a été étudiée dès les années 1970 (Mackie *et al.* 1972). Il faut noter qu'il existe deux structures cristallographiques de la chlorapatite. A température ambiante, la chlorapatite a une structure monoclinique (JCPDS 01-70-1454). Celle-ci subit une transition vers la structure hexagonale (JCPDS 33-271) entre 185 et 210 °C (Elliott 1994). Le diagramme de diffraction des rayons X d'une chlorapatite pure est présenté sur la Figure 1.11. Les distances

inter-réticulaires et les intensités relatives des principales raies caractéristiques de la chlorapatite cristallisant dans l'un des deux systèmes cristallins (monoclinique ou hexagonal) sont indiquées dans le Tableau 1.4.

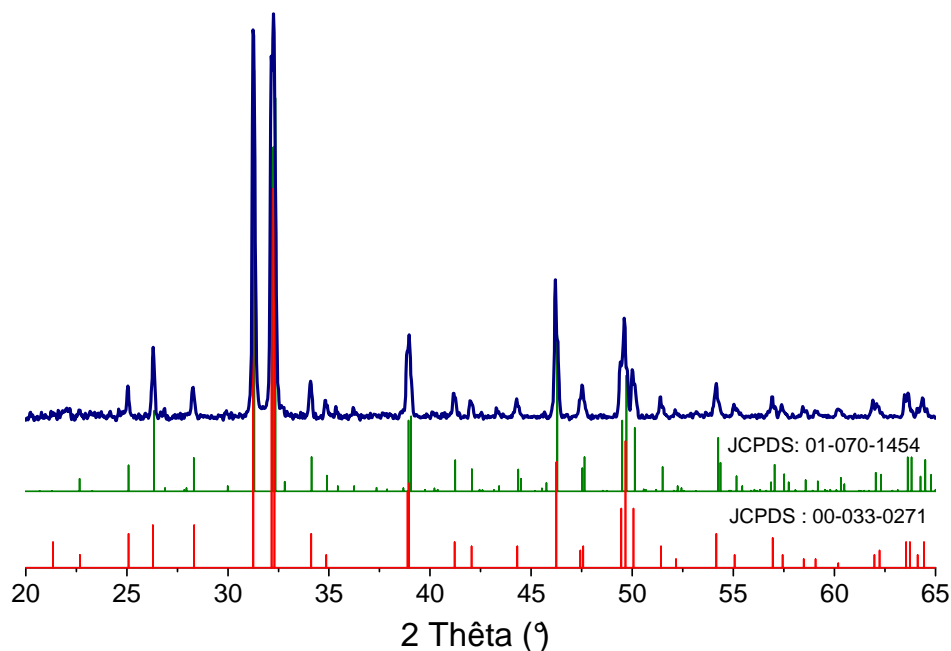


Figure 1.11 : Diagramme de RX d'une chlorapatite stoechiométrique monoclinique comparé aux diagrammes de référence d'une chlorapatite de structure monoclinique (JCPDS 01-070-1454) et hexagonale (JCPDS 00-33-0271)

Tableau 1.4: Distances inter-réticulaires et intensités des principales raies de diffraction des RX de la CIA de structure hexagonale (JCPDS 33-271) et monoclinique (JCPDS 01-70-1454)

Chlorapatite hexagonale			Chlorapatite monoclinique		
d [Å]	I/I ₀	hkl	d [Å]	I/I ₀	hkl
3.39	10	002	3.38	20	002
3.15	10	210	3.15	8	220
2.86	90	211	2.86	100	221
2.78	90	300	2.78	82	300
2.77	100	112	2.77	94	-222
2.32	18	310	2.31	17	160
2.31	20	212	2.30	18	142
1.96	25	222	1.96	37	-442
1.84	14	321	1.84	17	-541
1.83	30	213	1.83	28	-263
1.82	14	410	1.82	15	-580

Le diagramme de phase du système $\text{CaCl}_2\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ présenté sur la Figure 1.12 montre que la température de fusion de la chlorapatite intervient autour de 1550 °C. De plus, aucune décomposition de la chlorapatite n'a été observée.

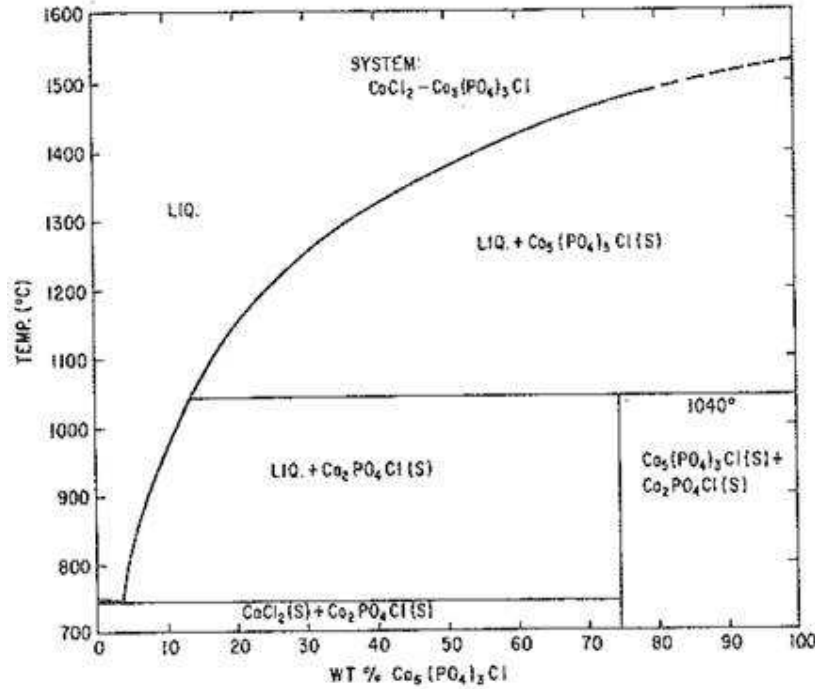


Figure 1.12 : Diagramme de phase du système $\text{CaCl}_2\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

Young et Elliott (Young and Elliott 1966) ont précisé la position du chlore dans la structure de l'apatite. Ils ont montré qu'en raison de son rayon atomique élevé (1.84 Å), cet atome : i) ne pourrait occuper le centre d'un triangle calcium $[\text{Ca}_{\text{II}}]$, comme c'est le cas du fluor dont le rayon atomique est plus faible (1.40 Å), ii) ni être à mi-distance de deux triangles consécutifs. D'après ces auteurs, l'ion chlorure devrait se placer entre les deux plans de calcium, mais légèrement décalé au dessous ou au dessus du plan des atomes d'oxygène situés à $z = \frac{1}{2}$ (Elliott 1994).

Dans la littérature, il existe deux méthodes de synthèse de la chlorapatite (CIA) (Walleys 1951) :

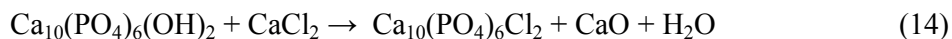
- Par réaction du phosphate tricalcique β avec du chlorure de calcium :



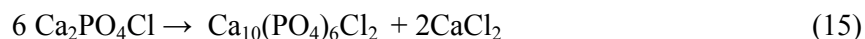
Cette synthèse est assurée en maintenant la température à 850 ± 50 °C pendant une dizaine d'heures sous gaz inerte. Cependant, l'obtention d'un produit secondaire est très probable en particulier la chlorpodiosite de formule chimique $\text{Ca}_2\text{PO}_4\text{Cl}$.

Cette constatation est en accord avec le diagramme de phase établi par Nacken (1912) qui montre qu'à ces températures, il y a formation d'au moins deux phases : la chlorapatite (CIA) et la chlorpodiosite (Figure 1.12). Le deuxième inconvénient de cette méthode de synthèse, est que le traitement thermique de la CIA sous vide conduirait à une CIA déficiente en calcium et en chlorure (Prener 1971).

- l'autre technique proposée par le même auteur consiste à convertir l'HA en présence de CaCl_2 à haute température (environ 800 °C), suivant la réaction indiquée ci-dessous :



La difficulté de cette technique réside dans la faible stabilité thermique du CaCl_2 mais aussi dans la formation de l'oxyde de calcium, qui est ensuite difficile à éliminer par simple lavage. Prener (Prener 1971) a réussi à synthétiser des cristallites de chlorapatite stœchiométrique par traitement thermique à 1040 °C sous balayage d'argon de la chlorpodiosite (Eq. 15). Cette dernière ayant été préalablement préparée par calcination du $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$ à 800 °C sous balayage de l'HCl.



A l'heure actuelle, les protocoles de synthèse disponibles sont simples et facilement reproductibles à grande échelle. Ils permettent de préparer une chlorapatite minéralogiquement pure et conforme aux normes appliquées aux poudres destinées aux applications biomédicales. Parmi les différentes possibilités de substitution au sein de la chlorapatite, nous nous sommes particulièrement intéressés aux chlorapatites calcostrontiques en raison des propriétés biologiques du strontium.

II-3-4. La chlorapatite calcostrontique

II-3-4.1. Le strontium *in vivo*

Le strontium est naturellement présent au sein de la structure de l'os et des dents. Sa quantité dépend principalement de l'alimentation et de l'âge des vertébrés (Marie *et al.* 2001). Dans le corps humain, le strontium est localisé au niveau de l'os (36 à 140 ppm) et, dans une moindre mesure, dans les muscles (0,12 à 0,35 ppm) et le sang (0,031 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$). Chez un individu moyen (70 kg), la masse totale de strontium est de 320 mg. Son comportement dans l'organisme est très proche de celui du calcium, notamment au niveau osseux (Emsley 1993). Au sein de la matrice osseuse, le strontium se substitue au calcium de manière aléatoire, les cristaux d'hydroxyapatite enrichie en strontium deviennent plus stables ce qui défavorise leur

résorption. Au niveau de l'émail dentaire, la substitution du calcium par du strontium améliore la résistance aux attaques chimiques (Marie *et al.* 2001).

Dans le domaine biomédical, le succès de l'utilisation du ranélate de strontium dans la réduction du risque de fracture chez les sujets ostéoporotiques a ouvert la voie vers le développement de composés tels que les apatites calcostrontiques incluant le strontium dans leur composition. Le strontium améliore les propriétés mécaniques des hydroxyapatites et permet, *in vivo* d'avoir un meilleur lien avec les tissus environnants. L'administration du strontium pourrait se faire sous forme de médicament par voie orale (comprimé) ou intraveineuse ou sous forme de biomatériau (voie locale) en cas de fracture ou perte osseuse à réparer (ciment phosphocalcique dopé au strontium, prothèse revêtue d'apatite calcostrontique, etc...), voir Tableau 1.5.

Tableau 1.5 : Exemple de médicaments et de biomatériaux commercialisés contenant du strontium

Nom commercial	Fabriquant	Forme de Sr utilisée	Domaine d'utilisation
Metastron®	GE Health care	Chlorure de Sr 89	Traitement des douleurs liées aux métastases osseuses (voie intraveineuse)
StronBone™	RepRegen	Hydroxyapatite dopée au Sr	Matériau de comblement osseux (voie locale)
Protelos®	Laboratoires Servier	Ranélate de Sr	Traitement de l'ostéoporose post-ménopausique (voie orale)
Riva Self Cure®	SDI	Verre ionomère contenant du Sr	Matériau de restauration dentaire (voie locale)

En chirurgie dentaire, le strontium rentre dans la composition de certains verres ionomères et de ciments de comblement dentaire en tant qu'agent de contraste radio-opacifiant (Bohner *et al.* 2005; Wang and Ye 2008). L'introduction du strontium dans ces matériaux augmente leur radio-opacité et agit sur l'activité bactérienne présente dans la cavité buccale (Guida *et al.* 2003; Tadier 2009). Dans le cas des verres ionomères, le strontium augmente la micro-dureté de la dentine déminéralisée (Mcintyre *et al.* 2006).

II-3-4.2. La chlorapatite calcostrontique

L'incorporation de strontium dans la chlorapatite a été très peu étudiée (Khattech and Jemal 1997). Des études ont montré que l'influence des ions strontium sur les propriétés du minéral

osseux se traduit par l'amélioration des propriétés mécaniques de l'os et l'influence sur la solubilité des apatites (Xue *et al.* 2007).

Nous avons vu que les apatites peuvent admettre un grand nombre de substitutions au sein de leur structure. Plus particulièrement, les ions strontium Sr^{2+} peuvent se substituer totalement ou partiellement aux ions calcium Ca^{2+} au sein de la structure d'une hydroxyapatite phosphocalcique. L'hydroxyapatite phosphostrontique ($\text{Sr}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) cristallise dans le groupe d'espace $\text{P6}_3/\text{m}$ du système hexagonal. Ses paramètres de maille sont les suivants : $a = 9.758 \text{ \AA}$ et $c = 7.280 \text{ \AA}$ (Heijligers *et al.* 1979). Son diagramme de diffraction des rayons X est présenté sur la Figure 1.13.

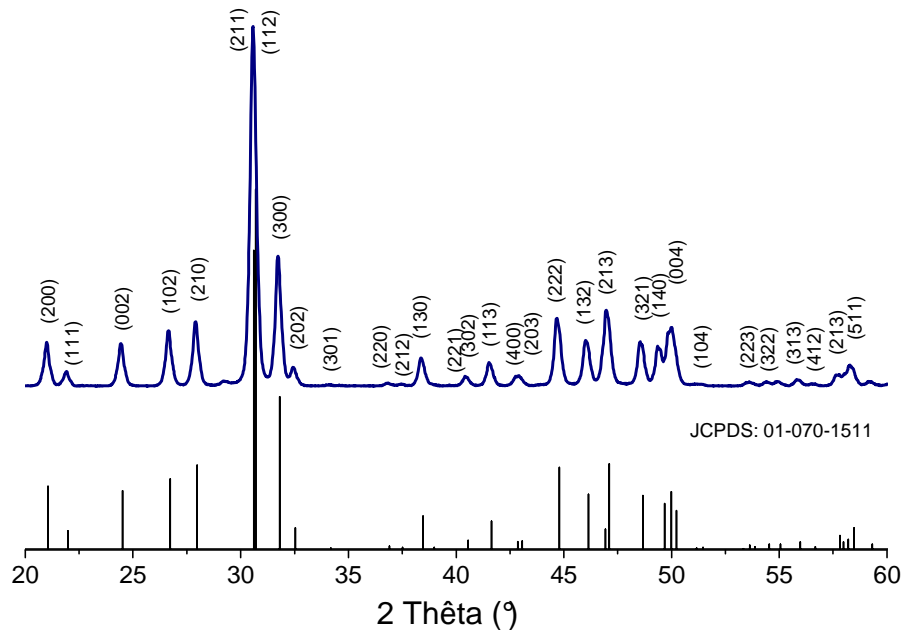


Figure 1.13 : Diagramme de RX d'une hydroxyapatite calcostrontique stœchiométrique

Les hydroxyapatites calcostrontiques peuvent être décrites par la formule chimique suivante :



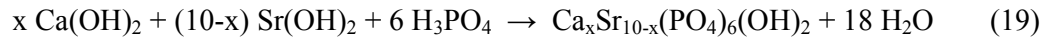
Ces composés cristallisent eux aussi dans le groupe d'espace $\text{P6}_3/\text{m}$ du système hexagonal. Leurs paramètres de maille suivent la loi de Végard dont les équations sont les suivantes :

$$a(x) = 9.418 + \frac{9.758 - 9.418}{10} \times x = 9.418 + 0.034x \quad (17)$$

$$c(x) = 6.881 + \frac{7.280 - 6.884}{10} \times x = 6.881 + 0.040x \quad (18)$$

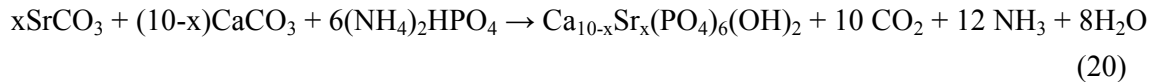
Une hydroxyapatite calcostrontique peut s'obtenir par double décomposition en ajoutant des sels de nitrate de calcium $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $4 \text{ H}_2\text{O}$ et de nitrate de strontium $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ dans une

solution de phosphate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ avec un rapport atomique $(\text{Ca}+\text{Sr})/\text{P}$ égal à 1.67 et un rapport atomique $\text{Sr}/(\text{Ca}+\text{Sr})$ compris entre 0 et 1 (Fujino 1975; Khattech *et al.* 1996). La méthode par neutralisation consiste à neutraliser une solution contenant de la chaux $\text{Ca}(\text{OH})_2$ et de la strontiane $\text{Sr}(\text{OH})_2$ par une solution d'acide phosphorique. On obtient un précipité qui est lavé et séché. Cette précipitation peut être décrite par la réaction chimique suivante (Trombe 1972; Leroux 2000) :



Il est possible de synthétiser de grandes quantités d'apatites et l'absence de contre ions constitue l'un des grands avantages de cette méthode. Par contre, la faible cristallinité des apatites obtenues constitue le principal défaut de cette méthode de synthèse.

L'apatite calcostrontique peut être également préparée par voie sèche, en faisant réagir du carbonate de strontium SrCO_3 , du carbonate de calcium CaCO_3 et du phosphate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ selon la réaction suivante (Kreidler and Hummel 1967) :



Cette réaction nécessite un chauffage à 900 °C pendant plusieurs heures. L'inconvénient de cette méthode est la difficulté à réaliser un mélange parfaitement homogène et l'obtention exclusive de produits à hautes températures.

D'autres méthodes non citées permettent de synthétiser des apatites calcostrontiques ; ce sont les méthodes utilisant des procédés sol-gel, ou à partir de sels fondus ou encore par la voie des ciments phosphocalciques (Donazzon 1995, Kreidler *et al.* 1967, Leroux 2000 ; Tadier 2008). Néanmoins, ces voies de synthèse ne permettent pas de préparer suffisamment de poudres pour des applications à l'échelle industrielle et les apatites contiennent souvent des traces de réactifs utilisés.

Des recherches menées par Weichang Xue ont établi l'intérêt d'utiliser les apatites dopées au strontium comme revêtements d'implants orthopédiques et dentaires en raison de leurs propriétés antibactériennes (Xue *et al.* 2006).

Plusieurs études ont démontré des propriétés mécaniques et thermiques améliorées pour les hydroxyapatites dopées au strontium (Li *et al.* 2007; O'Donnell *et al.* 2008). En raison de leurs bonnes propriétés thermiques, les chlorapatites présentent un grand avantage vis-à-vis de l'HA pour préparer des revêtements de phosphates de calcium par projection plasma. Cependant, aucune étude n'a traité l'effet de l'incorporation de strontium dans des chlorapatites. Du fait de la stabilité thermique des chlorapatites, les chlorapatites

calcostrontiques pourraient constituer une meilleure alternative à l'hydroxyapatite pour la projection plasma.

III. Applications des revêtements de phosphates de calcium

III-1. Généralités

Les prothèses articulaires sont largement utilisées en chirurgie orthopédique. Elles permettent de reconstruire une articulation comme la hanche, le genou, l'épaule ou le doigt, endommagée par une fracture et très souvent aggravée par une pathologie dégénérative comme l'arthrose ou l'ostéoporose. Le premier développement de prothèse connu remonte à environ 1000 ans avant J.C, période à laquelle les égyptiens ont réussi la fixation d'une prothèse externe pour remplacer un orteil amputé (Figure 1.14). Celle-ci a été minutieusement sculptée pour ressembler à l'organe amputé. Le bois avait été utilisé comme matériau pour ses propriétés mécaniques (Andreas *et al.* 2000).



Figure 1.14 : Prothèse d'orteil en bois : une des plus anciennes prothèses fonctionnelles identifiées

L'usage des matériaux exogènes a été également cité dans les manuscrits relatifs à la civilisation védique (environ 3500 à 1800 avant J.C.). Des jambes artificielles, des yeux et des dents ont été utilisés (Lim 1997; Cochrane *et al.* 2001).

Avec l'invention de l'anesthésie, il est devenu possible d'utiliser des prothèses intracorporelles, souvent pour remplacer une articulation (endoprothèses ou prothèses ostéo-articulaires) ou combler une fracture d'os (substitut osseux).

- 1890 : *Thomas Gluck* a confectionné la première prothèse totale de hanche faite d'une tête fémorale et d'une cupule en ivoire articulées entre elles et fixées à l'os par un ciment constitué de colophane, de poudre de pierre ponce et de plâtre.

- 1938 : *Philip Wiles* est à l'origine de la première prothèse totale métal-métal en acier inoxydable avec une cupule vissée dans le cotyle, une tête fémorale fixée à un clou. Six

patients atteints de la maladie de Still ont ainsi reçu cette prothèse et l'un d'eux avait une bonne motricité 13 ans après son opération.

- 1939 : *E.J. Haboush* utilise une prothèse totale en cobalt-chrome fixée à l'os pour la première fois par un ciment acrylique.

Ces tentatives furent généralement assez catastrophiques si l'on excepte le cas de *Philip Wiles* (1938). Les réalisations les plus spectaculaires ont été effectuées dans les années 60 lorsque le chirurgien orthopédiste anglais *Charnley* a remplacé l'articulation de la hanche de ses patients par une prothèse métallique (Amstutz and Grigoris 1996). La Figure 1.15 montre un exemple d'une prothèse totale de la hanche implantée.

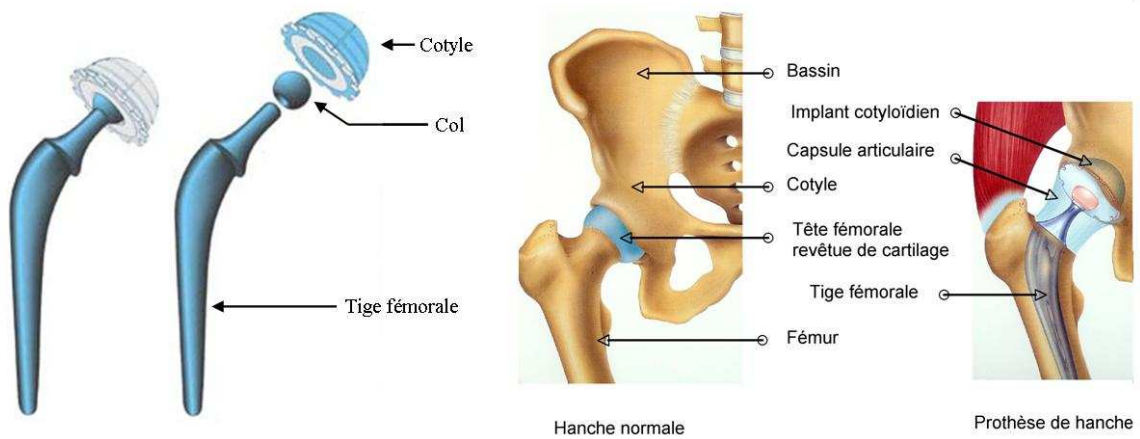


Figure 1.15 : Composition et emplacement d'une prothèse totale de la hanche

En revanche, l'idée des implants dentaires est apparue bien plus tard dans les années 1960 en Suède, et s'est développée dans le monde entier depuis 1980. Les implants dentaires (Figure 1.16), ou racines artificielles des dents permettent de reconstruire une dentition complète chez des patients édentés. L'intérêt de ces implants par rapport aux bridges classiques est qu'ils ne s'appuient que sur l'os en dessous et soulagent donc les dents adjacentes de la pression supplémentaire supportée dans le cas du bridge classique. En effet, ce dernier s'appuie sur des dents contigües et peut les altérer.



Figure 1.16 : Exemples de designs d'implants dentaires (a) et coupe transversale d'un implant dentaire en titane implanté (b)

L'allongement de la durée de vie et le vieillissement de la population ainsi que l'exigence de plus en plus grande d'une bonne qualité de vie, ont conduit à une augmentation rapide du nombre de systèmes implantés, tendance qui va très probablement s'accroître dans l'avenir. De plus, les progrès réalisés dans le domaine permettent des interventions chirurgicales autrefois impossibles ainsi que la conception de nouveaux systèmes mieux intégrés et plus efficaces.

III-2. Les prothèses orthopédiques et implants dentaires

III-2-1. Choix des matériaux et traitement de surface

La notion de biocompatibilité des métaux utilisés en implantologie s'est largement développée et a conduit à définir un certain nombre de normes à ce sujet. Les recherches dans le domaine des implants métalliques se sont orientées vers l'emploi du titane et de ses alliages (TA6V) pour leur bonne résistance à la corrosion (*cf. Chapitre I, II-1*). D'autres métaux à base de tantale (Ta) ou de niobium (Nb) ont été également proposés (Grundschober *et al.* 1980; Albrektsson *et al.* 1981; Matsuno *et al.* 2001) et peuvent présenter une bonne biocompatibilité en milieu biologique.

D'autre part, l'ostéointégration qui se définit par le contact direct entre le tissu osseux et un biomatériau sans interposition de tissu fibreux, est un concept développé par Brånemark dès 1965. Le titane s'intègre à l'os de façon permanente suivant une déformation plastique de l'interface os-implant (Brånemark *et al.* 1969). En 1986, Albrektsson a proposé les critères minimaux d'évaluation des implants dentaires (Albrektsson *et al.* 1986). Ces critères ont mis l'accent sur l'importance de l'ostéointégration du biomatériau implanté et des résultats cliniques qui permettent d'avoir une estimation à long terme du succès de ces implants avant leur mise sur le marché. Les différents paramètres nécessaires à l'obtention d'une bonne ostéointégration, définie par Brånemark comme « un contact direct, structurel et fonctionnel entre un os vivant et organisé et la surface d'un implant supportant une charge » sont :

- la biocompatibilité,
- la forme et l'état de surface de l'implant,
- la nature du site receveur osseux,
- la technique chirurgicale,
- les conditions de mise en charge.

Depuis, de nombreux efforts ont été réalisés en vue d'améliorer le mécanisme d'ostéointégration des implants tant en terme de qualité des tissus néoformés qu'en terme de délai. L'état de surface des implants est apparu comme l'un des facteurs particulièrement

important pour l'intégration mécanique et chimique de l'implant au tissu osseux (Wennerberg and Albrektsson 2009).

A partir de 1985, la surface du titane a été utilisée sans modification par la société Nobel Biocare pour réaliser des implants dentaires. Ces surfaces ont permis d'obtenir des taux de succès importants depuis 25 ans mais ils ont montré des limites dans des sites osseux de qualité inférieure.

Les implants en titane usinés rentrent dans la catégorie des implants de rugosité minimale à faible énergie de surface ; rugosité moyenne (Ra) entre 0.53 et 0.96 μm (Wennerberg *et al.* 1997). Plusieurs auteurs ont démontré par la suite que les implants en titane avaient une meilleure fixation dans l'os et différents traitements de surface se sont développés en vue d'améliorer les performances des implants (Figure 1.17).



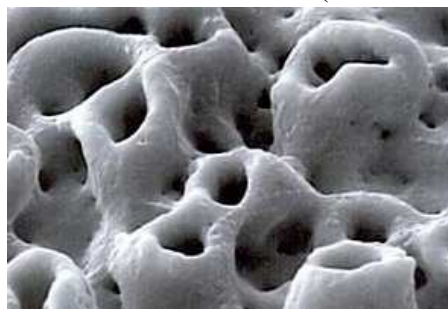
Surface OsseoSpeed™ (AstraTech®)



Surface SLActive (Straumann®)



Surface Osseotite™ (Biomet 3i®)



Surface TiUnite (Nobel Biocare®)

Figure 1.17 : Clichés de microscopie électronique à balayage de la surface de quelques implants dentaires actuellement commercialisés et présentant différents états de surface.

Aujourd'hui, il existe plusieurs techniques de modification de surfaces communément utilisées par les fabricants d'implants permettant d'améliorer l'ostéointégration. Les techniques les plus pratiquées consistent à réaliser soit un sablage à partir de particules dures tel que l'alumine ou l'oxyde de titane ou un mordantage à l'acide ce qui crée des macroporosités à la surface des implants (Tableau 1.6).

Aujourd'hui l'un des procédés de modification de surface le plus largement répandu est le sablage associé au mordantage avec un taux de succès des implantations dentaires supérieur à 95% au-delà de 5 ans (Le Guehennec *et al.* 2007).

D'un point de vue biologique, il a été montré que les cellules responsables de l'ostéointégration sont sensibles à la topographie de la surface de l'implant. Les ostéoblastes par exemple, se fixent préférentiellement sur les surfaces rugueuses de titane, qui favorisent leur prolifération ainsi que leur différenciation (Piattelli *et al.* 1998). En 2006, Stanford *et al.* démontrèrent également que plus la surface est rugueuse plus l'activation plaquettaire est voisine de 100% (Stanford 2010). De plus, les expériences de Mendonca *et al.* ainsi que Valencia *et al.* basées sur le développement des cellules souches mésenchymateuses humaines ont montré que ces cellules développent en 28 jours une réponse spécifique aux surfaces de titane sablées ou mordancées (Mendonca *et al.* 2009; Stanford 2010).

L'usinage des implants sous forme de vis cylindrique permet une meilleure précision dans la préparation du site receveur et une meilleure adaptation et stabilité primaire que toutes les autres formes d'implants proposées (lames, sous-périostés, disques-implants, etc...).

Tableau 1.6 : Nature du traitement de surface pratiqué par les fabricants d'implants actuels

Noms Commerciaux	Matériaux	Traitements de surface
<i>Nobel Biocare</i> ®		
Nobel Active®		TiUnite* + Groovy**
Nobel Replace®	Titane	TiUnite + Groovy
Nobel Speedy®		TiUnite + Groovy
Brånemark System®		TiUnite
<i>Biomat 3i</i> ®		
Osseotite®	Titane	Usinage + mordantage
<i>Straumann</i> ®		
SLActive®	Titane	couche de TiO ₂ activée
Roxolid®	Alliage Ti-Zr	(non renseigné)
<i>Astratech Dental</i> ®		
Osseospeed™	Titane	Surface chimiquement modifiée
TiOblast™		(non renseigné)
<i>BTI</i> ®		
PRGF®	Titane	Plasma riche en facteurs de croissance

*TiUnite : surface de l'implant en oxyde de titane brevetée par la société *Nobel Biocare*

**Groovy : c'est une forme de rainures macroscopiques présente le long du filetage des implants inventée par la société *Nobel Biocare*

Le succès des implants en titane provient de ses qualités de surface dues à sa préparation, sa composition chimique et cristallographique ainsi que ses propriétés chimiques. Toutefois la formation initiale de tissus fibreux autour de l'implant peut empêcher l'ostéointégration rapide et altère son contact avec l'os. Que ce soit pour les applications orthopédiques ou

dentaires, la présence d'un dépôt ayant des propriétés ostéoconductive semble être un atout pour améliorer l'ostéo-intégration notamment des implants en titane.

III-2-2. Les revêtements d'hydroxyapatite sur implants et prothèses

Compte tenu de leur excellente bioactivité et de leur ostéoconduction, les matériaux à base de phosphates de calcium favorisent le développement de tissu osseux et contribuent à l'adhérence et à la prolifération des cellules osseuses tout en gardant l'intégrité mécanique du dispositif médical métallique. Les dépôts bioactifs d'hydroxyapatite à la surface des implants dentaires permet augmenter la rugosité de la surface. Il présente une épaisseur moyenne de 50 à 70 μm et sa rugosité moyenne (Ra) se situe entre 1.59 et 2.94 μm (Wennerberg *et al.* 1993). Le pourcentage de contact os-implant des implants avec revêtement d'HA présente une valeur élevée (Buser *et al.* 1991). L'ostéointégration est plus rapide due à la bioactivité et à l'ostéoconduktivité des phosphates de calcium et à l'absence d'interposition fibreuse entre l'implant et l'os contrairement au implant en titane non revêtu (Jarcho 1986). Le Tableau 1.7 présente une comparaison des résultats cliniques des implants en titane avec et sans revêtement d'HA.

Tableau 1.7 : Comparaison des résultats cliniques entre les implants avec et sans revêtement d'HA

	<i>Titane non revêtu</i> <i>[1-2]</i>	<i>Titane revêtu</i> <i>d'HA</i>
Contact os-implant ^[3] chez le lapin (6 mois post-insertion)	59.9 %	75.9 %
Contact os-implant ^[3] chez le rat (7 jours post-insertion)	1.2 % \pm 1.6 %	17.1 % \pm 13.1 %
Contact os-implant ^[3] chez le rat (28 jours post-insertion)	29.2 % \pm 4.5 %	61.8 % \pm 5.4 %
Taux de survie chez l'humain (84 mois post-insertion ^[3])	91.3 %	95 %
Force critique pour extraction d'implant chez le chien (10 semaines post-insertion)	6.6 mPa	7.28 mPa ^[4]
Force nécessaire pour extraire un implant chez le chien (10 semaines post-insertion)	150 Ncm	186.0 Ncm ^[5]

[1] : (Esposito *et al.* 1998) ; [2] : (Lee *et al.* 2000) ; [3] : (O'Roark 1991) ; [4] : (Cook *et al.* 1987) ; [5] : (Carr *et al.* 1995)

Le revêtement d'hydroxyapatite peut être déposé sur l'implant selon différentes techniques que nous décrivons dans le paragraphe IV de ce chapitre. Il est à noter que la technique de projection plasma reste la plus utilisée. Toutefois, à long terme, des signes évidents de résorption de cette couche sont constatés (Cheang and Khor 1996). L'introduction de ce

procédé a donné lieu à plusieurs controverses et certains échecs ont été recensés dans les années 90 avec des implants dentaires en titane recouverts d'HA. En 2001, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) a décidé de suspendre la mise sur le marché, la distribution et l'utilisation des implants recouverts d'HA de type Steri-Oss HA® commercialisés par la société Nobel Biocare®, pour une période d'un an.

A l'heure actuelle, il est établi que les revêtements d'HA par projection plasma présentent une adhérence perfectible sur le titane, qui peut se traduire par une dégradation et un écaillage dans le temps. Ce phénomène est en partie attribuable à la décomposition de l'hydroxyapatite au cours du dépôt et à l'existence de phases résiduelles cristallisées ou amorphes qui fragilisent le revêtement. De plus les systèmes de projection actuels ne permettent pas de déposer des couches fines et homogènes en raison de la taille élevée des particules inhérente au procédé de projection mis en oeuvre. La trop grande épaisseur de la couche déposée et sa mauvaise adhérence pourraient expliquer les échecs des revêtements des années 90 (Gross *et al.* 1998a).

Gineste *et al.* ont étudié la dégradation des revêtements d'hydroxyapatite, ainsi que de fluorapatite et de fluorhydroxyapatite chez le chien (Gineste *et al.* 1999). L'étude a montré que la stabilité thermique de la fluorhydroxyapatite durant la projection plasma limite sa décomposition. Ce qui constitue un facteur de sa longévité. L'adhérence de la fluorhydroxyapatite sur le titane est similaire à celle de l'hydroxyapatite. Ce qui fait d'elle une candidate potentielle pour remplacer l'HA et permettre ainsi l'obtention d'implants revêtus plus durables.

IV. Procédés de recouvrement appliqués aux phosphates de calcium

IV-1. Généralités

Les méthodes de traitement de surface appliquées pour réaliser des dépôts de phosphates de calcium sur implants en titane doivent répondre à plusieurs critères (Ranz 1996) :

Les propriétés chimiques et structurales du dépôt ne doivent pas être altérées durant le procédé de revêtement ;

Les propriétés mécaniques du substrat ne doivent pas être affectées ;

Le dépôt doit présenter une très bonne adhérence sur le métal ;

Le procédé de revêtement doit être simple et économique pour permettre son développement industriel.

Parmi les méthodes de revêtement de surface, on distingue :

Les techniques opérant ‘à basses températures’ : elles permettent d’obtenir une grande variété de structures et de compositions des dépôts à base de phosphates de calcium. Ils peuvent être obtenus par de très nombreuses techniques faisant intervenir par exemple des solutions ou des suspensions (méthode sol-gel, électrophorèse...). Certaines méthodes permettent l’association de protéines ou de cellules actives au biomatériau. Ces techniques sont toutefois difficilement industrialisables car elles permettent d’obtenir que de faibles quantités de phosphates de calcium, et ce dépôt a souvent une mauvaise adhérence mécanique sur le substrat.

Les techniques opérant ‘à hautes températures’ : l’emploi des hautes températures (projection plasma, high isostatic pressing (HIP) ...) pour la réalisation de dépôts permet d’améliorer l’adhérence dépôt/substrat et d’augmenter la densification des grains de phosphates de calcium. Cependant ces techniques sont limitées par la mauvaise stabilité thermique des phosphates de calcium qui se décomposent à hautes températures (Ranz 1996).

IV-2. Dépôt par électrophorèse (EPD)

La technique de dépôt par électrophorèse (Electrophoretic deposition ; EPD) est une technique de recouvrement à basse température dont le principe se base sur le déplacement de particules chargées en suspension dans un liquide. Le déplacement des particules est généré par l’application d’un champ électrique entre deux électrodes. Un dépôt se forme alors sur une électrode comme illustré sur le schéma de la Figure 1.18.

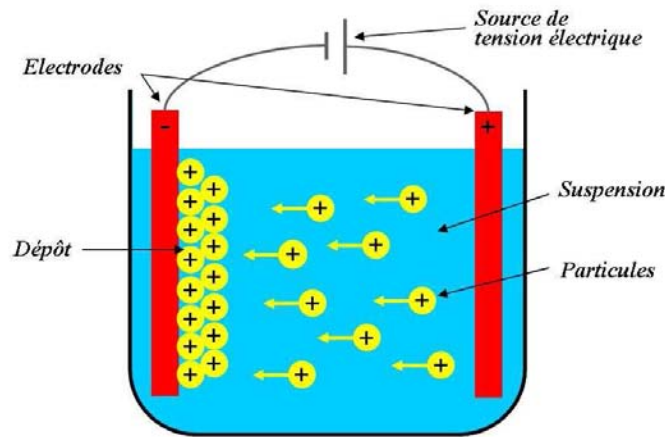


Figure 1.18 : Représentation schématique de la technique de dépôt par électrophorèse

Comme en témoigne de nombreux travaux publiés au cours de ces dix dernières années, la technique d’électrophorèse est intéressante pour sa capacité à réaliser des microstructures uniques avec de multiples composés (Benhayoune *et al.* 2002). Les applications biomédicales du procédé sont de plus en plus développées. En effet, le recouvrement de prothèses métalliques aux formes compliquées est aisé et la biocompatibilité peut être assurée par le

biomatériau choisi (Richard *et al.* 2006). Ducheyne *et al.* (Ducheyne *et al.* 1986) ont étudié la réalisation de dépôts de phosphates de calcium sur des substrats poreux en alliage TA6V par cette technique. L'électrophorèse appliquée aux phosphates de calcium nécessite par la suite un traitement thermique à des températures avoisinant 900 °C durant 2 heures et sous un vide de $10^{-6} - 10^{-7}$ Torr pour obtenir une couche suffisamment dense.

En général, la couche d'hydroxyapatite obtenue par électrophorèse a une épaisseur uniforme. Celle-ci varie en fonction du champ électrique appliqué et du temps de dépôt. Les propriétés mécaniques restent néanmoins à améliorer notamment la faible adhérence de cette couche, ainsi que le traitement thermique qui peut engendrer des transformations de phase (Ducheyne *et al.* 1986).

IV-3. Dépôt par la méthode sol-gel

Le procédé sol-gel (Kim *et al.* 2004a; Kim *et al.* 2004b) regroupe deux techniques de recouvrement que sont le dip coating (Lacefield 1988; Mavis and Ta 2000) et le spin coating (Chai and Ben-Nissan 1999; Hsieh *et al.* 2002). Le principe de la technique du dip-coating (trempage-retrait) étudiée en premier par Lacefield (Lacefield 1988) consiste à immerger plusieurs fois les substrats dans une suspension d'hydroxyapatite. Chaque trempage est suivi d'une étape de séchage. Les échantillons recouverts d'apatite sont ensuite frittés à 1100 -1200 °C sous une atmosphère d'argon pendant au moins 3 heures.

Le procédé de dip-coating comprend généralement trois étapes essentielles. L'immersion, le temps de séjour et l'extraction (Figure 1.19). En revanche, la technique du spin-coating consiste à verser la suspension sur le substrat en rotation. Cette méthode nécessite également un traitement thermique de la pièce revêtue.

En général, les dépôts obtenus par sol-gel sont chimiquement purs et présentent une bonne cohésion, cependant leur adhérence au substrat reste assez faible pour envisager la réalisation d'implants médicaux.

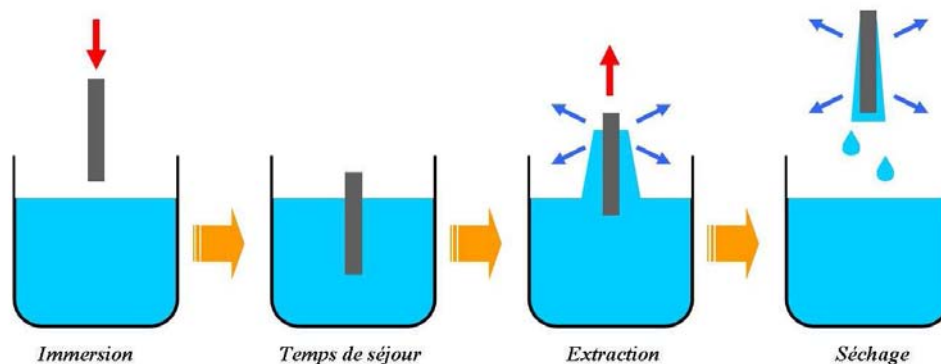


Figure 1.19 : Etapes du procédé de dip-coating

IV-4. Dépôt par ablation laser (PLD)

La technique d'ablation laser (PLD) est une application récente des lasers basée sur l'interaction de la lumière d'un laser avec les solides.

Le schéma de la technique est présenté sur la Figure 1.20 : le faisceau d'un laser pulsé est focalisé sur la cible qui se trouve dans une enceinte sous vide ou sous basse pression ($p < 1$ hPa). Les impulsions du laser sont souvent d'une durée de quelques nanosecondes et leur fréquence est de quelques dizaines de Hz. Les phénomènes qui ont lieu sur la cible peuvent être simplifiés de la façon suivante :

Les photons sont absorbés par une cible, à une profondeur qui dépend de la longueur d'onde du rayonnement ;

L'énergie du rayonnement se transforme en chaleur qui fait fondre la surface de la cible et provoque l'évaporation ;

Les vapeurs diffusent vers le substrat et le rayonnement d'une impulsion est absorbé par ces vapeurs en formant un plasma. Les ions du plasma peuvent atteindre une énergie de 1000 eV, leur valeur moyenne est centrée vers 100-400 eV.

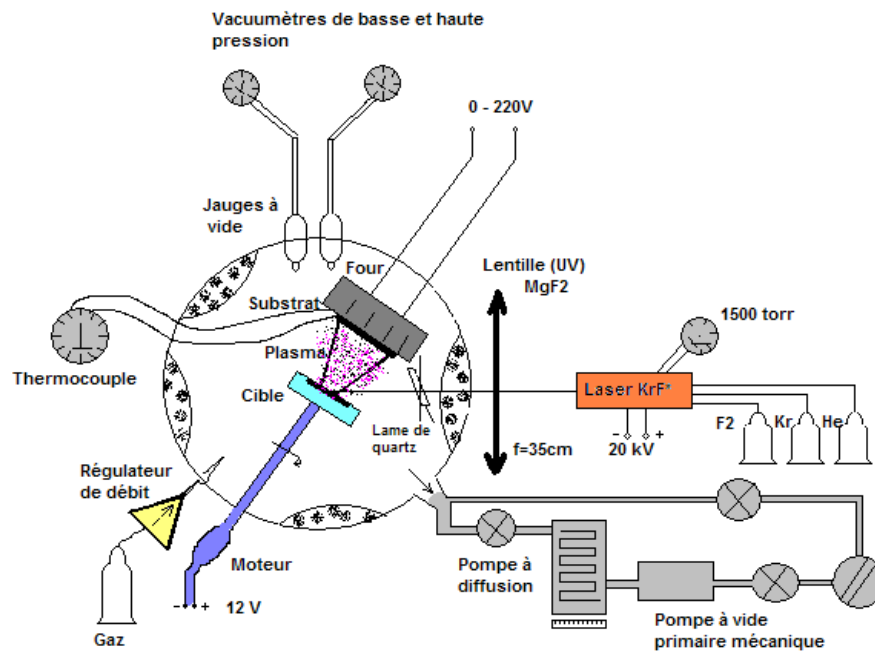


Figure 1.20 : Schéma de l'installation expérimentale PLD (Borsa 2008)

Plusieurs recherches sur les dépôts d'hydroxyapatite par la technique PLD ont été conduites. Les premiers travaux élaborés par Cotell (Cotell *et al.* 1992; Tucker *et al.* 1996) se sont consacrés à la détermination des conditions physiques de dépôt de phosphates de calcium en utilisant un laser excimère KrF*. Il a été reporté que la température du substrat ainsi que l'utilisation de gaz réactifs favorisent la formation de couches minces de phases cristallines.

D'autres travaux ont été conduits par Torrisi et Baeri (Baeri *et al.* 1992; Torrisi and Setola 1993) ; ils ont montré que la PLD est une méthode efficace de dépôt de couches minces d'hydroxyapatite sur des substrats métalliques à des températures inférieures à 900 °C. Actuellement, la technique PLD est surtout appliquée dans les laboratoires de recherche. Son développement industriel nécessite la résolution de certains problèmes liés à la mauvaise cristallinité du revêtement déposé, à l'uniformité des dépôts sur des surfaces complexes (angles, trous, etc.), à l'augmentation de l'épaisseur du dépôt, et enfin à l'élimination des particules liquides.

IV-5. Dépôt par la méthode CVD

La méthode de dépôt chimique en phase vapeur ou méthode CVD (venant de sa dénomination anglaise : Chemical Vapour Deposition), est une technique de plus en plus utilisée pour l'élaboration des couches minces. Le procédé consiste à faire réagir des réactifs gazeux (les précurseurs) transportés en phase vapeur sur ou au voisinage d'un substrat activée énergétiquement. L'utilisation de précurseurs qui se décomposent à basse température permet de diminuer la température du dépôt par CVD et donc d'améliorer l'adhérence du dépôt. C'est ainsi que l'idée d'utiliser des précurseurs organométalliques dont la partie organique se décompose à basse température est à la base de la technique MOCVD. Les précurseurs généralement sous forme gazeuse sont transportés vers le réacteur par des gaz vecteurs.

Les domaines d'application de la technique MOCVD se sont grandement élargis au cours des deux dernières décennies et ont atteint le domaine des biomatériaux à base de phosphates de calcium (Hitchman and Jensen 1993; Spencer 2007). Allen *et al.* (Allen *et al.* 1996) ont étudié l'élaboration de dépôts de pyrophosphate de calcium (β -Ca₂P₂O₇) par la méthode MOCVD avec comme précurseurs, le dipivalométhanate de calcium (Ca(NbO₃)₂) et le pentoxyde de phosphore (P₂O₅). Plusieurs études ont suivi cette dernière afin d'améliorer les précurseurs volatils à base de calcium adapté pour la CVD. Darr *et al.* (Darr *et al.* 2004) ont effectué pour la première fois un dépôt d'hydroxyapatite carbonatée par MOCVD via un nouveau précurseur volatil à base de calcium.

Malgré le progrès que connaît cette méthode et la possibilité d'avoir des dépôts fins et nanostructurés, les dépôts obtenus sont souvent biphasés et l'utilisation de solvants inflammables et/ou toxiques limite l'utilisation de cette technique pour des applications médicales.

IV-6. Dépôt par projection plasma

La projection plasma à l'air ou sous vide est la technique la plus utilisée pour le revêtement de phosphates de calcium sur des implants métalliques pour des applications biomédicales.

Dans les années 70, Hench (Hench *et al.* 1977) a déposé un bioverre sur un substrat métallique par pulvérisation plasma. Ce fût le premier biomatériau déposé par cette technique. A partir des années 80, le recouvrement de prothèses métalliques par l'hydroxyapatite (Geesink 1989; Furlong and Osborn 1991; Sun *et al.* 2001) est devenu une pratique industrielle courante et fiable.

La torche à plasma est composée d'une anode en forme de tuyère en cuivre et d'une cathode en tungstène thorié, toutes les deux refroidies par eau (Figure 1.21). Un arc électrique est amorcé par haute fréquence entre l'anode et la cathode, puis entretenu par une source de courant à basse tension dans un flux de gaz plasmagène (800 A – 100 V). Le mélange de gaz généralement utilisé pour former l'atmosphère plasmagène est constitué de gaz rares (argon ou hélium) avec des gaz diatomiques (hydrogène ou azote). Sous l'effet de températures élevées, il y a dissociation des molécules de gaz puis ionisation de celui-ci et obtention d'un milieu très conducteur permettant l'entretien d'un arc électrique entre la cathode et l'anode présentant une différence de potentiel.

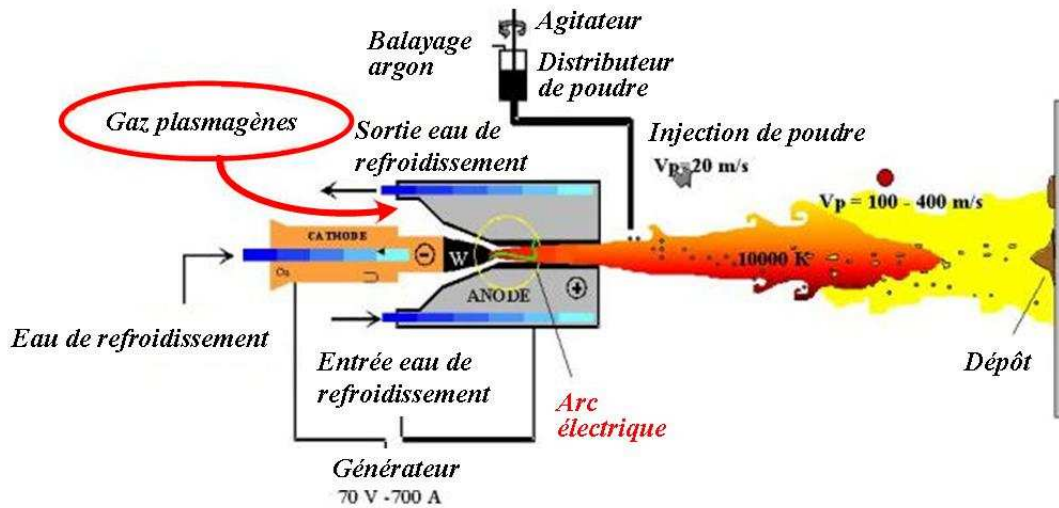


Figure 1.21 : Schéma simplifié du principe d'une torche de projection plasma

Le gaz plasmagène est soumis à une expansion considérable (environ 100 fois son volume) forçant l'arc à sortir de l'anode. La flamme de plasma constituée de gaz dissociés et partiellement ionisés, émerge de la tuyère à grande vitesse et à haute température (environ 15 000 °C).

Le matériau en poudre émulsionné dans un gaz support est injecté dans la flamme plasma souvent à la sortie de la tuyère. Les particules sont accélérées, fusionnées puis projetées sur la surface d'un substrat sablé afin d'améliorer son accrochage. Ce sont la grande vitesse de

projection (40 m.s^{-1}) et la fusion partielle (De Groot *et al.* 1990) des particules qui assurent une très bonne adhérence entre le premier dépôt et le substrat.

Au cours des travaux de thèse que nous présentons dans les chapitres suivants, nous nous intéressons aux dépôts d'apatites réalisés par le procédé de projection plasma mais avec une torche et des paramètres adaptés pour travailler à plus basse énergie et ce en vue d'améliorer la qualité des dépôts d'apatites pour des applications orthopédiques et/ou dentaires.

Chapitre II :

*Elaboration et étude des
propriétés des poudres d'apatites
phosphocalciques
stœchiométriques
pour la projection plasma*

Plusieurs investigations menées sur l'amélioration des dépôts d'apatites par projection plasma se sont principalement intéressées au mode de synthèse des poudres de départ (Deram *et al.* 2003; Li *et al.* 2008). Ces recherches tentent d'améliorer la qualité des dépôts à travers le mode de synthèse de l'hydroxyapatite, l'état de cristallinité, la taille et la forme des grains, la distribution granulométrique, la morphologie des poudres, etc... En effet, les paramètres cités influencent les propriétés biologiques et mécaniques des revêtements.

Toutefois, les méthodes de synthèse utilisées doivent rester simples, peu coûteuses et reproductibles. Elles doivent également permettre la préparation de grandes quantités de poudres.

D'autres auteurs se sont intéressés à la projection plasma d'apatites chimiquement et thermiquement plus stables que l'hydroxyapatite (Wolke, Dhert *et al.* 1990). Les revêtements à base de fluorapatite et/ou de fluorhydroxyapatite constituent des exemples parmi les plus répandus (Ranz 1996; Ranz, Rey *et al.* 1997; Kim, Kim *et al.* 2004; Barabás, Sára Bogya *et al.* 2011).

Le présent travail s'intéresse d'une part à la caractérisation d'une poudre d'hydroxyapatite de référence et, d'autre part, au développement de la synthèse d'apatites chimiquement et thermiquement plus stables en vue de leur utilisation pour la réalisation de dépôts par projection plasma.

Dans un premier temps, nous avons synthétisé des apatites stoechiométriques de diverses compositions chimiques : fluorapatite (FA), fluorhydroxyapatite (FHA), chlorapatite (CIA), et des apatites calcostrontiques (SrAp). Dans la perspective d'un développement industriel de ces apatites pour une application biomédicale, nous nous sommes attachés à la mise au point d'une méthode de synthèse adaptée à l'élaboration en grandes quantités. D'où le choix de la synthèse par réaction solide-gaz.

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à l'évaluation du comportement thermique des apatites élaborées.

Enfin, une discussion globale sur ce chapitre est présentée ; elle inclut une étude de l'influence des méthodes de synthèse sur les caractéristiques physico-chimiques des apatites étudiées sera développée.

PARTIE A

Synthèse et caractérisations physico-chimiques des poudres

Les travaux réalisés au laboratoire sont axés sur la synthèse et l'étude structurale des matériaux préparés ainsi que l'étude de leurs propriétés physico-chimiques. En effet, la maîtrise des conditions de synthèse des apatites par les différentes méthodes apparaît indispensable au contrôle de leurs propriétés physico-chimiques. Dans cette partie, nous présenterons les synthèses, les caractérisations structurales, physiques et morphologiques des poudres d'apatites élaborées.

I. Etude expérimentale de L'HA stoechiométrique

I-1. Description de l'hydroxyapatite utilisée

L'hydroxyapatite étudiée et mise en œuvre dans le cadre de ces travaux de thèse a été synthétisée par un procédé de co-précipitation au sein la société TEKNIMED (L'Union, France) partenaire du projet Nanomed2. Cette poudre conforme à la norme ISO 13779-3: 2008 est stoechiométrique, de granulométrie comprise entre 50 et 80 μm et correspond à la poudre d'HA commercialisée par l'entreprise sous la référence T87-5080 que nous appelleront dans la suite dans ce manuscrit « HA de référence ».

I-2. Caractérisation physico-chimique de l'hydroxyapatite

I-2-1. Diffraction des rayons X

Le diagramme de diffraction des rayons X (DRX) est présenté sur la Figure 2.1. L'analyse de la position et de l'intensité des raies indique la présence d'une phase apatitique correspondant à une hydroxyapatite bien cristallisée (JCPDS 09-432). Il est également à noter qu'aucune phase secondaire cristallisée n'a été détectée.

Le test à la phénolphtaléine réalisé juste après la calcination est négatif (norme ISO 13779-3 :2008). Ce test permet la détection de la présence de la chaux sous forme $\text{Ca}(\text{OH})_2$ surtout quand celle-ci est présente en faible quantité non détectable par DRX.

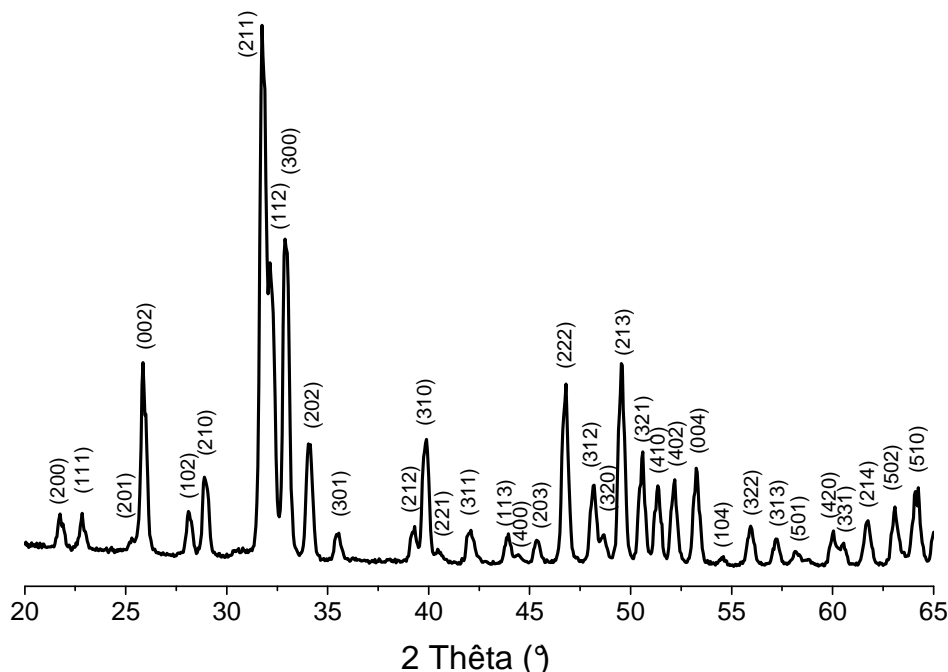


Figure 2.1: Diagramme de diffraction des rayons X de l'HA de référence

Les dimensions apparentes des cristallites ont été déterminées à partir de la relation de Scherrer (Scherrer 1918). Les mesures ont été réalisées sur les raies qui permettent de déterminer les dimensions apparentes des cristaux suivant deux axes perpendiculaires : l'axe c de la maille hexagonale (raie 002) et un plan perpendiculaire (raie 310). Les valeurs obtenues pour les deux raies examinées (002) et (310) sont présentées dans le Tableau 2.1. Ces valeurs montrent que les cristaux de HA sont allongés selon l'axe c ($L_{002} > L_{310}$).

Tableau 2.1 : Paramètres de maille de la poudre d'HA de référence

	$L_{002} \pm 5 \text{ \AA}$	$L_{310} \pm 5 \text{ \AA}$	L_{002}/L_{310}
HA de référence	335	295	1.2

I-2-2. Caractérisations spectroscopiques

Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

La Figure 2.2 présente le spectre d'absorption infrarouge de l'hydroxyapatite de référence. Nous avons reporté dans le Tableau 2.2 la position des différentes bandes d'absorption infrarouge ainsi que les attributions relatives aux groupements PO_4^{3-} et OH^- du réseau

apatitique. Les bandes relatives aux groupements PO_4^{3-} se caractérisent par deux domaines d'absorption situés entre $1100\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ et $600\text{-}500\text{ cm}^{-1}$. Les bandes du premier domaine ($\nu_1\text{PO}_4$ et $\nu_3\text{PO}_4$) correspondent aux vibrations d'élongation de l'édifice PO_4 et celles du second domaine ($\nu_2\text{PO}_4$ et $\nu_4\text{PO}_4$) sont attribuables aux vibrations de déformation. Par ailleurs, les bandes d'absorption caractéristiques des fréquences d'élongation et de libration (rotation gênée) des ions OH^- du réseau apatitique sont situées respectivement à 3560 et 630 cm^{-1} . On note également la présence de deux bandes supplémentaires vers 1650 cm^{-1} et 3400 cm^{-1} attribuables aux modes de vibration des molécules d'eau adsorbée à la surface des particules d'apatite ou incluse dans la matrice de KBr utilisée pour la réalisation des spectres.

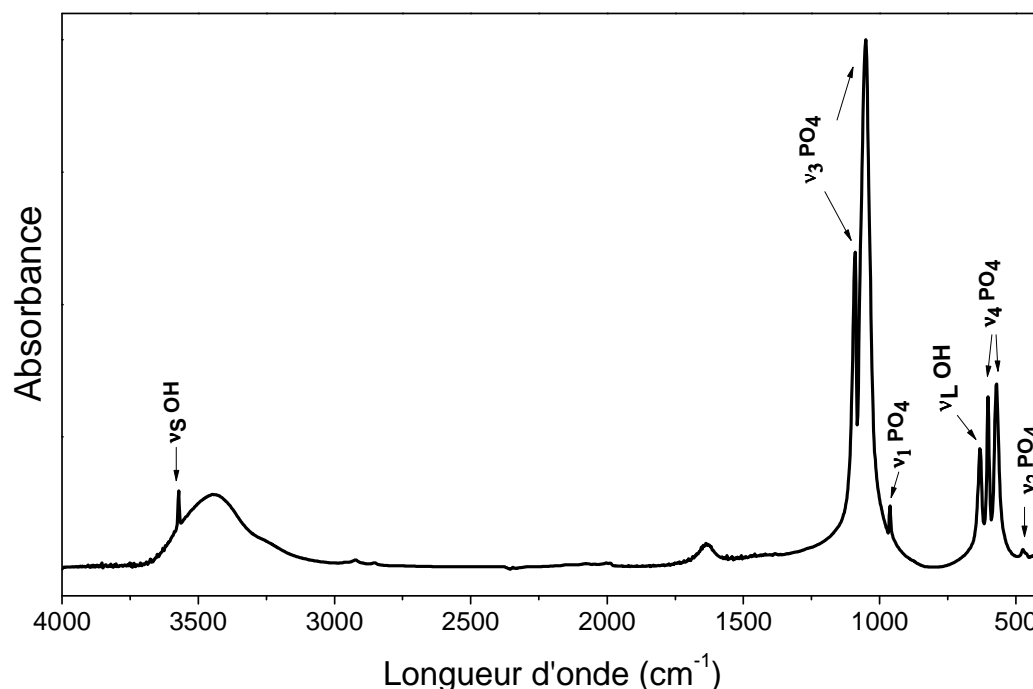


Figure 2.2: Spectre FTIR de l'hydroxyapatite de référence

Tableau 2.2 : Position et attribution des bandes infrarouges de l'HA de référence

Position et intensité des bandes (cm^{-1})	Attribution
470 (f)	$\nu_2\text{PO}_4$
572 (m)	$\nu_4\text{PO}_4$
602 (m)	
963 (f)	$\nu_1\text{PO}_4$
1052 (F)	$\nu_3\text{PO}_4$
1092 (F)	
632 (m)	$\nu_L\text{OH}$
3573 (m)	$\nu_S\text{OH}$

f : faible intensité ; F : forte intensité ; m : intensité moyenne

Une bonne résolution de ces bandes a été observée pour l'hydroxyapatite de référence attestant d'une bonne cristallinité de l'HA en raison des températures de réaction (précipitation à 80 – 100 °C) et de calcination élevées (900 °C) utilisées lors de sa synthèse.

Micro-spectroscopie Raman

La Figure 2.3 présente le spectre Raman obtenu pour la poudre d'HA de référence. Les bandes qui apparaissent entre 400 et 500 cm^{-1} , entre 550 et 630 cm^{-1} et entre 1000 et 1090 cm^{-1} correspondent respectivement aux modes de vibration $\nu_2\text{PO}_4$, $\nu_4\text{PO}_4$ et $\nu_3\text{PO}_4$ des groupements phosphates apatitiques. Les positions de ces bandes sont reportées dans le Tableau 2.3. Le pic intense à 960 cm^{-1} correspond au mode de vibration ν_1 des ions phosphate. Dans le domaine spectral 3550-3600 cm^{-1} , on observe la présence d'une seule bande intense et bien résolue à 3572 cm^{-1} attribuable aux ions hydroxyde de l'hydroxyapatite.

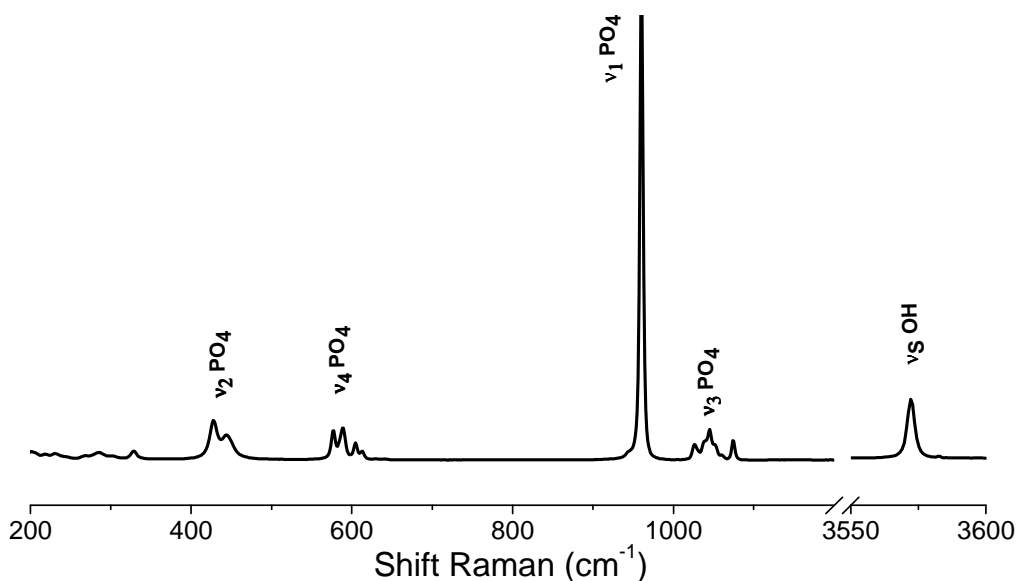


Figure 2.3: Spectre Raman de l'HA de référence

Tableau 2.3 : Position et attribution des bandes Raman de l'HA de référence

Position et intensité des bandes (cm ⁻¹)	Attribution
428 (m)	v ₂ PO ₄
444 (f)	
577 (m)	v ₄ PO ₄
589 (m)	
605 (f)	
612 (f)	
960 (F)	v ₁ PO ₄
1026 (f)	v ₃ PO ₄
1038 (ép)	
1045 (m)	
1052 (ép)	
1060 (f)	
1074 (m)	
3572 (m)	

f : faible intensité ; F : forte intensité ; m : intensité moyenne ; ép : épaulement

I-2-3. Dosages chimiques des éléments

Le dosage des ions calcium et phosphate a été effectué après solubilisation de la poudre d'HA dans l'acide nitrique (HClO₄, 6N), respectivement par volumétrie en retour après complexation par l'EDTA et par colorimétrie après formation du complexe phospho-vanado-molybdique. Les détails relatifs à ces méthodes de dosages chimiques ont été décrits dans l'Annexe 1. Les résultats des dosages sont rassemblés dans le Tableau 2.4. Le rapport atomique Ca/P de la poudre est de 1.66. Cette valeur peut être considérée comme représentative d'une hydroxyapatite stœchiométrique (1.667) dans la limite de l'incertitude du dosage chimique (1%).

Tableau 2.4 : Valeurs moyennes du dosage du phosphore et du calcium dans l'HA de référence (% massique ± erreur relative)

	Ca (%)	P (%)	Ca/P
	± 0.5 %	± 0.5 %	± 1 %
HA de référence	38.1	17.8	1.66

I-2-4. Caractérisations physiques des poudres

L'efficacité du procédé de projection plasma et les caractéristiques du dépôt obtenu sont fortement influencés par les propriétés physiques de la poudre injectée dans la torche. Nous

nous sommes donc intéressés à la caractérisation physique de la poudre d'HA de référence et en particulier sa morphologie, sa distribution granulométrique, sa surface spécifique ainsi que sa coulabilité.

Granulométrie

Les lots d'hydroxyapatite de référence ont été analysés par granulométrie laser après tamisage au laboratoire (*Annexe I*). Nous obtenons une poudre d'HA avec une distribution granulométrique monomodale comprise entre 50 et 80 μm et un $d_{0.5(\text{moyen})} = 69.5 \mu\text{m}$ (Figure 2.4). Nous observons également la présence de faibles quantités en volume de fines particules.

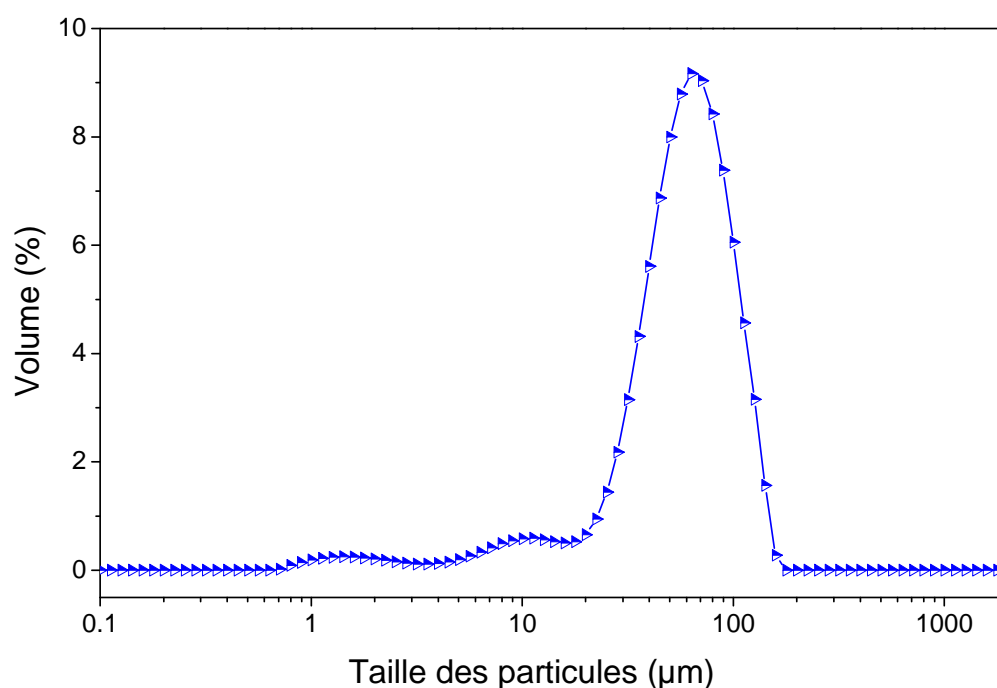


Figure 2.4: Distribution granulométrique de la poudre d'hydroxyapatite de référence

Microscopie électronique à balayage

La morphologie des grains d'hydroxyapatite a été observée par microscopie électronique à balayage (MEB). La Figure 2.5 présente des clichés de MEB de la poudre d'HA de référence à deux grossissements. Nous remarquons que les particules sont de forme irrégulière et de dimensions cohérentes avec la gamme de taille de particules choisie pour l'étude (50 à 80 μm).

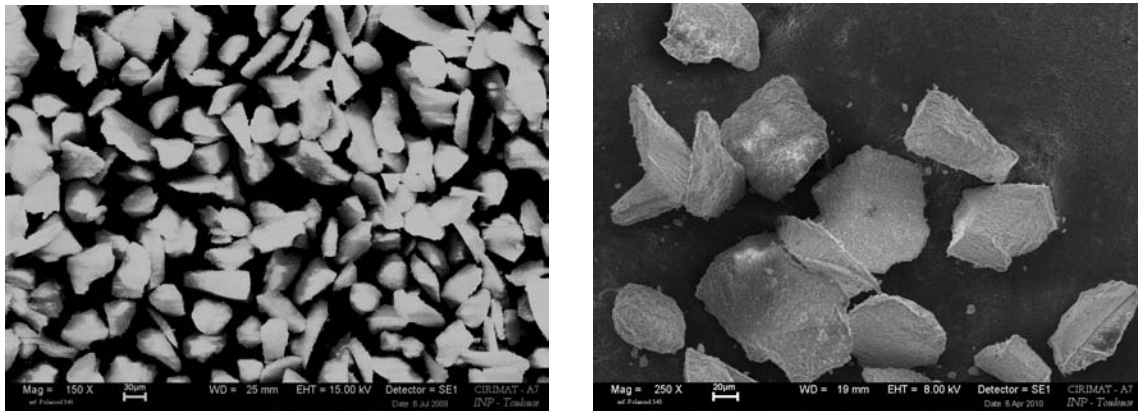


Figure 2.5 : Images MEB des particules d'hydroxyapatite de référence
(barre d'échelle de l'image de gauche : 30 µm – de l'image de droite : 20 µm)

Coulabilité

La coulabilité d'une poudre est une propriété physique qui caractérise son aptitude à l'écoulement. C'est une exigence primordiale pour la réussite du procédé de projection plasma.

Nous avons mesuré le temps d'écoulement de 100 g de poudre d'HA de référence dans un entonnoir spécifique (Figure 2.6) selon les recommandations de la Pharmacopée Européenne. La mesure est effectuée trois fois et une moyenne est calculée. La coulabilité de la poudre est caractérisée par la moyenne des trois temps mesurés.

La mesure révèle une coulabilité moyenne de $(27,26 \pm 3,44)$ secondes pour 100 g de poudre d'hydroxyapatite. Etant donné que cette poudre est commercialisée pour la projection plasma, nous allons considérer la valeur de coulabilité de l'HA de référence comme une valeur de référence et la comparer avec la coulabilité des poudres d'apatites élaborées dans la suite du travail de thèse présenté.

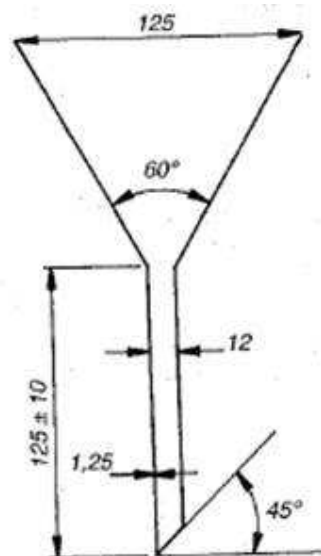


Figure 2.6 : Schéma du dispositif utilisé pour la mesure de la coulabilité de la poudre d'HA (dimensions en millimètres selon la Pharmacopée Européenne)

Surface spécifique

Les mesures de surface spécifique de l'hydroxyapatite de référence ont été réalisées par la méthode BET (*Annexe I*). L'hydroxyapatite de référence a une surface spécifique de $1.44 \pm 0.07 \text{ m}^2/\text{g}$. Cette valeur constitue une moyenne sur trois mesures.

I-3. Conclusion

Les résultats obtenus dans cette partie montrent que la poudre d'hydroxyapatite de référence fournie par la société Teknimed partenaire du projet Nanomed2 est une hydroxyapatite stœchiométrique de granulométrie comprise entre 50 et 80 μm . Les caractérisations par DRX montrent qu'il s'agit d'une phase unique correspondant à une hydroxyapatite stœchiométrique (JCPDS 09-432). Ce résultat est en accord avec les analyses chimiques (Ca/P $\sim 1,67$). L'analyse par spectroscopie d'absorption infrarouge et Raman met en évidence la présence des groupements hydroxyle dont les bandes d'absorption apparaissent nettement vers 3560 cm^{-1} et 630 cm^{-1} en spectroscopie FTIR et vers 3572 cm^{-1} en spectroscopie Raman. La distribution granulométrique est monomodale et la présence de fines particules ne perturbe pas la coulabilité de la poudre. De ce fait, l'HA de référence (T87-5080) est parfaitement adaptée à la projection plasma.

II. Synthèse et caractérisation de La fluorapatite et de la fluorhydroxyapatite**II-1. Synthèse et caractérisation de la fluorapatite (FA)**

L'utilisation de fluorapatite pour l'élaboration de revêtements par projection plasma a pour but d'accroître la résistance des revêtements entrant dans la composition d'implants orthopédiques. Dans cette perspective, la production de poudre nécessitera le développement d'une méthode de synthèse de la fluorapatite simple, rapide et transposable à grande échelle.

Synthèse de la fluorapatite

Parmi les différentes méthodes de synthèse de la fluorapatite présentées au Chapitre 1, notre choix a porté sur la fluoruration gazeuse de l'hydroxyapatite selon la réaction suivante :



Etude expérimentale

Le montage expérimental pour la réaction de fluoruration de la poudre d'hydroxyapatite de référence se compose d'un four tubulaire équipé d'un tube en alumine de diamètre interne 40 mm. L'hydroxyapatite à fluorurer est placée sous forme de poudre dans une nacelle en alumine au centre du four (900°C) et est balayée par un courant d'argon. L'agent de fluoruration (le fluorure d'ammonium) est placé dans une nacelle en alumine dans le flux gazeux en amont de la nacelle contenant l'échantillon d'HA (Figure 2.7). Un flacon laveur contenant une solution saturée en nitrate de calcium est placé à la sortie du tube afin de piéger les gaz toxiques (NH_3 , HF , ...).

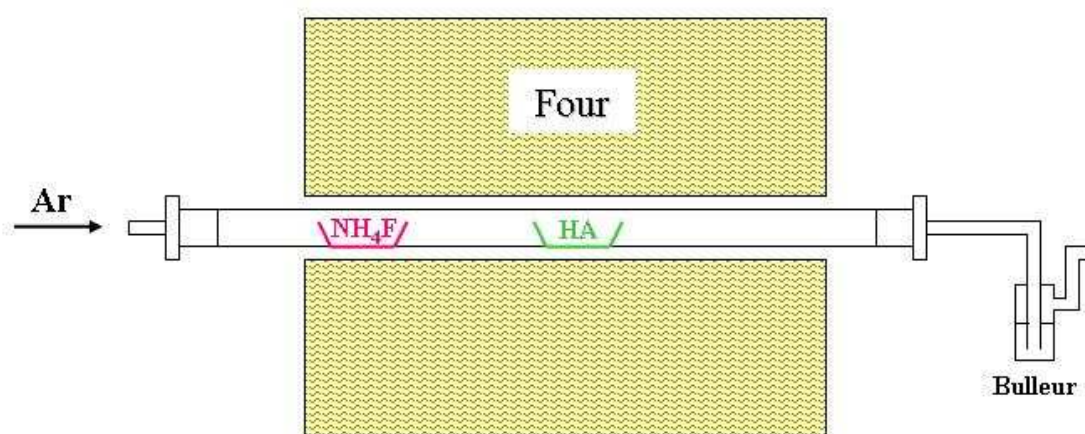


Figure 2.7 : Schéma du montage utilisé pour l'étude de la réaction de fluoruration gazeuse de l'hydroxyapatite

Parmi les paramètres déterminant de la réaction de fluoruration, figurent la température, la durée de traitement, la quantité de fluorure d'ammonium, la vitesse de sublimation du fluorure d'ammonium ainsi que le débit du flux gazeux. Ce dernier a été maintenu constant tout au long de notre travail. En effet, des études préliminaires ont montré que la réaction était très rapide et que ce paramètre influence essentiellement la vitesse de la fluoruration et non pas le processus lui-même. Tous les essais réalisés ont été effectués sur la poudre d'hydroxyapatite de référence de granulométrie 50-80 μm produite par la société Teknimed. Les différents paramètres utilisés lors des essais de fluoruration de l'hydroxyapatite sont répertoriés dans le Tableau 2.5.

Tableau 2.5 : Les différents paramètres des essais de fluoruration de l'hydroxyapatite de référence.

Echantillon	essai 1	essai 2	essai 3	essai 4	essai 5
Température (°C)	900	900	900	900	900
Durée du traitement (min)	30	60	60	60	60
R*	8	8	16	66	34
m(HAP) g	10	10	10	10	10
m(NH ₄ F) g	1,5	1,5	3	12	6,2

*R étant la quantité massique de fluorure d'ammonium utilisée, divisée par la quantité massique de fluorure d'ammonium nécessaire d'après l'équation de la réaction de fluoruration de l'HA (Eq. 1 : pour 10 g de HAP, il faut 0,18 g de NH₄F).

Résultats : Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

La FA synthétisée a été analysée par spectroscopie FTIR qui constitue une technique rapide pour mettre en évidence la dé-hydroxylation de l'apatite. Sur les spectres représentés sur la Figure 2.8, on observe l'apparition de nouvelles bandes à 3536 et 745 cm⁻¹ associées à une diminution de l'intensité des bandes OH de l'hydroxyapatite à 631 et 3570 cm⁻¹. Ces bandes sont attribuables aux interactions par liaison hydrogène entre les ions hydroxyle et fluorure, localisés dans les tunnels du réseau apatitique. Seul l'essai 4 semble n'avoir aucune bande détectable relative à la présence de groupements OH, ce qui attesterait d'une fluoruration totale ou quasi-totale de l'apatite.

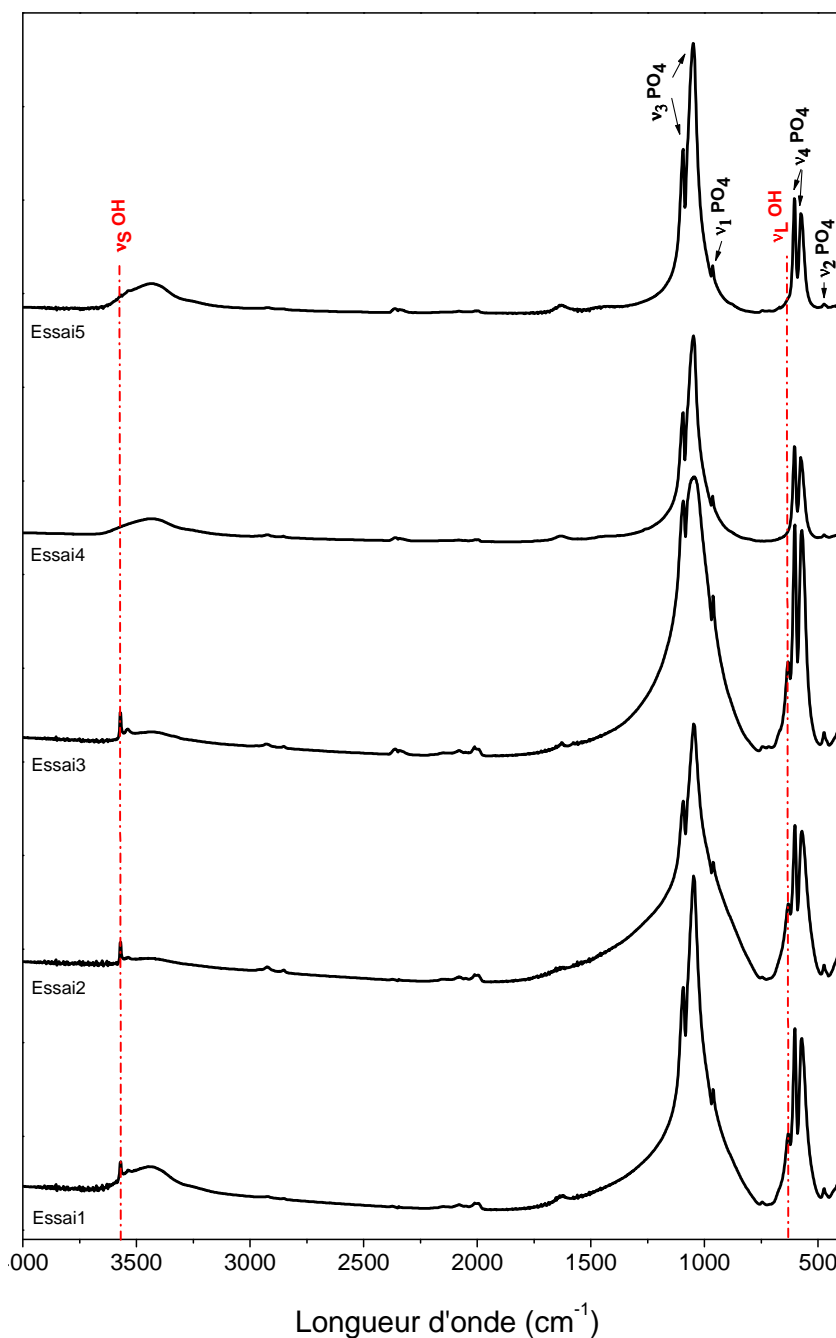


Figure 2.8 : Spectres FTIR des fluorapatites synthétisées dans différentes conditions (cf. Tableau 2.5)

Toutefois, nous constatons que la réaction d'échange est limitée et difficilement contrôlable. Par ailleurs, des problèmes de pollution du four, corrosion du tube et de reproductibilité des résultats sont également apparus. Un autre inconvénient de cette méthode de synthèse est qu'elle nécessite d'utiliser des quantités de fluorure d'ammonium plus de 60 fois supérieures à la quantité calculée d'après la stoechiométrie de la réaction chimique (Eq. 1).

Conclusion

Les essais de fluoruration de l'hydroxyapatite de référence effectués par réaction gaz-solide n'ont pas abouti à l'obtention d'une fluorapatite pure. Les limites et les problèmes liés à la mise en œuvre de cette voie de synthèse nous ont conduit à abandonner la poudre de FA pour ce projet au profit de la FHA qui posséderait en comparaison de la FA, des propriétés très proches et une plus grande stabilité (*cf. Chapitre I*). De plus cette phase a été développée au laboratoire CIRIMAT dans le cadre des travaux de thèse de X. Ranz. (Ranz 1996; Gineste *et al.* 1999) il apparaît donc intéressant de poursuivre ce travail et de préparer la fluohydroxyapatite FHA (50% fluorée et 50% hydroxylée) par précipitation en solution.

II-2. Synthèse de la fluorhydroxyapatite

La fluorhydroxyapatite-50 (FHA-50 : 50% des ions hydroxyde substitués par des ions fluorures) de formule chimique $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{FOH}$ a été synthétisée par double décomposition entre une solution de calcium (solution A) et une solution de phosphate et de fluorure (solution B). Cette méthode permet d'obtenir plus facilement des apatites phosphocalciques sans impuretés avec des rapports atomiques proches de la stoechiométrie (Trombe 1972). Elle permet également de synthétiser une grande quantité de FHA-50 tout en contrôlant la réaction et en agissant sur les réactifs séparément. Le taux de fluorure à introduire et les conditions expérimentales ont été choisis conformément aux travaux de thèse de Ranz (Ranz 1996). L'équation de la réaction s'écrit comme suit :



La réaction est quasiment totale en raison de la faible solubilité de la FHA.

II-2-1. Conditions expérimentales

La synthèse est réalisée dans un ballon de 10 litres surmonté d'un réfrigérant et relié au montage expérimental représenté sur la Figure 2.9. Le montage a été conçu de sorte à contrôler en continu les différentes variables intervenant au cours de la synthèse : la température est maintenue constante (80 °C) à l'aide d'un thermostat couplé à un thermomètre de contact, la durée de précipitation (environ 90 minutes) est contrôlée par le débit de la pompe péristaltique et le pH de la solution est maintenu constant (pH = 7) grâce à un montage de type pH-stat constitué d'une électrode plongée dans la suspension et reliée à un impulsomat. Celui-ci a pour rôle d'envoyer un signal à la burette automatique qui ajoute de l'ammoniaque afin de réguler le pH de la suspension (Figure 2.9).

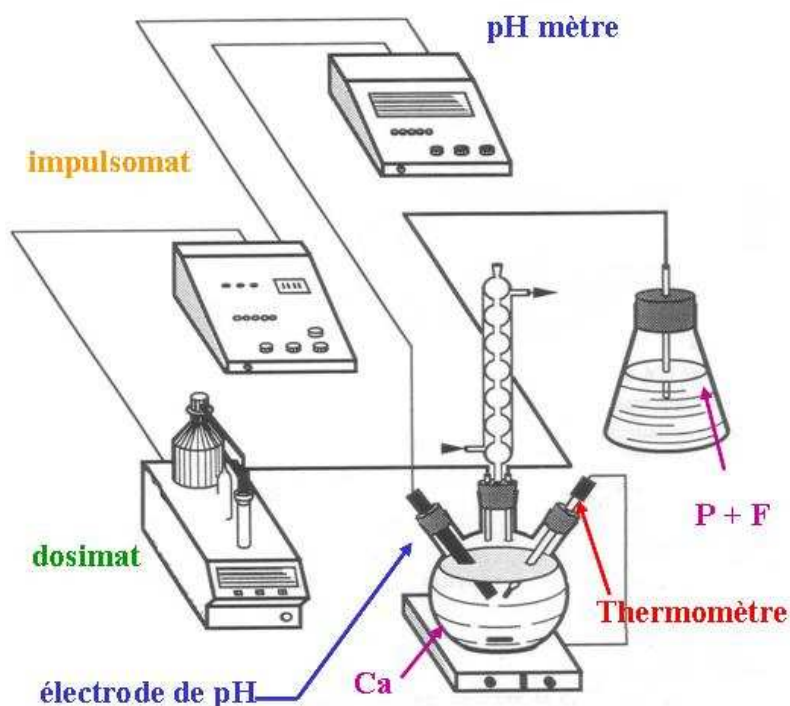


Figure 2.9: Montage utilisé pour la synthèse de la FHA-50 par précipitation à pH constant

II-2-2. Préparation des solutions

Solution A :

La solution A est préparée à partir d'un sel de calcium. Nous avons choisi d'utiliser le nitrate de calcium tétrahydraté ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) pour sa grande solubilité et son coût moins élevé. La solution a été élaborée par mise en suspension de 940 g de nitrate de calcium tétrahydraté dans 3500 mL d'eau désionisée

Solution B :

La solution B est composée d'hydrogénophosphate de di-ammonium ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) et de fluorure d'ammonium NH_4F . On solubilise ces deux sels dans deux erlenmeyers distincts, 315.65 g d'hydrogénophosphate de di-ammonium dans 3000 mL d'eau et 15.56 g de fluorure d'ammonium dans 500 mL d'eau.

II-2-3. Précipitation de la FHA

Lorsque la température de la solution A atteint 80 °C, la solution B est ajoutée goutte à goutte grâce à une pompe péristaltique tout en maintenant le pH à 7 grâce au pH-stat. La durée de l'ajout est d'environ 90 minutes.

Une fois la précipitation terminée, le précipité est refroidi lentement jusqu'à 40 °C, filtré sur büchner et lavé à l'eau distillée (environ 2 à 3 fois le volume de la solution). Il est ensuite séché à l'étuve à 90 °C pendant au moins 24 heures. La poudre récupérée est calcinée à 900 °C pendant 15 heures, broyée puis tamisée entre 50 et 80 µm.

On produit environ 400 g de poudre par synthèse. On en récupère moins de 40% après broyage. Ceci nous a amené à effectuer plusieurs synthèses afin d'obtenir un lot suffisamment important pour la fabrication de dépôts par projection plasma. Pour chaque essai de projection plasma, il faut compter au moins 1 kg de poudre afin de garder un débit de poudre constant pendant toute la projection.

II-3. Caractérisation physico-chimique de la fluorhydroxyapatite-50

II-3-1. Analyse par diffraction des rayons X

Le diagramme de diffraction des rayons X de la FHA-50 synthétisée est présenté sur la Figure 2.10. L'analyse de la position et de l'intensité des raies indique une phase apatitique correspondant à une fluorhydroxyapatite (JCPDS 09-432). On ne détecte aucune autre phase cristallisée étrangère. De plus, on ne remarque pas de raies relatives au CaO sur le diagramme. De plus, le test à la phénolphtaléine réalisé juste après calcination s'est avéré négatif.

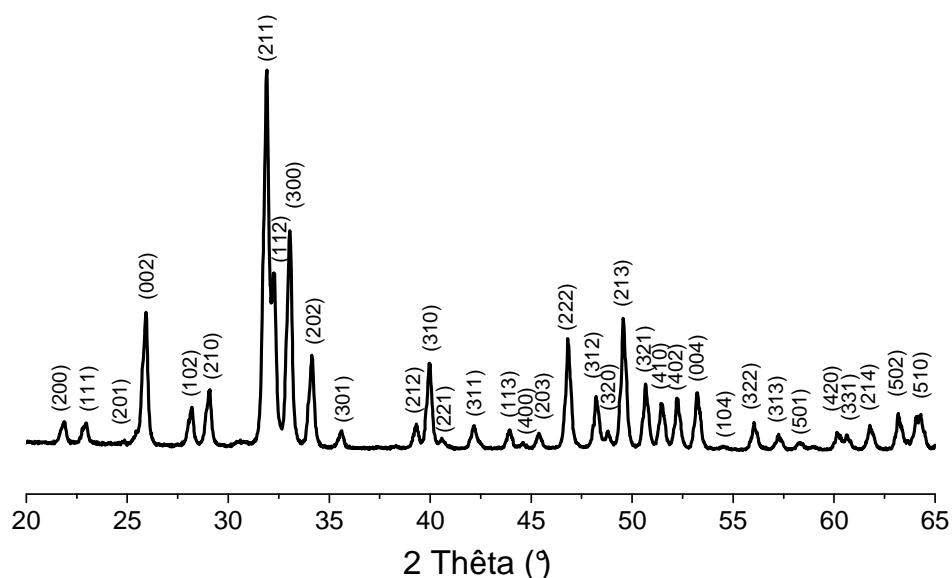


Figure 2.10 : Diagramme de diffraction des rayons X de la FHA-50 synthétisée.

II-3-2. Caractérisations spectroscopiques

Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

L'analyse du spectre d'absorption infrarouge de la FHA-50 dans le domaine spectral 4000 et 400 cm^{-1} (Figure 2.11) met en évidence les bandes caractéristiques des groupements phosphates et hydroxyle similaires à celles de l'HA. Les positions des bandes sont reportées dans le Tableau 2.6. Néanmoins, on détecte trois bandes supplémentaires sur ce spectre : à 670, 715 et 740 cm^{-1} correspondant aux modes de libration des ions OH^- et attribuées à la formation de faibles liaisons hydrogène F-OH dans la FHA hydroxylée (Freund and Knobel 1977). On remarque aussi l'affaiblissement d'intensité des bandes à 3570 et 630 cm^{-1} .

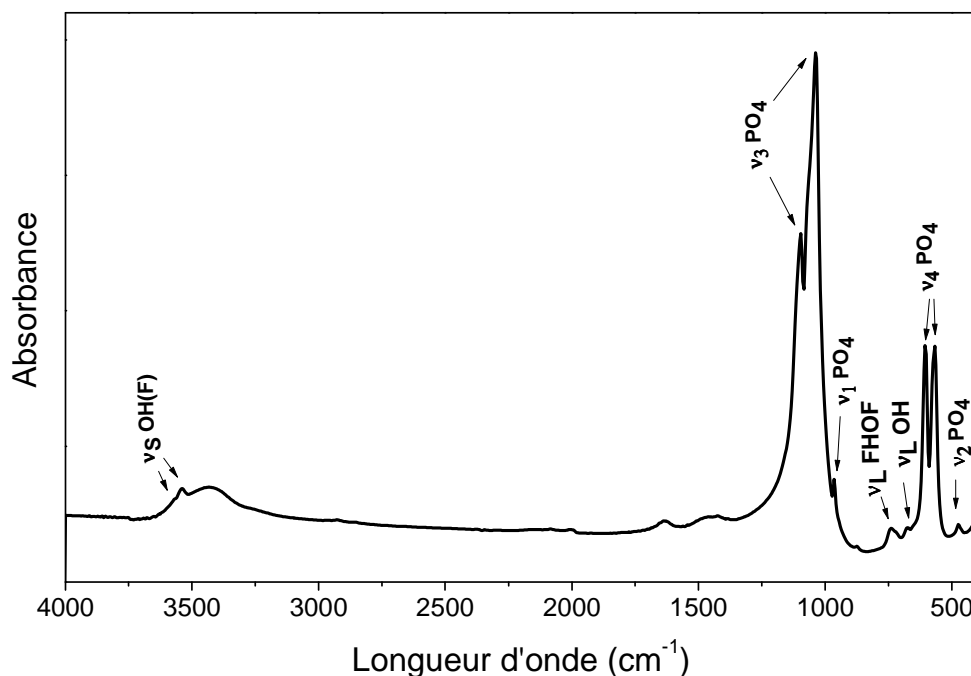


Figure 2.11 : Spectre FTIR de la fluorhydroxyapatite-50 synthétisée

Tableau 2.6 : Position, intensité et attribution des bandes infrarouges de la FHA-50 synthétisée

Position et intensités des bandes (cm^{-1})	Attribution
474 (f)	$\nu_2\text{PO}_4$
567 (m)	$\nu_4\text{PO}_4$
604 (m)	
967 (f)	$\nu_1\text{PO}_4$
1036 (F)	$\nu_3\text{PO}_4$
1094 (F)	
677 (f)	$\nu_L\text{OH(F)}$
715 (f)	
739 (f)	
3545 (f)	$\nu_s\text{OH(F)}$
3576 (f)	

f : faible intensité ; F : forte intensité ; m : intensité moyenne

Micro-spectroscopie Raman

Le spectre Raman de la FHA-50 après calcination révèle la présence de bandes de vibration dans les domaines $400-500\text{ cm}^{-1}$, $550-630\text{ cm}^{-1}$ et $1000-1090\text{ cm}^{-1}$ (Figure 2.12). Ces bandes sont reportées dans le Tableau 2.7 : elles sont bien définies et correspondent respectivement aux groupements phosphates apatitiques. Dans le domaine spectral $3400-3700\text{ cm}^{-1}$, le spectre Raman montre un signal élargi et de faible intensité d'où émergent trois pics principaux : 3572 , 3562 et 3541 cm^{-1} ainsi qu'un épaulement à 3527 cm^{-1} . La présence de ces pics est en accord avec la littérature (Penel 1995).

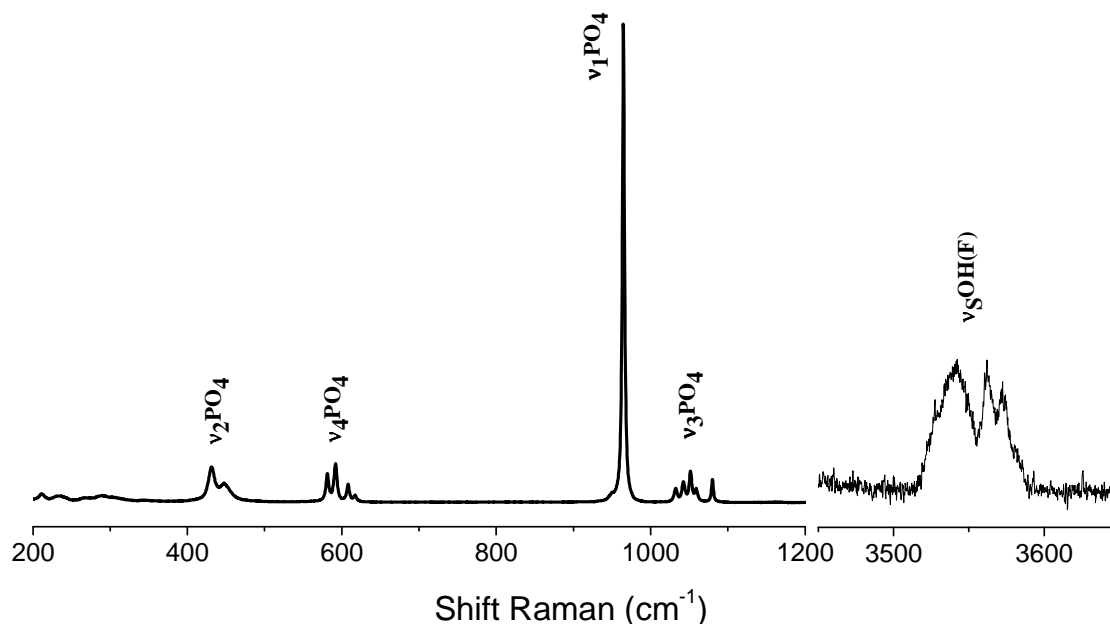


Figure 2.12 : Spectre Raman de la fluorhydroxyapatite-50 synthétisée

Tableau 2.7 : Position et attribution des bandes Raman de la FHA-50 synthétisée

Position et intensités des bandes (cm^{-1})	Attribution
432 (m)	$\nu_2\text{PO}_4$
449 (f)	
581 (m)	$\nu_4\text{PO}_4$
592 (m)	
608 (f)	
617 (f)	
965 (F)	$\nu_1\text{PO}_4$
1032 (f)	$\nu_3\text{PO}_4$
1042 (f)	
1052 (m)	
1059 (f)	
1080 (m)	
3541 (m)	$\nu_s\text{OH(F)}$
3563 (m)	
3572 (f)	

f : faible intensité ; F : forte intensité ; m : intensité moyenne

II-3-3. Dosages chimiques des éléments

Les pourcentages massiques de calcium et de phosphore dans la FHA synthétisée déterminés par dosages chimiques ainsi que le rapport atomique Ca/P calculé sont reportés dans le Tableau 2.8. Le pourcentage massique du fluor a été évalué par dosage ionométrique du fluor (voir protocole opératoire en *Annexe I*). Nous supposons que tout le fluor dosé se trouvait dans la FHA-50 synthétisée. Ceci nous conduit à admettre que les sites anioniques monovalents sont uniquement occupés par les ions fluorure et hydroxyle.

Le dosage des fluorures permettra de déterminer le taux de fluoruration (T_F) de la FHA synthétisée. A partir de la formule générale des fluorhydroxyapatites : $Ca_{10}(PO_4)_6F_x(OH)_{2-x}$ le taux (T_F) peut être déterminé et correspond au rapport : $(x*100)/2$.

Les résultats du rapport atomique Ca/P et du % des ions fluorure varient légèrement d'un échantillon à l'autre néanmoins les valeurs moyennes sont proches de celles d'une FHA-50 stoechiométrique. Nous avons calculé le taux de fluoruration de la FHA synthétisée à partir du pourcentage massique de fluorure : nous obtenons 50.6 %.

Tableau 2.8 : Valeurs moyennes des % massiques des différents éléments déterminés par dosage du phosphore, du calcium et du fluorure dans la FHA-50 synthétisée

	Ca (%)	P (%)	F (%)	Ca/P
	± 0.5 %	± 0.5 %	± 0.5 %	± 0.02
FHA-50 Théorique	39.8	18.5	1.9	1.67
FHA-50 synthétisée	41.6	19.4	1.9	1.66

II-3-4. Caractérisation physique de la poudre de FHA 50 synthétisée

En complément des caractérisations physico-chimiques, les caractérisations physiques ont pour objectif d'évaluer l'aptitude de la FHA-50 synthétisée à être mise en oeuvre pour la projection plasma. Cette évaluation est menée au laboratoire d'une part par la mesure de la coulabilité après vérification de la granulométrie et d'autre part, par l'observation de la morphologie des particules par microscopie électronique à balayage.

Microscopie électronique à balayage

Les micrographies MEB présentées sur la Figure 2.13 montrent que la poudre de fluorhydroxyapatite-50 est fortement agglomérée. Les grains sont composés de fines particules d'environ 1 μm agglomérées entre elles.

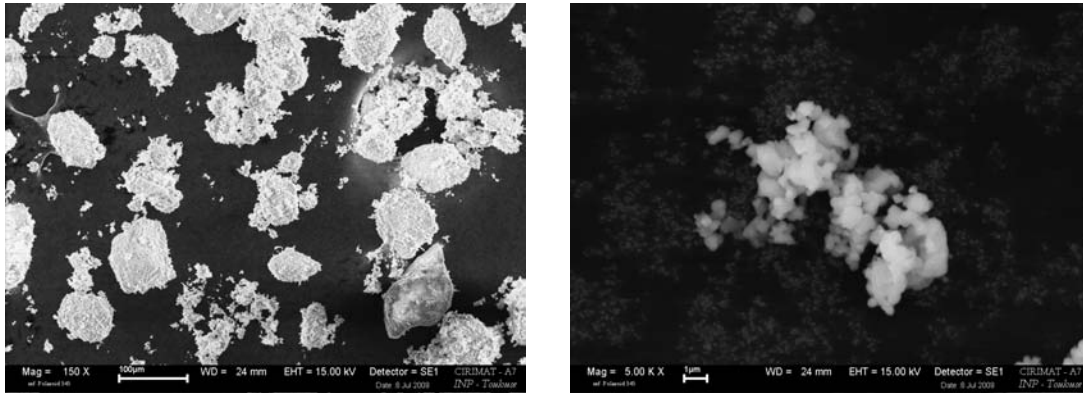


Figure 2.13 : Micrographies MEB de la fluorhydroxyapatite-50 synthétisée
(barre d'échelle de l'image de gauche : 100 μm – de l'image de droite : 1 μm)

Granulométrie

La Figure 2.14 présente la courbe de distribution granulométrique de la poudre de FHA-50 synthétisée. On peut remarquer que la distribution s'étend sur une centaine de microns (0.7 - 140 μm). Elle est multimodale avec un pic principal centré sur 60 μm ; on remarque également la présence de fines particules avec deux pics centrés sur 1 μm et sur 10 μm . Les raisons de ces observations restent inconnues.

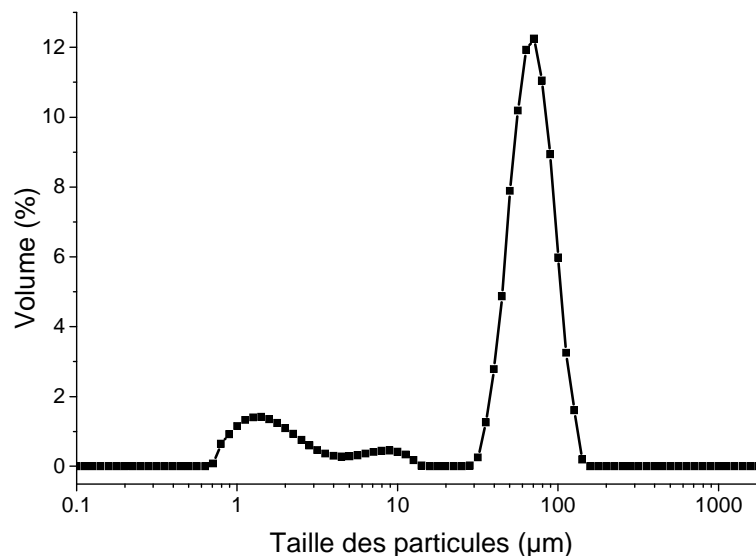


Figure 2.14 : Distribution granulométrique de la fluorhydroxyapatite-50 synthétisée

Coulabilité

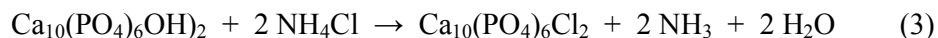
La coulabilité de la poudre FHA-50 synthétisée de granulométrie 50-80 μm n'a pu être évaluée car, même après de multiples essais, la poudre ne s'écoule pas dans l'entonnoir de l'essai correspondant à la norme. Cependant, la FHA-50 de granulométrie supérieure à 80 μm a une bonne coulabilité dont la valeur est proche de celle de l'HA de référence. Afin d'élucider les raisons de ce problème, nous avons conduit un certain nombre d'expérimentations additionnelles en collaboration avec le Pr. Nadine Le Bolay du Laboratoire de Génie Chimique de Toulouse. Cette étude complémentaire avait pour but de diminuer les charges électrostatiques de surface responsables en partie de l'agglomération des particules par traitement en milieu éthanol. Deux granulométries de FHA-50 ont été étudiées (50-80 μm et 80-200 μm). Nous avons réussi à améliorer la coulabilité des poudres de granulométrie 80-100 μm , cependant la FHA-50 de taille granulométrique 50-80 μm reste non coulable.

II-4. Conclusion

La synthèse de la FHA-50 en solution permet de produire une pureté et des quantités de poudres suffisantes pour envisager des applications industrielles. La caractérisation physico-chimique atteste de la pureté de cette poudre et de sa stœchiométrie néanmoins les propriétés physiques de celle-ci notamment sa non coulabilité présentent un handicap majeur à son développement industriel pour la projection plasma. Une étude plus approfondie visant l'amélioration des propriétés de surface de la FHA-50 a été menée en collaboration avec le Laboratoire de Génie Chimique de Toulouse. Les résultats de cette étude n'ont pas permis l'amélioration de la coulabilité de la FHA-50 étudiée. Néanmoins, nous avons réussi à améliorer celle d'une FHA-50 de granulométrie supérieure à 80 μm .

III. Synthèse et caractérisation de la chlorapatite stœchiométrique**III-1. Synthèse de la chlorapatite stœchiométrique**

La chlorapatite (CIA) de formule chimique $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$ a été synthétisée au laboratoire à partir de l'hydroxyapatite de référence (T87-5080) et de chlorure d'ammonium selon une réaction solide-gaz. La synthèse est effectuée dans un four tubulaire sous flux de gaz inerte (argon) à 950 °C (Figure 2.15) selon la réaction suivante :



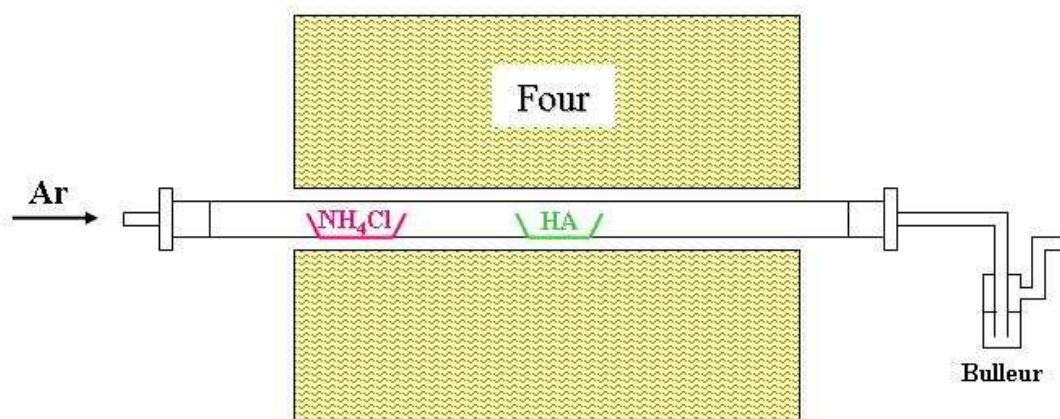


Figure 2.15 : Schéma du montage de la réaction de chloruration de l'hydroxyapatite

Les réactifs sont mis séparément dans des creusets en platine. La poudre d'HA de référence est placée au centre du tube en alumine où la température est au maximum (950 °C) tandis que le chlorure d'ammonium est mis dans une région où la température avoisine sa température de sublimation (400 °C). Plusieurs synthèses ont été effectuées afin de constituer un lot de poudre (1 kg) suffisamment important pour les besoins des partenaires industriels du projet Nanomed2 chargés de l'élaboration des dépôts.

III-2. Caractérisation physico-chimique de la chlorapatite

III-2-1. Analyse par diffraction des rayons X

Le diagramme de diffraction X de la chlorapatite présenté sur la Figure 2.16 met en évidence des raies bien définies caractéristiques d'une chlorapatite pure sans aucune phase étrangère. Les raies de diffraction observées correspondent à la fiche JCPDS 01-70-1454 relative à une chlorapatite monoclinique. Nous constatons qu'un changement de système cristallin, d'hexagonal (HA de référence) au système monoclinique (CIA synthétisée) a eu lieu pendant la chloruration. De plus, d'après la littérature, une transition de phase de la CIA hexagonal-monoclinique se déroule entre 185 et 210 °C (Elliott 1994). Des investigations complémentaires ont été menées pour étudier la transition de la CIA ; elles sont présentées dans le chapitre 3.

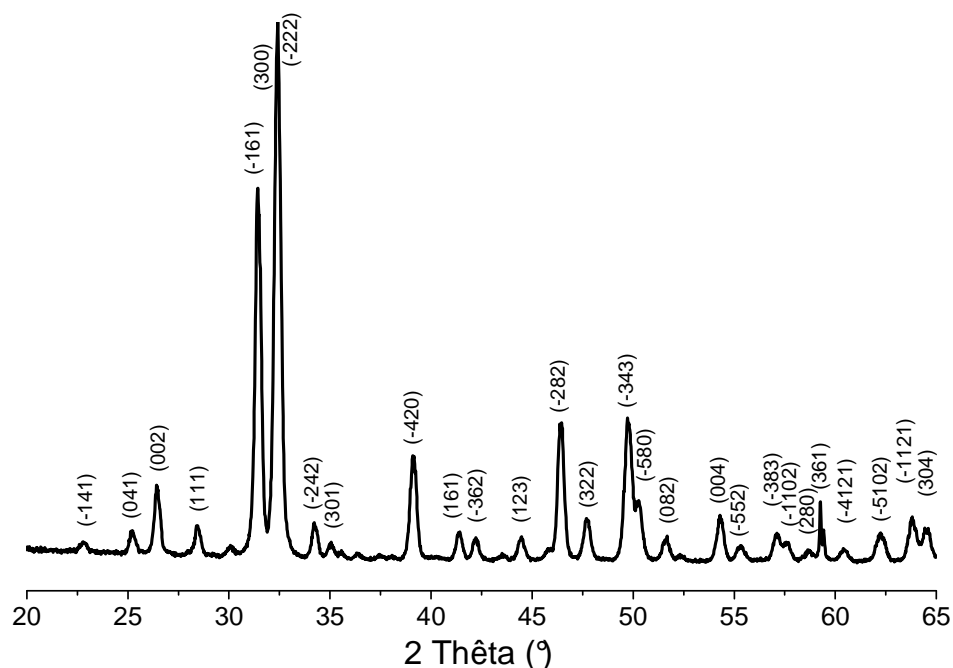


Figure 2.16 : Diagramme de diffraction des RX de la chlorapatite synthétisée

III-2-2. Caractérisations spectroscopiques

Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Les positions des bandes d'absorption relatives aux groupements PO_4^{3-} sont reportées dans le Tableau 2.9. On constate que ces bandes sont semblables à celles observées pour l'hydroxyapatite de référence. Il s'agit des bandes d'absorption situées entre $1100 - 900 \text{ cm}^{-1}$ et $600-500 \text{ cm}^{-1}$ (Figure 2.17). Les bandes d'absorption qui correspondent aux OH⁻ à 3570 cm^{-1} et à 630 cm^{-1} sont absentes attestant ainsi d'une chloruration totale de l'HA de départ.

On remarque également l'absence de la bande à 3497 cm^{-1} attribuée à un mode de vibration Cl...OH (Young and Elliott 1966) qui augmente au fur et à mesure que les ions chlorure remplacent les ions hydroxyle. L'intensité de cette bande diminue avec le taux de chloruration jusqu'à disparaître pour la ClA pure.

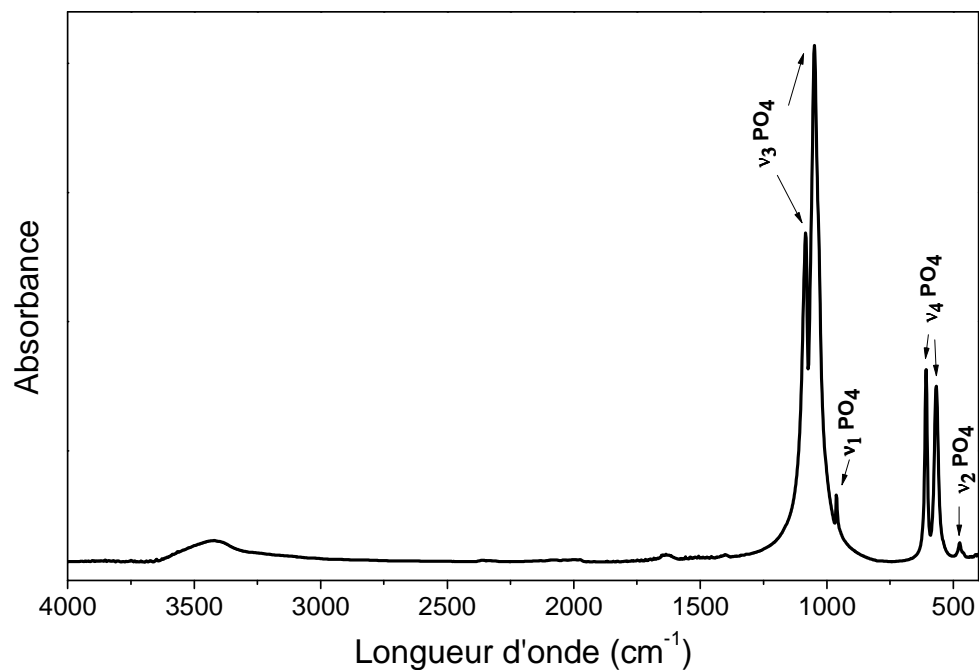


Figure 2.17 : Spectre d'absorption infrarouge de la chlorapatite synthétisée

Tableau 2.9 : Position, intensité et attribution des bandes d'absorption en infrarouge de la CIA

Position et intensité des bandes (cm ⁻¹)	Attribution
476 (f)	ν ₂ PO ₄
566 (m)	ν ₄ PO ₄
607 (m)	
962 (m)	ν ₁ PO ₄
1048 (F)	ν ₃ PO ₄
1086 (F)	

f : faible intensité ; F : forte intensité ; m : intensité moyenne

Micro-spectroscopie Raman

Le spectre Raman de la chlorapatite (Figure 2.18) présente les mêmes bandes de vibration des groupements phosphate que celles observées pour l'hydroxyapatite de référence. Cependant, la bande de vibration caractéristique des ions OH⁻ n'apparaît pas sur le spectre de la CIA. Ce résultat est en accord avec l'analyse par spectroscopie FTIR montrant qu'on a une chlorapatite sans groupements hydroxyle.

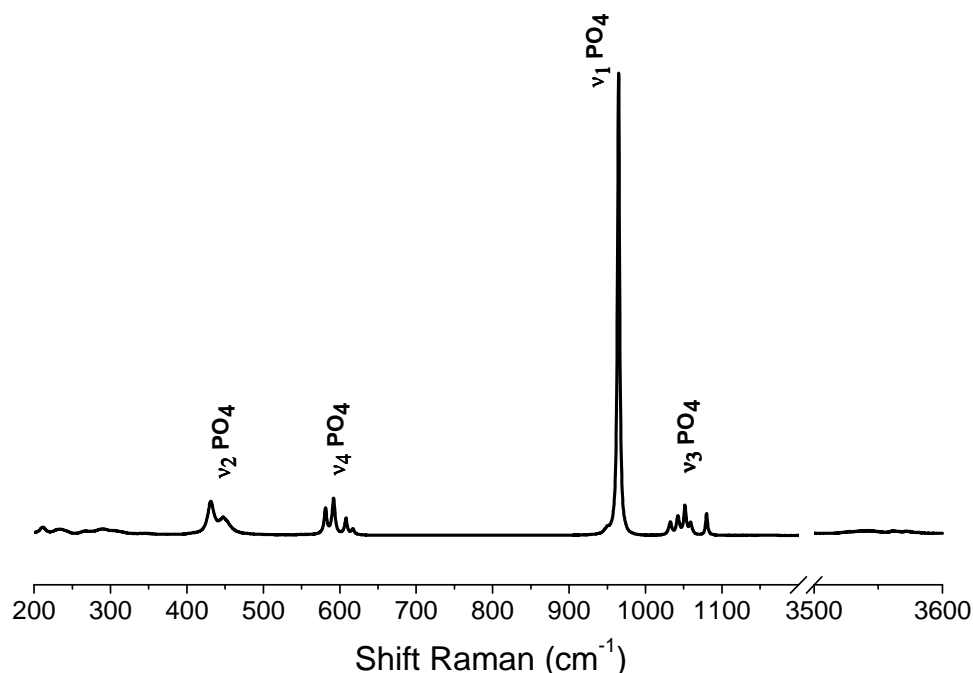


Figure 2.18 : Spectre Raman de la chlorapatite synthétisée

III-2-3. Dosages chimiques des éléments

Nous avons déterminé les pourcentages massiques des ions calcium et chlorure ainsi que du phosphore par analyses chimiques (Tableau 2.10). Le dosage des ions chlorure a été effectué au laboratoire par gravimétrie. Le protocole expérimental est décrit dans l'Annexe 1. Le pourcentage d'ions chlorure obtenu expérimentalement est de 6.0 %. Cette valeur est très proche du % théorique (6.7 %) des ions chlorures dans une chlorapatite totalement substituée ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$).

Tableau 2.10 : Valeurs moyennes de la proportion massique de phosphore, calcium et chlore dans la chlorapatite synthétisée

CIA	Ca (%)	P (%)	Cl (%)	Ca/P
	± 0.5 %	± 0.5 %	± 0.5 %	± 0.02%
Théorique	38.5	17.8	6.7	1.67
Obtenue	38.2	17.7	6.0	1.67

III-2-4. Caractérisation physique des poudres

Granulométrie

La distribution granulométrique multimodale présentée sur la Figure 2.19 montre qu'on a des particules de granulométrie allant de 0.7 à 140 μm avec une granulométrie moyenne ($d_{0,5}$) de 56.50 μm . Ces valeurs sont comparables à celles observées dans le cas de l'apatite de référence.

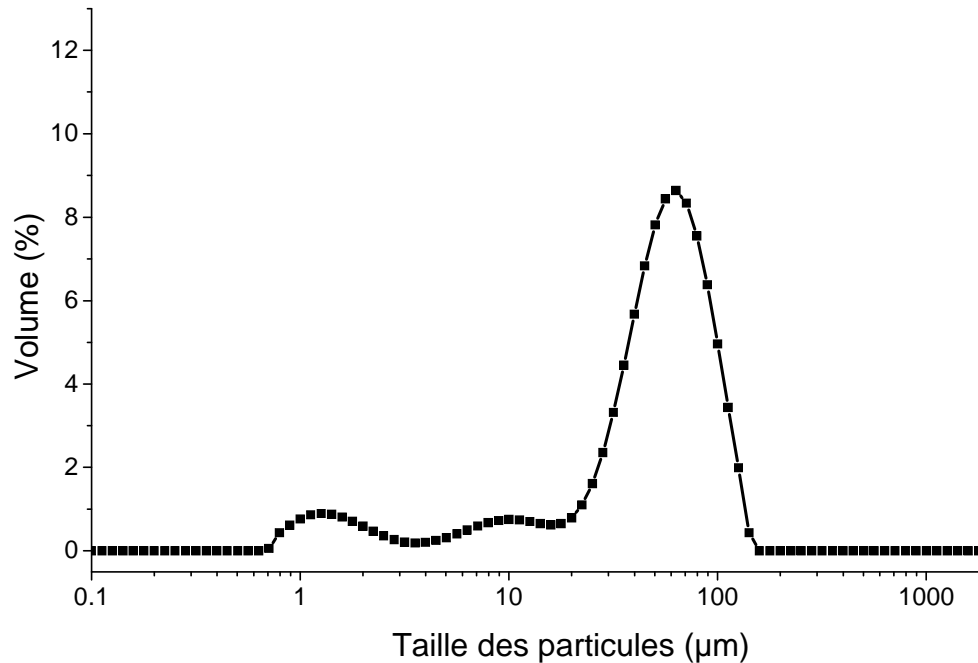


Figure 2.19 : Distribution granulométrique de la chlorapatite synthétisée

Microscopie électronique à balayage

La Figure 2.20 présente deux images MEB des granules de CIA. La première prise à un faible grossissement montre l'irrégularité des particules et la deuxième prise à un grossissement plus élevé met en évidence la morphologie irrégulière des particules qui reste similaire à celle de l'HA avec cependant un changement d'aspect à la surface visible sur les images à plus fort grossissement (cf. Chapitre 2, I-2-4).

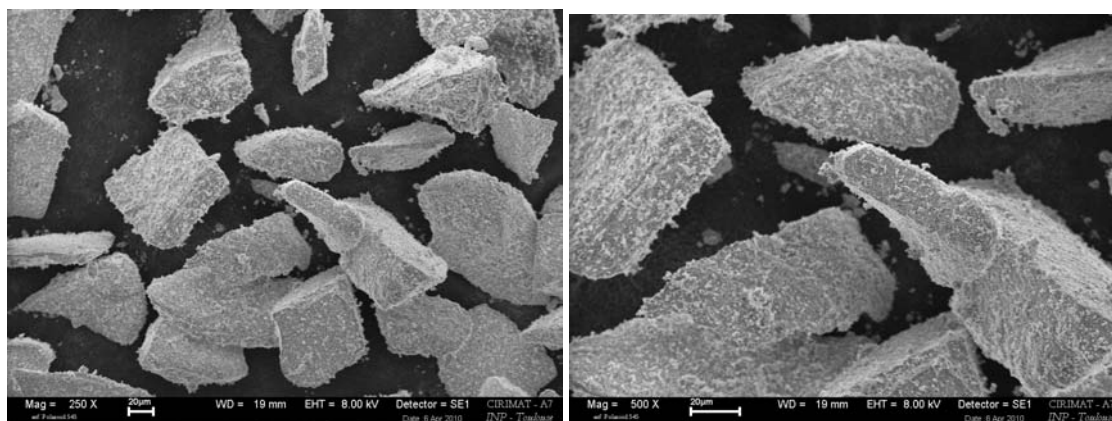


Figure 2.20 : Micrographies MEB de la chlorapatite synthétisée (barre d'échelle de l'image de gauche : 20 µm – de l'image de droite : 20 µm)

Coulabilité

Les résultats des mesures de coulabilité de la poudre de CIA sont rassemblés dans le Tableau 2.11. On constate que la chlorapatite présente une meilleure coulabilité (environ 5 secondes) par rapport à celle de l'HA (environ 28 secondes). Ceci pourrait être dû à une modification de la surface des grains après la chloruration par réaction solide-gaz.

Tableau 2.11 : Coulabilité des granulés de chlorapatite synthétisée

	Coulabilité (s)			
	mesure 1	mesure 2	mesure 3	moyenne
CIA	5,11	4,49	4,65	4,75

Surface spécifique

Le résultat de la mesure de la surface spécifique de la poudre de CIA suivant la méthode BET est $S_{\text{BET}} = 1.48 \pm 0.15 \text{ m}^2/\text{g}$. Cette valeur est très proche de celle de la poudre d'HA de référence.

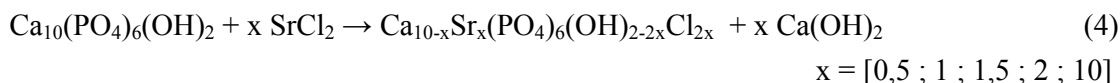
III-3. Conclusion

Les chlorapatites phosphocalciques, exemptes d'ions hydroxyles peuvent être préparées par réaction solide-gaz à partir d'une hydroxyapatite stoechiométrique. On obtient une chlorapatite pure ayant une coulabilité meilleure que la poudre d'HA initiale (7 fois plus rapide que l'HA). Les caractéristiques physico-chimiques de la poudre de CIA synthétisée ainsi que la stabilité thermique connue de la CIA (*cf. Chapitre 1*) font de la poudre de CIA synthétisée une candidate potentielle à la projection plasma.

IV. Etude expérimentale des chlorapatites calcostrontiques

IV-1. Synthèse des apatites calcostrontiques

Nous avons synthétisé des chlorapatites contenant différents taux de strontium (SrAp) par réaction solide-solide entre l'hydroxyapatite stoechiométrique et du chlorure de strontium dans un four tubulaire. La réaction dure deux heures et la température du palier est fixée à 950 °C sous balayage d'argon. Nous avons étudié cette réaction en utilisant différents rapports molaires des deux réactifs, l'hydroxyapatite stoechiométrique et le chlorure de strontium, calculés comme suit : $[Sr]/[Ca+Sr] = 0.05, 0.10, 0.15, 0.20$ et 1. La réaction chimique mise en jeu est la suivante :



L'hydroxyapatite ainsi que le chlorure de strontium ont été intimement broyés dans un mortier en agate. L'ensemble est mis dans un creuset en platine puis porté progressivement à une température voisine de 950 °C sous atmosphère d'argon.

On obtient un bloc fritté plus au moins verdâtre qui à la suite d'un broyage au mortier se transforme en poudre. Celle-ci contient de l'apatite et également des traces d'hydroxyde de calcium. Un lavage de cette poudre dans de l'eau désionisée est nécessaire afin d'éliminer l'hydroxyde de calcium formé lors de la réaction. La poudre est ensuite filtrée sur büchner puis séchée à l'étuve à 90 °C pendant une nuit. Dans la suite de la présentation de ces travaux, la dénomination de chaque échantillon d'apatite calcostrontique synthétisée (SrAp - x) tient compte de x (cf. Eq. 4), le rapport molaire des deux réactifs.

IV-2. Caractérisation physico-chimique des apatites calcostrontiques

IV-2-1. Diffraction des rayons X

Les diagrammes de diffraction des rayons X des apatites calcostrontiques sont présentés sur la Figure 2.21. Le diagramme de diffraction des RX de la SrAp-0.5 ne présente aucun changement significatif vis-à-vis de celui de l'HA. Par ailleurs, on constate sur l'ensemble des diagrammes que plus le rapport Sr/Ca+Sr utilisé lors de la synthèse augmente, plus la raie (002) devient large et mal résolue.

Nous avons évalué la largeur à mi-hauteur (FWHM) de la raie 002 (Tableau 2.13) généralement associée à la dimension des cristallites (Scherrer). Nous constatons que la largeur de raie augmente avec l'ajout de Sr (plus significativement pour la SrAp-1 que pour

les autres échantillons). Wang *et al.* ont effectué la même observation et concluent que la taille des cristaux diminue avec l'incorporation du strontium dans le réseau apatitique (Wang and Ye 2008). Toutefois cette interprétation est sujette à caution, en effet dans le cas de solutions solides il existe d'importantes contraintes dans le réseau cristallin, liées au remplacement d'ions Ca^{2+} par des ions Sr^{2+} plus volumineux et une partie importante de l'élargissement des raies de diffraction observé est certainement attribuable à cet effet.

De plus, on peut remarquer que la raie (002) se déplace légèrement vers les bas angles ce qui suggère une substitution de Ca par Sr dans le réseau apatitique. Ce léger déplacement pourrait être le résultat d'une compensation partielle entre l'augmentation du paramètre c due à la substitution des Ca par Sr et la diminution du paramètre c engendrée par la substitution des ions hydroxyles par des ions chlorures au sein du réseau apatitique (Li *et al.* 2007; O'Donnell *et al.* 2008).

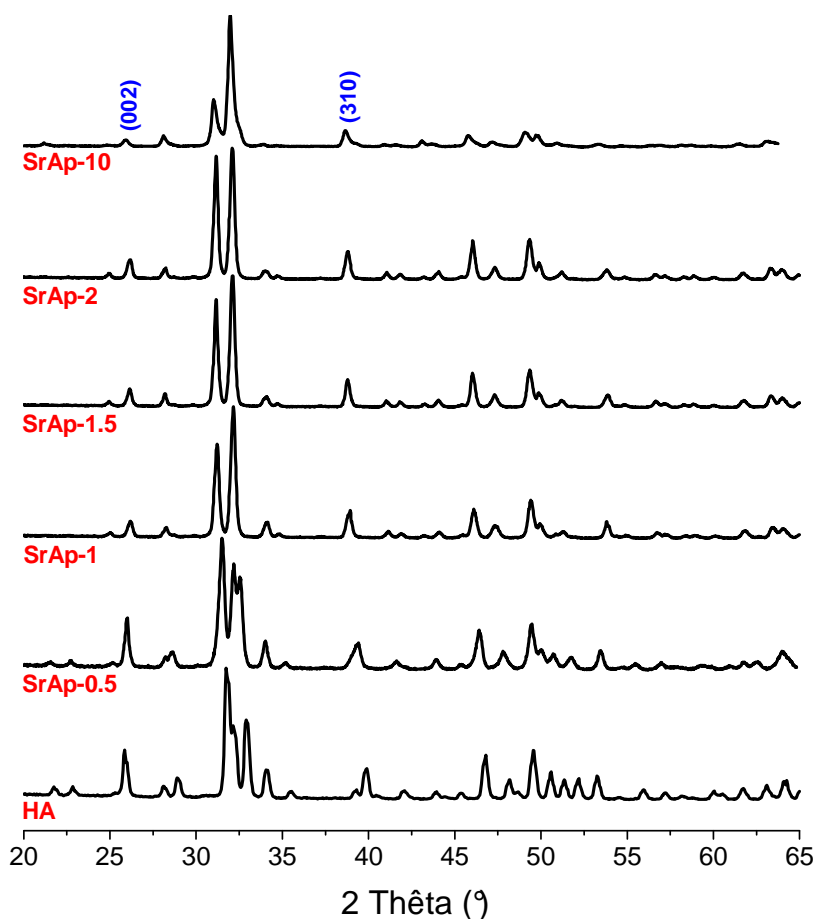


Figure 2.21 : Diagrammes de diffraction des RX des apatites calcostrontiques synthétisées en fonction du rapport molaire des réactifs

Par ailleurs, le rapport de l'intensité des deux raies les plus intenses de la SrAp-10 est différent de celui observé pour les autres SrAp. Ce rapport change au fur et à mesure que le taux de strontium augmente dans le réseau.

Tableau 2.13 : Taille des cristallites des apatites substituées au strontium synthétisées

	SrAp-0.5	SrAp-1	SrAp-1.5	SrAp-2	SrAp-10
$L_{002} \pm 5 \text{ \AA}$	297	248	275	265	210

IV-2-2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

La Figure 2.22 regroupe les spectres FTIR des échantillons d'apatites calcostrontiques à différents degrés de substitution synthétisées. Un premier examen des spectres obtenus montre un léger déplacement de la position des bandes relatives aux groupements phosphate ainsi qu'une diminution de l'intensité de la bande OH à 3572 cm^{-1} lorsque le taux de Sr croît. De plus, on remarque l'apparition de trois bandes supplémentaires dans la zone ($3490\text{-}3640 \text{ cm}^{-1}$) pour la SrAp-0.5. Pour les autres apatites calcostrontiques (SrAp-1, SrAp-1.5, SrAp-10), les bandes d'absorption qui correspondent aux OH⁻ à 3570 cm^{-1} et à 630 cm^{-1} tendent à disparaître ce qui conforte l'hypothèse d'une substitution des ions hydroxyles par les ions chlorures. Ce phénomène est dû à la chloruration de l'HA par le SrCl₂ au cours de la synthèse. On a probablement une solution solide chlor-hydroxyapatite calcostrontique qui se forme. Le Tableau 2.14 met en évidence les déplacements de ces bandes phosphates ainsi que les bandes de libration des groupements OH et Cl.

L'apatite calcostrontique obtenue pour $x = 0.5$ présente une bande à 3495 cm^{-1} qui est attribuée à un mode de vibration Cl..HO pour une apatite chlor-hydroxylée calcique (Young and Elliott 1966). Cette bande augmente au fur et à mesure que le chlore remplace l'ion hydroxyle jusqu'à une limite de trois ions chlorure sur huit ions hydroxyle. Au-delà de cette limite l'intensité de cette bande diminue jusqu'à disparaître dans la CIA calcique pure. Une bande d'absorption fine à 3545 cm^{-1} est également observée dans le cas de nos apatites mixtes calco-strontiques.

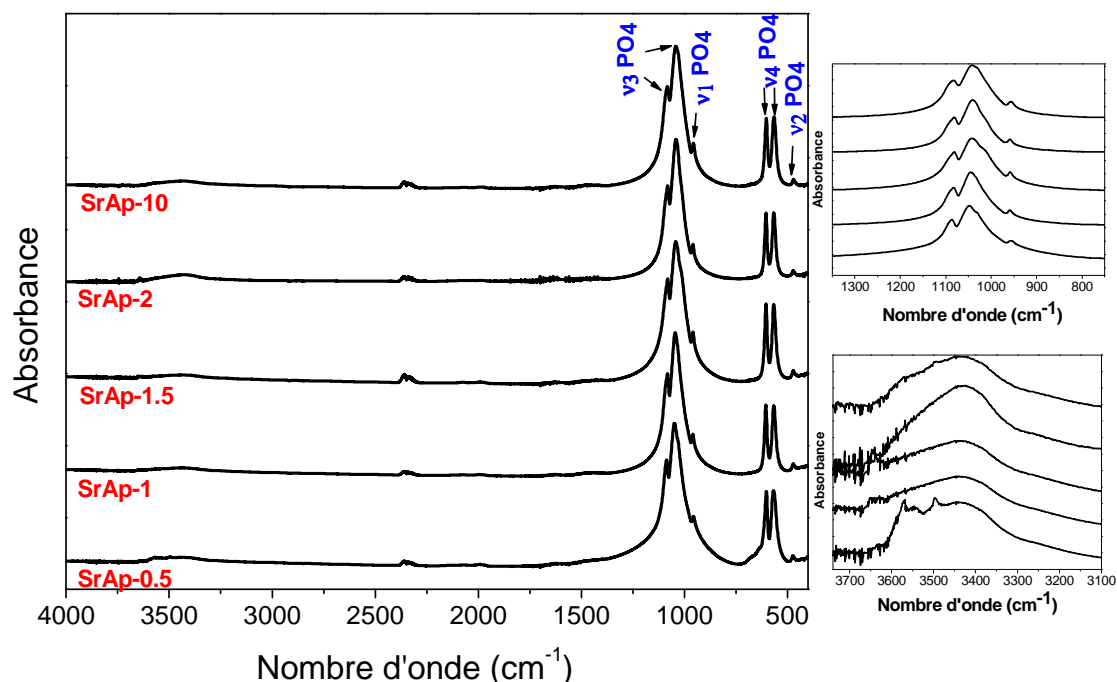


Figure 2.22 : Spectres FTIR des apatites calcostrontiques synthétisées

Tableau 2.14 : Position, intensité et attribution des bandes d'absorption infrarouge des apatites calcostrontiques obtenues à partir de différents rapports molaires de réactifs.

	SrAp-0.5	SrAp-1	SrAp-1.5	SrAp-2	SrAp-10
$\nu_2\text{PO}_4$	474 (f)	473 (f)	472 (f)	471 (f)	470 (f)
$\nu_4\text{PO}_4$	567 (F)	567 (F)	566 (F)	566 (F)	565 (F)
	603 (F)	605 (F)	604 (F)	604 (F)	603 (F)
$\nu_1\text{PO}_4$	957 (f)	958 (f)	958 (f)	958 (f)	956 (f)
$\nu_3\text{PO}_4$	1047 (F)	1045 (F)	1042 (F)	1040 (F)	1041 (F)
	1086 (F)	1082 (F)	1081 (F)	1081 (F)	1082 (F)
$\nu_s\text{OH}(\text{Cl})$	3495 (f)				
	3545 (f)				
	3572 (f)	-	-	-	3496 (f)
	3642 (ép)				

f : faible intensité ; F : forte intensité ; ép : épaulement

IV-2-3. Micro-spectroscopie Raman

La Figure 2.23 présente les spectres Raman des différentes hydroxyapatites substituées au strontium. Les spectres Raman obtenus montrent dans tous les cas des bandes d'absorption caractéristiques de l'apatite. Cependant, des bandes supplémentaires sont observées dans la région spectrale comprise entre 100 et 300 cm^{-1} . De plus, le spectre de l'échantillon le plus dopé en strontium (SrAp-10) fait apparaître une bande additionnelle vers 738 cm^{-1} relative à

la présence de trace d'ions pyrophosphate $P_2O_7^{4-}$ (O'Donnell *et al.* 2008). Un léger déplacement vers les faibles fréquences est remarqué. Celui-ci s'accroît avec l'incorporation du strontium dans l'apatite (Tableau 2.15).

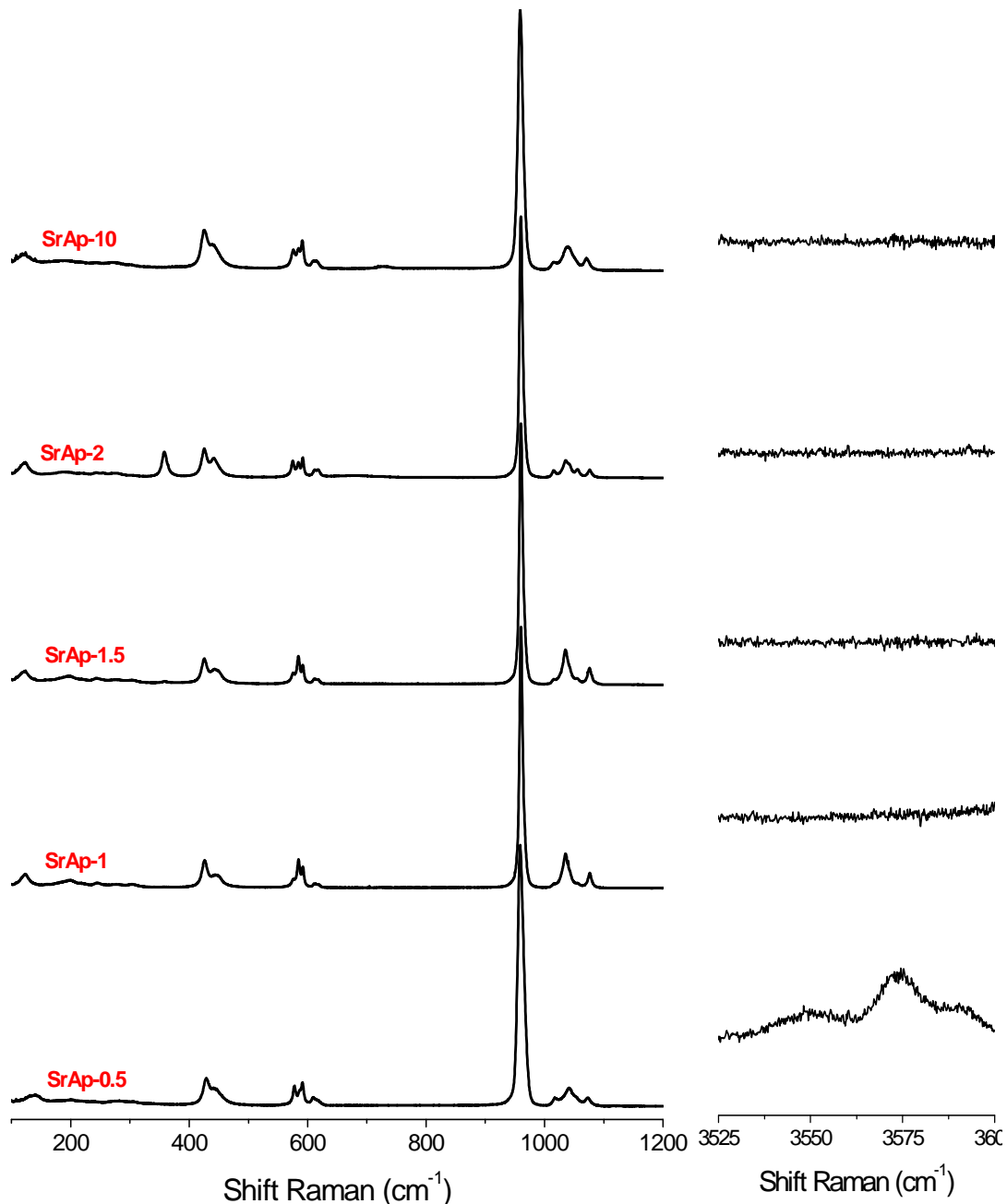


Figure 2.23 : Spectres Raman des apatites calcostrontiques synthétisées à partir de différents rapports molaires de réactifs.

Tableau 2.15 : Position, intensité et attribution des bandes Raman des différentes apatites calcostrontiques synthétisées

	SrAp-0.5	SrAp-1	SrAp-1.5	SrAp-2	SrAp-10
$\nu_2\text{PO}_4$	428 (m)	426 (m)	426 (m)	426 (m)	425 (m)
	443 (m)	447 (m)	446 (m)	442 (m)	440 (m)
$\nu_4\text{PO}_4$	578 (m)	576 (m)	576 (m)	575 (m)	576 (f)
	586 (ép)	585 (f)	584 (f)	584 (f)	585 (f)
	591 (m)	592 (m)	592 (m)	592 (m)	519 (m)
	609 (f)	612 (f)	612 (f)	612 (f)	613 (f)
	617 (ép)	617 (f)	618 (f)	618 (f)	615 (f)
$\nu_1\text{PO}_4$	960 (F)	960 (F)	960 (F)	959 (F)	958 (F)
	1019 (f)	1015 (m)	1015 (m)	1015 (m)	1016 (f)
	1042 (m)	1036 (m)	1035 (m)	1035 (m)	1039 (m)
	1054 (ép)	1056 (f)	1055 (m)	1056 (m)	1071 (f)
	1073 (f)	1076 (f)	1076 (f)	1076 (f)	
		1085 (F)	1086 (ép)	1086 (ép)	
$\nu_s\text{OH}(\text{Cl})$	3549 (f)				
	3574 (f)	-	-	-	-
	3591 (f)				

f : faible intensité ; F : forte intensité ; ép : épaulement ; m : intensité moyenne

IV-2-4. Dosages chimiques des éléments

Les résultats des dosages du calcium, du phosphore et du strontium effectués sur les précipités séchés sont rassemblés dans le Tableau 2.12. Le calcium et le strontium présents dans les différents solides ont été dosés par spectrométrie d'émission optique par plasma à couplage inductif (ICP/OES). Les teneurs en ions phosphate ont été déterminées par complexométrie en utilisant le complexe phospho-vanado-molybdique par spectrophotométrie UV à 460 nm (Annexe I).

Tableau 2.12 : Composition chimique (% massique \pm erreur relative) des apatites calcostrontiques synthétisées

Echantillons	Ca/P ± 0.02	Sr/P ± 0.02	(Ca+Sr)/P ± 0.02	Sr/(Ca+Sr) ± 0.02	Sr/(Ca+Sr) calculé
SrAp-0.5	1.59	0.08	1.67	0.05	0.05
SrAp-1	1.52	0.15	1.66	0.09	0.10
SrAp-1.5	1.48	0.18	1.67	0.11	0.15
SrAp-2	1.46	0.21	1.66	0.12	0.20
SrAp-10	1.33	0.33	1.66	0.20	1.00

Le rapport caractéristique de la composition de ces apatites n'est plus Ca/P, comme dans le cas d'une hydroxyapatite mais, (Ca+Sr)/P. On peut observer que ce rapport correspond bien à des apatites stoechiométriques. Néanmoins, on constate une différence entre le taux de strontium utilisé lors de la synthèse et le taux de strontium incorporé dans le réseau apatitique. Cette différence s'accroît avec la progression du taux de substitution. De ce fait, la substitution du calcium par le strontium est limitée à 20 %. Ce phénomène a déjà été signalé par plusieurs auteurs (Li *et al.* 2007; O'Donnell *et al.* 2008)

IV-3. Conclusion

Une série d'apatites substituées au strontium a été élaborée avec succès. Ces apatites calcostrontiques synthétisées présentent un rapport atomique (Ca+Sr)/P très proche de la stoechiométrie et un taux de strontium contrôlé par la quantité de réactifs. Nous avons pu constater que l'incorporation du chlorure de strontium par réaction solide – solide engendre la chloruration progressive de l'apatite. Dès 10 % en strontium, on obtient une apatite complètement chlorurée. Il faut noter qu'aucune étude n'a été menée sur des revêtements de cette composition. Il serait intéressant d'étudier les revêtements de chlorapatite calcostrontique.

PARTIE B

Etude expérimentale de la stabilité thermique des poudres

L'étude de la stabilité thermique des poudres de phosphates de calcium apatitiques est nécessaire pour la mise en évidence des transformations cristallines mis en jeu au cours de la projection plasma. L'objectif de cette étude expérimentale est de mettre en évidence l'effet de la substitution des ions hydroxyle de l'hydroxyapatite sur son comportement à hautes températures. Dans un premier temps, nous allons suivre l'évolution thermique des poudres étudiées par des analyses thermiques différentielles et thermogravimétriques (ATD-ATG) couplées à la spectroscopie d'absorption infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). Dans un deuxième temps, nous nous intéressons à la caractérisation de l'hydroxyapatite de référence et de la chlorapatite synthétisée après analyse thermogravimétrique dans des conditions identiques aux analyses précédentes afin d'évaluer la stabilité thermique de la chlorapatite par rapport à l'hydroxyapatite de référence et montrer éventuellement s'il y a décomposition de l'apatite après analyse.

I. ANALYSE ATD/ATG COUPLEE A LA SPECTROSCOPIE INFRAROUGE A TRANSFORMEE DE FOURIER (FTIR)

I-1. Protocole opératoire

L'analyse thermique par ATD/ATG des apatites chimiquement modifiées (FHA-50, CIA et SrAp-1.5) a été réalisée dans une gamme de températures allant de la température ambiante jusqu'à 1500 °C sous un courant d'argon, avec une vitesse de montée en température de 10 °C/min. Ces expérimentations ont été réalisées par Kaia Tonsaadu au Laboratoire des Matériaux Inorganiques de l'Université Technologique de Tallinn en Estonie.

Afin de suivre les éventuelles altérations que pourraient subir les apatites étudiées au cours de leur analyse thermique, un couplage du dispositif ATD/ATG avec un spectromètre infrarouge a été mis en place. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) couplée aux techniques d'ATG/ATD permet l'analyse des vapeurs émises lors des transformations chimiques de l'échantillon et renseigne sur les réactions mises en jeu.

Notre approche expérimentale consiste aussi à caractériser par diffraction des rayons X, spectroscopie FTIR et Raman l'hydroxyapatite et la chlorapatite récupérées après analyse thermique différentielle réalisée dans les mêmes conditions que l'analyse précédente.

I-2. Résultats

Les courbes obtenues par analyse thermique différentielle et thermogravimétrie sur les apatites étudiées sont présentées sur les Figures 2.14, 2.15, et 2.16. Les thermogrammes des supports donnent dans l'intervalle de températures exploré une perte massique totale qui varie entre 0.9 % et 2.4 %. La perte de masse relative à la SrAp-1.5 est la plus importante.

Les poudres d'apatites modifiées se caractérisent par une perte de masse continue tout au long de la montée en température. L'analyse du thermogramme de la FHA-50 précipitée et séchée à l'étuve montre une première perte de poids de 0.133 % du produit initial entre 28 et 530 °C qui correspond à l'eau adsorbée sur les nanocristaux. La deuxième perte de masse, de 0.086 %, se produit entre 535 et 726 °C. Celle-ci est associée à un dégagement de CO₂ (t = 61 mn) (Figure 2.17). Le CO₂ dégagé provient des carbonates présents dans l'apatite. La troisième perte de masse est de 0.818 % peut être attribuée à la perte de l'eau fortement liée ou intracristalline (Heughebaert 1977). Cependant, aucun composé fluoré actif en FTIR n'a été détecté au cours de l'analyse.

Le thermogramme de la chlorapatite chauffée dans les conditions décrites plus haut, a été enregistré ainsi que les spectres FTIR des vapeurs émises au cours de l'analyse thermique (Figure 2.18). La courbe ATG met en évidence trois pertes de masse successives séparées par un pseudo-palier : la première perte est faible (0.043 %) ; elle intervient entre 28 et 190 °C. La deuxième entre 190 et 250 °C est plus importante (0.295 %). Une légère perte de 0.029 % au cours du pseudo-palier puis la dernière perte produite entre 740 et 1500 °C est de 0.474 %.

L'analyse par spectroscopie FTIR a révélé un dégagement d'ammonium à t = 19 mn ce qui correspond à une température de 190 °C. Par ailleurs, aucun dégagement de chlore n'a été détecté.

L'analyse par ATG/ATD couplée à la spectroscopie FTIR de la SrAp-1.5 est présentée sur les Figures 2.16 et 2.19. On observe d'abord deux pertes de masse du produit initial à 427 °C et à 715 °C, chacune étant accompagnée d'un phénomène endothermique. La première perte est associée au départ de l'eau adsorbée sur les nanocristaux et à l'eau associée aux environnements labiles et/ou à de l'eau fortement liée ou intracristalline (Heughebaert 1977). La deuxième perte est attribuée à l'élimination des carbonates ; elle est confirmée par l'analyse par spectroscopie FTIR qui détecte le départ du CO₂. Une troisième perte de masse de 0.953 % dans le domaine compris entre 715 et 1500 °C est observée.

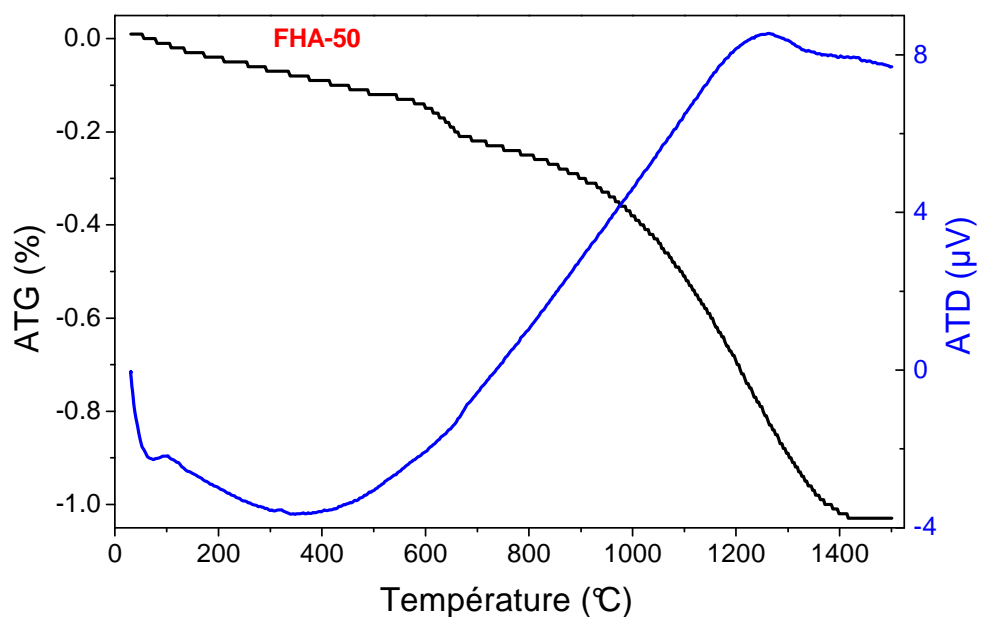


Figure 2.14 : Thermogramme ATD/ATG de la FHA-50 synthétisée

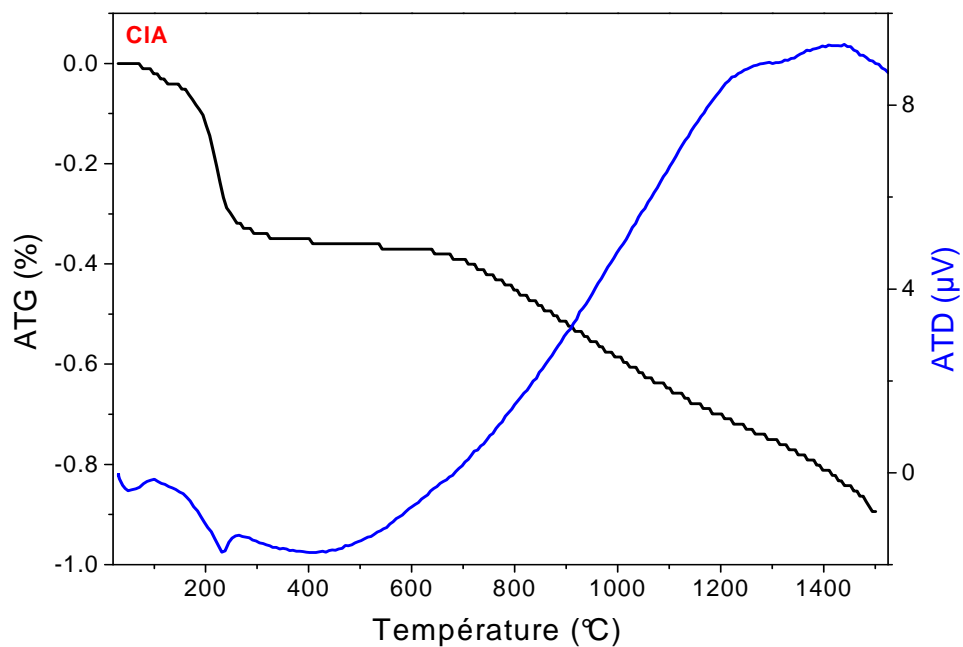


Figure 2.15 : Thermogramme ATD/ATG de la CIA synthétisée

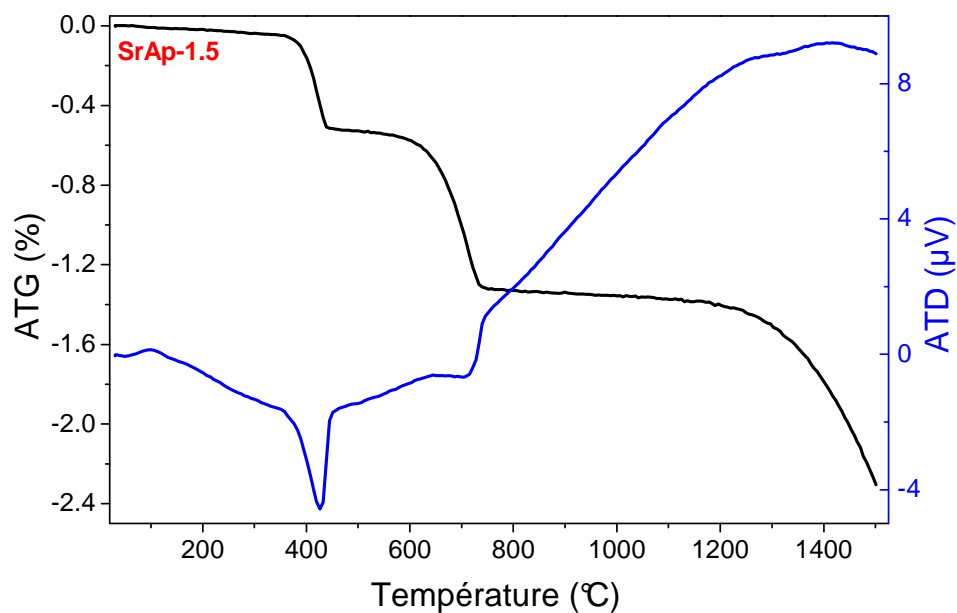


Figure 2.16 : Thermogramme ATD/ATG de la SrAp-1.5 synthétisée

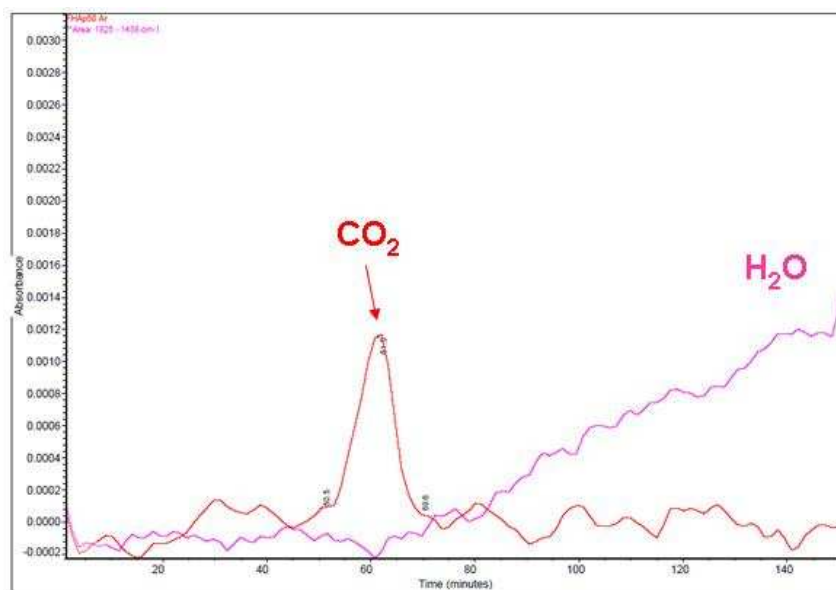


Figure 2.17 : Variation en fonction du temps de l'absorption par spectroscopie FTIR d'une bande caractéristique des vapeurs de CO_2 (rouge) et d' H_2O (violet) dégagées lors du traitement par ATD/ATG de la FHA-50 synthétisée (abscisse : temps en minutes, ordonnée : absorbance)

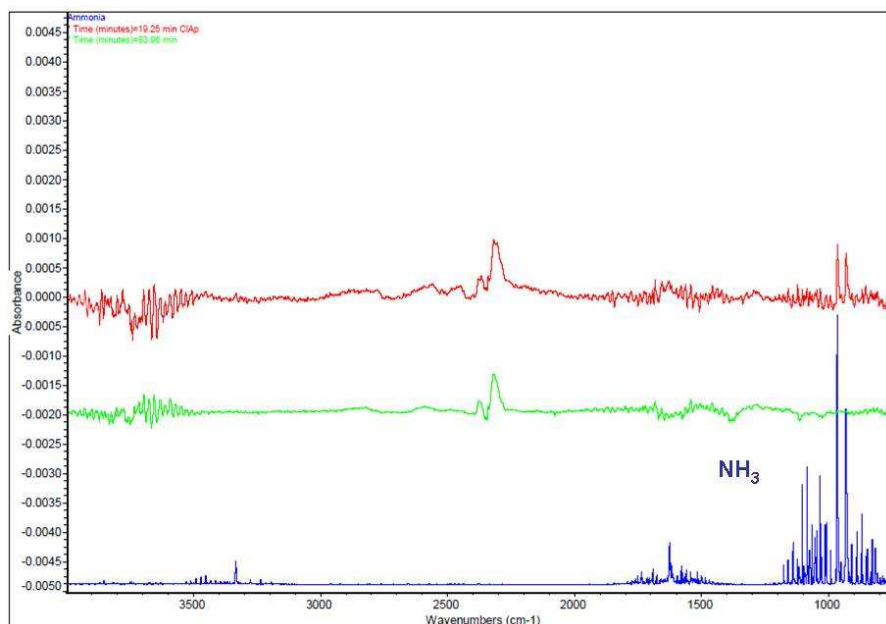


Figure 2.18 : Courbes d'analyses par spectroscopie FTIR des vapeurs dégagées lors du traitement par ATD/ATG de la CIA synthétisée (abscisse : nombre d'onde en cm^{-1} , ordonnée : absorbance, en bleu ammoniacque, en rouge mesure à $t = 19.25$ mn, en vert mesure à $t = 83.06$ mn)

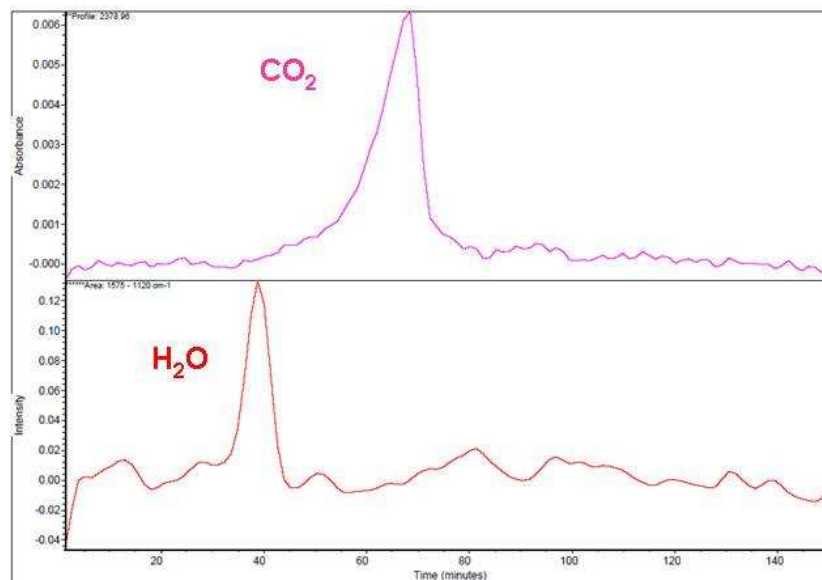


Figure 2.19 : Variation en fonction du temps de l'absorption par spectroscopie FTIR d'une bande caractéristiques des vapeurs de CO_2 (rouge) et d' H_2O (violet) dégagées lors du traitement par ATD/ATG de la SrAp-1.5 synthétisée (abscisse : temps en minutes, ordonnée : absorbance)

II. Caractérisation des poudres après traitement thermique

Complémentairement aux résultats fournis par l'analyse thermogravimétrique, les informations fournies par la diffraction des rayons X et les analyses spectroscopique FTIR et Raman renseignent sur l'état et la composition des poudres après traitement thermique et refroidissement.

II-1. Protocole opératoire

Les analyses ont été réalisées au CIRIMAT sur l'hydroxyapatite de référence et la chlorapatite élaborée au laboratoire. Ces poudres ont subi un traitement thermique par ATG dans une gamme de températures allant de la température ambiante jusqu'à 1400 °C sous un courant d'argon, avec une vitesse de montée en température de 10 °C/min. Nous avons par la suite caractérisé les solides récupérés après ATG, par DRX et par spectroscopies FTIR et Raman.

II-2. Analyse thermogravimétrique

L'analyse thermique de l'HA (Figures 2.20) illustre une réaction exothermique lente accompagnant une légère prise de masse dans l'intervalle de températures 40 – 800 °C. Ce gain de masse provient de l'adsorption de l'eau à la surface. Cependant, une première perte de masse de 0.1 % en poids total de la poudre commence à 900 °C accompagnée d'une réaction endothermique. Cette perte de masse peut correspondre au début de la déshydroxylation de l'HA en oxyapatite par la perte des ions OH⁻ (Gross and Berndt 1998). Autour de 1360 °C, on observe une deuxième perte de masse qui peut correspondre à la décomposition de l'oxyapatite en phosphate tricalcique et tétracalcique (Trombe 1972; Gross *et al.* 1998b).

L'examen de la courbe thermogravimétrique de la chlorapatite (Figures 2.21) révèle trois pertes de masse bien distinctes avec un pseudo-palier. Par comparaison avec le thermogramme de la Figure 2.15, on note une similarité entre la première et la deuxième perte. Tandis que la troisième perte commence à 980 °C au lieu de 740 °C pour le thermogramme de la Figure 2.15.

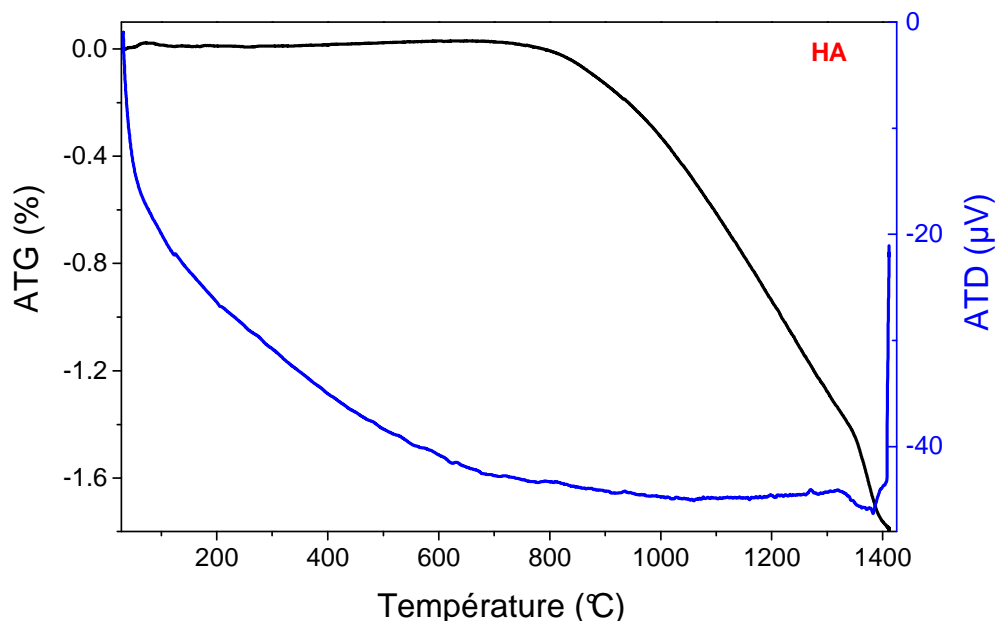


Figure 2.20 : Courbe d'analyse thermique différentielle et thermogravimétrique (ATD/ATG) de l'HA de référence

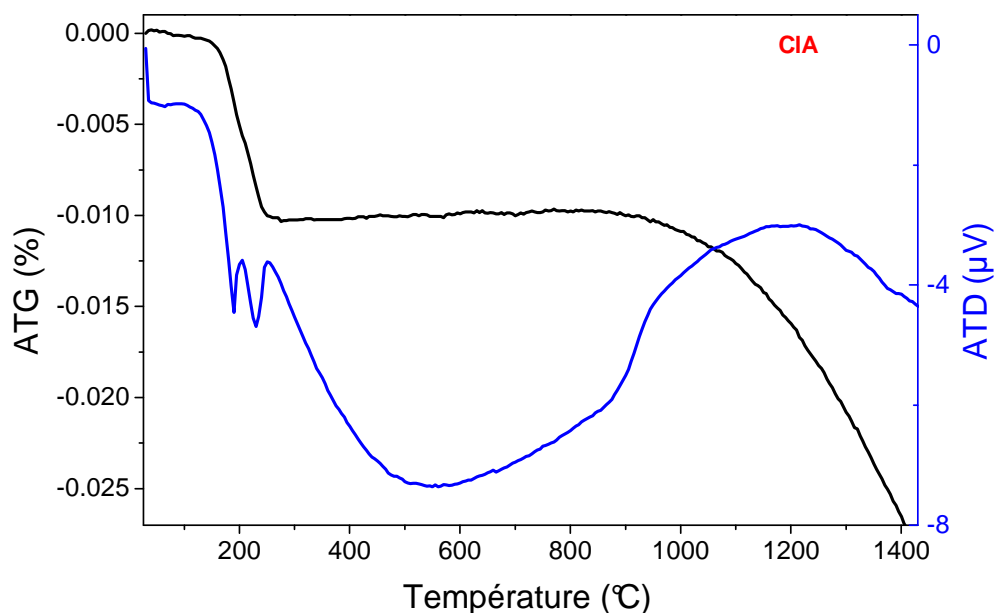


Figure 2.21 : Courbe d'analyse thermique différentielle et thermogravimétrie (ATD/ATG) de la CIA synthétisée

II-2-1. Analyse par diffraction des rayons X

Les Figures 2.22 et 2.23 sont établies à partir des diagrammes de diffraction des rayons X réalisés sur les poudres d'HA et de CIA après traitement thermique à 1400 °C selon le protocole donné en *Annexe 1*. L'analyse du premier diagramme montre que l'hydroxyapatite s'est complètement décomposée au cours du traitement jusqu'à 1400 °C. Les phases retrouvées correspondent bien au phosphate tricalcique, au phosphate tétracalcique et à l'oxyde de calcium. En revanche, le diagramme de diffraction des RX de la chlorapatite traitée est caractéristique de celui d'une chlorapatite pure. Néanmoins, les raies de diffraction de la chlorapatite traitée correspondent à une chlorapatite hexagonale (JCPDS 33-271). Ceci laisse supposer qu'une transition de phase a eu lieu lors de la perte de masse autour de 200 °C (Elliott 1994). (voir Figure 2.21)

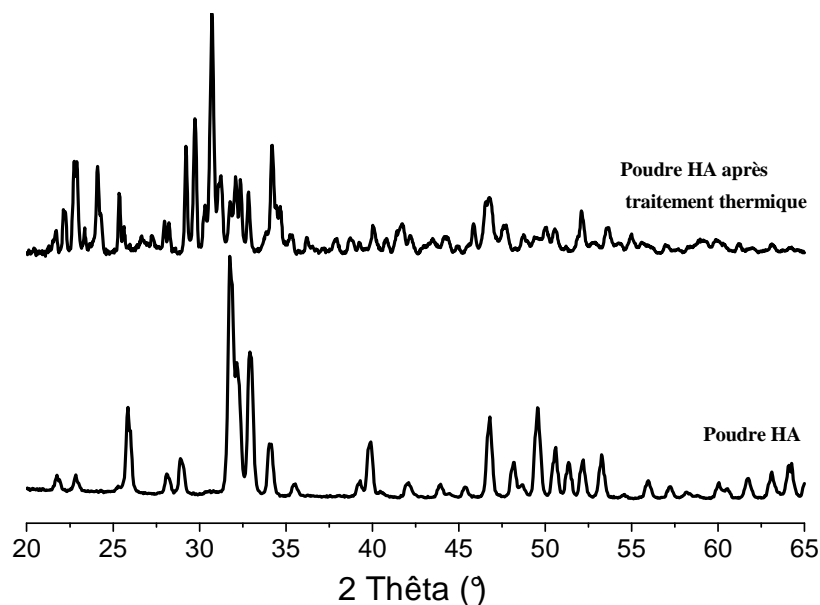


Figure 2.22 : Diagrammes de diffraction des rayons X de l'HA de référence avant et après traitement thermique jusqu'à 1400 °C

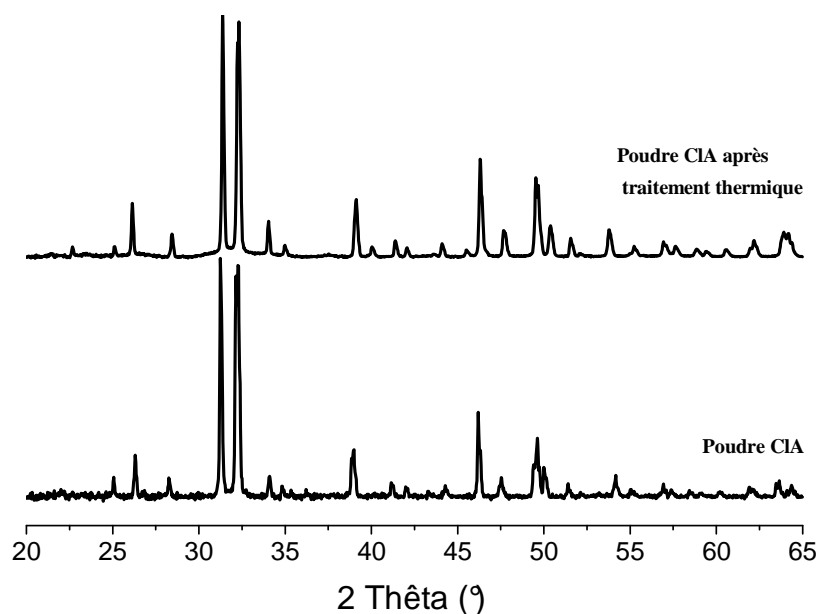


Figure 2.23 : Diagrammes de diffraction des rayons X de la CIA avant et après traitement thermique jusqu'à 1400 °C

II-2-2. Analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR)

Les spectres infrarouges des apatites examinées avant et après traitement thermique sont présentés sur les Figures 2.24 et 2.25. On peut remarquer que les bandes de vibration caractéristiques de la chlorapatite restent inchangées après traitement (Figure 2.25). Cependant, les bandes présentes sur le spectre de l'HA traitée jusqu'à 1400°C correspondent à celles des groupements phosphate du phosphate tricalcique et du phosphate tétracalcique. Les

bandes caractéristiques des groupements OH⁻ sont absentes. D'autre part, on remarque que la bande $\nu_2\text{PO}_4$ est très intense ce qui atteste de la présence d'une phase oxyapatite.

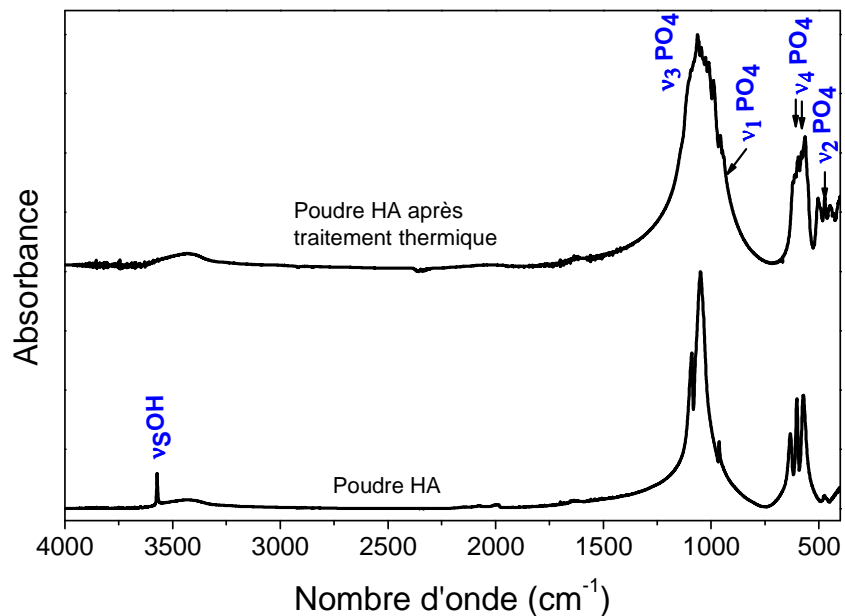


Figure 2.24 : Spectre d'absorption infrarouge de l'hydroxyapatite de référence avant et après traitement thermique jusqu'à 1400 °C

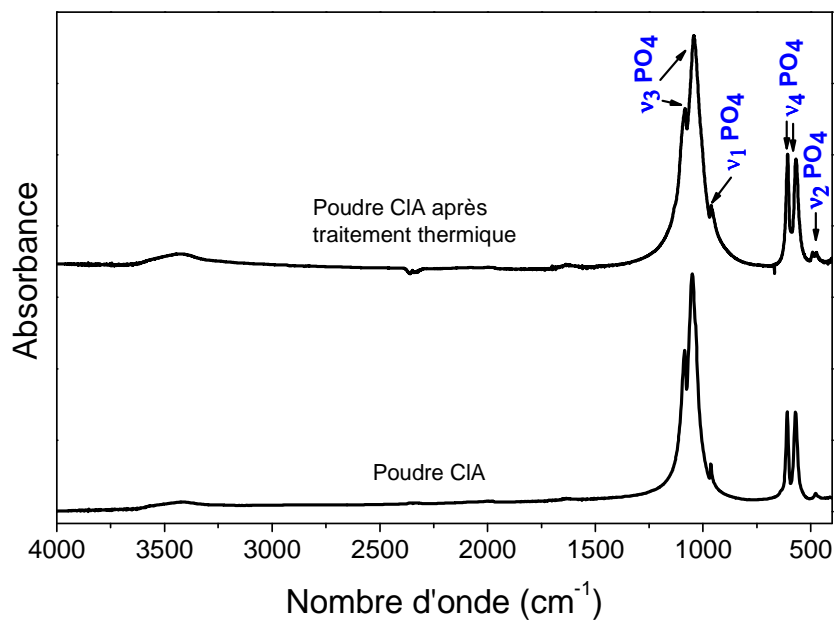


Figure 2.25 : Spectre d'absorption infrarouge de la chlorapatite avant et après traitement thermique jusqu'à 1400 °C

II-2-3. Analyse par microspectroscopie Raman

Comme pour les analyses par DRX et spectroscopie FTIR, l'analyse par diffusion Raman réalisée sur la poudre d'HA obtenue après traitement thermique révèle plusieurs différences par rapport au spectre de l'HA de référence initiale (Figure 2.26). Cependant, l'observation du spectre de la CIA traitée (Figure 2.27) ne montre aucune différence avec celui de la poudre de départ, ce qui confirme la stabilité thermique de la CIA à hautes températures, au moins jusqu'à 1400°C.

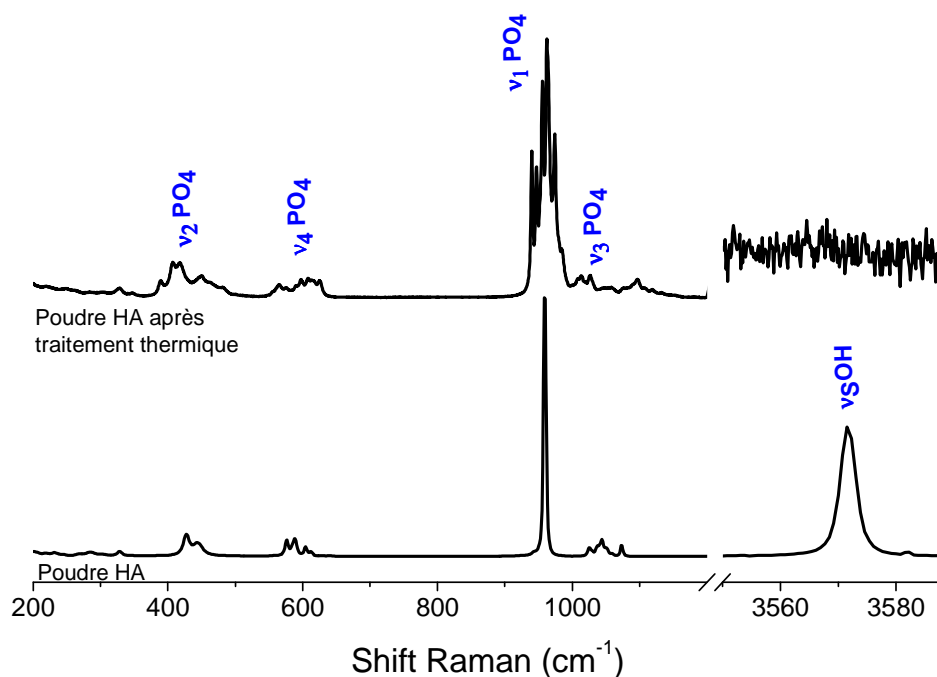


Figure 2.26 : Spectre Raman de l'HA de référence avant et après traitement thermique jusqu'à 1400 °C

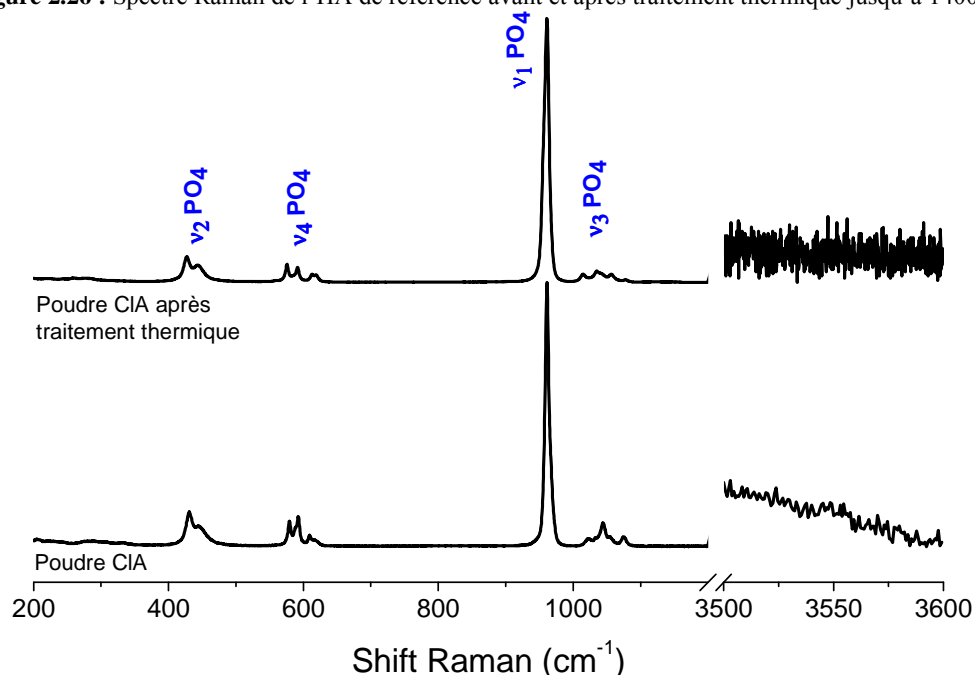


Figure 2.27 : Spectre Raman de la CIA avant et après traitement thermique jusqu'à 1400 °C

III. Conclusion

Il ressort de cette étude expérimentale que les FHA-50, Sr-Ap et CIA synthétisées présentent une meilleure stabilité thermique que celle de l'hydroxyapatite de référence. Les analyses par spectroscopie FTIR couplée à l'ATG/ATD ont démontré qu'il n'y a pas de départ de chlore dans le cas de la CIA, ni de fluor pour la FHA-50. Les caractérisations effectuées sur l'HA et la CIA après traitement thermique apportent des arguments supplémentaires confirmant l'hypothèse de la bonne stabilité thermique de la chlorapatite au moins jusqu'à 1400°C. Cette propriété fait de la poudre de CIA une candidate potentiellement plus intéressante et prometteuse que la poudre d'HA pour la projection plasma.

PARTIE C

Discussion

Le comportement des revêtements d'hydroxyapatite en milieu biologique présente plusieurs complications liées à la décomposition de l'HA lors de la projection thermique. Par conséquent, la synthèse de l'hydroxyapatite constitue une étape déterminante dans le procédé d'élaboration de revêtements par projection plasma. D'autre part, l'utilisation de poudres dont la distribution de taille des grains est polydisperse conduit à des dépôts peu homogènes : les particules les plus fines ne pénètrent que dans les couches superficielles du plasma où elles ne sont que partiellement fondues alors que les plus grosses le traversent de part en part. En effet, la trajectoire des particules dans la flamme dépend étroitement de leur masse ; de ce fait, un bon compromis consistera à utiliser des particules de quelques dizaines de micromètres de diamètre et ayant une distribution granulométrique monomodale. Au cours de ce chapitre, nous avons cherché à modifier certaines caractéristiques physiques et chimiques liées aux poudres destinées à la projection plasma. Dans un premier temps, nous avons caractérisé l'hydroxyapatite commerciale. Dans un deuxième temps, nous avons élaboré des apatites phosphocalciques stœchiométriques (fluorapatite, fluorhydroxyapatite, chlorapatite et apatites calcostrontiques) par des réactions simples et transposables à grande échelle. Les solides obtenus sont monophasés et cristallographiquement purs. Cependant, ces poudres d'apatites présentent plusieurs aspects qui méritent d'être discutés ci-après.

Dans nos conditions expérimentales, la fluoruration gazeuse de l'hydroxyapatite conduit à une apatite stœchiométrique fluorurée sans produit secondaire. Seul le processus de diffusion domine le mécanisme de fluoruration de l'HA à haute température. Il s'agit de l'échange entre les ions hydroxyle localisés dans les tunnels du réseau apatitique et les ions fluorure selon la réaction suivante :



Cependant, les résultats obtenus révèlent la présence d'ions hydroxyle dans la structure. De ce fait, la réaction d'échange entre les ions hydroxyle et les ions fluorure est incomplète y compris dans les essais effectués avec des quantités de fluorure d'ammonium allant jusqu'à 66 fois la quantité stœchiométrique nécessaire. Par ailleurs, nous avons constaté une pollution

résultante de l'interaction entre le NH_4F et le tube du four. En effet, des études antérieures par XPS ont révélé que la fluoruration gazeuse provoque une contamination de la poudre par les composantes du four notamment l'aluminium (Amrah-Bouali 1993). Cette contamination affecte les premières couches atomiques du solide et pourrait se révéler gênante pour les applications biologiques. Il a, en effet, été prouvé que l'aluminium incorporé à la structure apatitique compromettrait sa biocompatibilité (Amrah-Bouali 1993). Compte tenu de ces problèmes de pollution et de non reproductibilité des résultats, nous nous sommes orientés vers la synthèse par co-précipitation en solution aqueuse de la fluorhydroxyapatite (FHA-50) (50% fluorée et 50% hydroxylée).

La FHA est l'apatite phosphocalcique la moins soluble et la plus résistante à l'attaque acide en raison de l'existence de liaisons hydrogène entre les ions F^- et OH^- qui stabilisent la structure (Ranz 1996; Penel *et al.* 1997).

La synthèse de la FHA-50 par précipitation en solution permet de produire des quantités de poudres suffisantes pour des applications industrielles (Ranz 1996). La caractérisation physico-chimique atteste de la pureté de cette poudre et de sa stœchiométrie néanmoins les propriétés physiques de celle-ci notamment sa non coulabilité présentent un handicap majeur à son exploitation industrielle en projection plasma. Une étude plus approfondie visant l'amélioration des propriétés de surface de la FHA-50 a été menée en collaboration avec le Laboratoire de Génie Chimique de Toulouse. Les résultats de cette étude n'ont pas permis d'augmenter la coulabilité de la FHA-50 étudiée. Néanmoins, nous avons réussi à améliorer les charges électrostatiques et donc la coulabilité d'une FHA-50 de granulométrie supérieure à $80 \mu\text{m}$.

La fluoruration totale ou partielle de l'hydroxyapatite est en général l'un des moyens susceptibles de réduire la biodégradabilité et l'écaillage des dépôts plasma avant et après implantation (Ranz *et al.* 1997; Gineste *et al.* 1999). D'autre part, comme nous l'avons indiqué auparavant, la synthèse par la voie sèche reste plus intéressante que la synthèse en solution car elle répond au besoin d'une méthode simple et facilement transposable en phase de production industrielle. Nous avons donc opté pour l'élaboration de la chlorapatite par voie sèche. Peu de travaux se sont intéressés à l'étude de la chlorapatite en tant que matériau biocompatible (Kannan *et al.* 2007). Une recherche bibliographique montre que le premier revêtement fabriqué à base de chlorapatite a été élaboré en 2008 par l'équipe de Teshima (Teshima *et al.* 2006). Les revêtements obtenus présentent des fissures et des craquelures qui menacent l'adhérence du dépôt et le procédé de synthèse utilisé peut s'avérer très coûteux et non adapté pour un transfert industriel.

Dans ce travail, nous avons choisi d'utiliser comme produit de départ pour la synthèse de la FHA, de la CIA et des SrAp, l'hydroxyapatite T87-5080 obtenue par co-précipitation en

solution aqueuse. Cette poudre est déjà commercialisée par l'entreprise TEKNIMED et ayant prouvé son efficacité pour l'élaboration de substituts osseux sous forme de céramiques (Autefage *et al.* 2009).

L'analyse des propriétés physiques de la chlorapatite synthétisée démontre, en particulier, une meilleure coulabilité que la poudre initiale d'HA (7 fois plus rapide que l'HA). Sa stabilité thermique fait d'elle une candidate potentielle à la projection plasma.

Dans notre étude, nous avons synthétisé par la suite des chlorapatites dopées au strontium par réaction solide-solide à haute température à partir d'hydroxyapatite et de chlorure de strontium. Plusieurs auteurs ont démontré la capacité d'échange ionique du calcium avec le strontium des apatites nanocristallines en milieu aqueux (Cazalbou *et al.* 2005; Autefage *et al.* 2009). Cet échange se fait essentiellement par l'intermédiaire des ions présents dans la couche hydratée des nanocristaux des apatites mal cristallisées. La voie solide par contre, a montré qu'on peut synthétiser des apatites stoechiométriques et thermiquement stables qui peuvent être utilisées pour la projection plasma. Nous avons évalué la quantité de calcium échangée par le strontium par analyses chimiques. Les résultats ont révélé que la quantité échangée est totale dans les trois premiers essais (Sr-Ap 0.5 ; Sr-Ap 1 ; Sr-Ap 1.5) tandis que la Sr-Ap 2 et la Sr-Ap 10 ont des taux de strontium inférieurs à la quantité stoechiométrique introduite. Toutefois, plusieurs études ont reporté que le strontium présente une limite de substitution et le même comportement a été constaté pour des apatites mal cristallisées en solution (Cazalbou *et al.* 2005). Cette étude constitue une contribution à l'élaboration des chlorapatites calcostrontiques pour une utilisation en projection plasma.

Conclusion et perspectives

Nous avons élaboré des apatites chimiquement modifiées par différentes voies de synthèse. Les poudres ont été calcinées suivant la procédure décrite par la norme ("ISO 13779-3: 2008) et les rapports atomiques Ca/P sont très proches de ceux de l'hydroxyapatite stœchiométrique. Par ailleurs, nous avons mis en évidence l'absence de phases étrangères telles que la chaux et le phosphate tricalcique.

Par ailleurs, nous avons constaté que la synthèse par voie solide-gaz n'est pas adaptée à l'élaboration de fluorapatite pure en raison de la pollution de la poudre constatée. L'étude menée sur la FHA-50 confirme sa stabilité thermique. Cependant, sa coulabilité médiocre due à l'agglomération de fines particules ne nous a pas permis de l'utiliser pour la suite de ce travail.

Enfin, les chlorapatites calcostrontiques présentent une alternative prometteuse pour des utilisations en implantologie dentaire et/ou orthopédique.

Après avoir préparé et étudié différentes apatites chimiquement modifiées, nous avons pu constater que la synthèse, les caractéristiques physico-chimiques et thermodynamiques de la chlorapatite, suivant la réaction solide-gaz promet des dépôts sans phases secondaires ni oxyapatite. Nous avons donc choisi d'utiliser la chlorapatite ainsi que l'hydroxyapatite T87-5080 pour l'élaboration de dépôts à l'aide du nouveau système de projection plasma à basse énergie présentée dans le chapitre suivant (Chapitre 3)

Chapitre III

Revêtements d'hydroxyapatite et de chlorapatite obtenus par mini-torche plasma à basse énergie

Le développement des revêtements bioactifs pour prothèses métalliques requiert une bonne maîtrise des conditions d'élaboration de la poudre projetée et des paramètres de projection plasma ainsi qu'une bonne maniabilité de la torche. Cependant, peu d'études ont été engagées à la fois sur le rôle des propriétés physico-chimiques des poudres initiales destinées aux dépôts et sur les paramètres de projection. Des progrès ont été réalisés sur les poudres projetées. On peut envisager dans un premier temps, l'utilisation d'une poudre d'hydroxyapatite de granulométrie fine. Dans un deuxième temps, la projection d'une poudre plus résistante à la décomposition que l'HA. C'est dans cette optique que nous avons abordé ce travail en proposant de réaliser des dépôts à partir de deux types d'apatites stoechiométriques : l'hydroxyapatite (HA) de référence et la chlorapatite (CIA) synthétisée (*cf. Chapitre 2*).

Parallèlement, la mini-torche pour la projection plasma à basse énergie (MTBE) a été développée par la Société Inasmet-Tecnalia (San Sebastian, Espagne), partenaire du projet Nanomed2, afin d'améliorer la qualité des implants et d'étendre leurs champs d'applications (Barykin 2008).

Cette association, matériaux et procédés innovants, devrait permettre de réaliser des dépôts ***durables, fins et adhérents*** sur des substrats de ***petites tailles***. Ceux-ci peuvent avoir des ***géométries complexes*** ; c'est le cas notamment des implants dentaires.

Différents travaux ont été publiés impliquant des revêtements à base d'apatites fluorées, mais aucune étude évoquant des dépôts de chlorapatite n'a été signalée. De même, jusqu'à présent aucun travail n'a été cité dans la littérature impliquant la projection par mini-torche basse énergie pour le traitement des prothèses métalliques.

Par ailleurs, les recherches fondamentales sur les dépôts d'hydroxyapatite par projection plasma se sont orientées vers la compréhension des mécanismes qui interviennent durant le processus de formation des dépôts pour améliorer la qualité de l'interface implant-tissu et sa biointégration (Gross and Berndt 1998; Sun *et al.* 2001; Heimann 2006). Les méthodes de caractérisation utilisées sont souvent destructives et ne donnent que des informations sur la nature chimique de l'ensemble du dépôt et de leur décomposition éventuelle.

Nous chercherons dans ce travail de thèse à améliorer ou à développer des méthodes de suivi des caractéristiques des dépôts par micro-spectroscopie Raman. Cette technique permet d'obtenir des indications sur l'état de cristallisation et l'état des contraintes dans les différentes zones constituant le revêtement. La micro-spectroscopie Raman pourrait être établie comme méthode de contrôle de fabrication. Ainsi, elle pourrait être utilisée en production pour un contrôle qualité unitaire, direct et immédiat des pièces fabriquées.

Ce travail présente en parallèle une contribution à la mise au point de la MTBE et des paramètres de projection adaptés à une granulométrie de poudre fine ainsi que les résultats de la caractérisation physico-chimique et mécanique ainsi que le comportement *in vitro* des dépôts d'hydroxyapatite et de chlorapatite réalisés à l'aide de ce dispositif.

I. ELABORATION DES DEPOTS

Ce paragraphe présente les protocoles et les dispositifs expérimentaux utilisés pour la réalisation des dépôts bioactifs à base d'hydroxyapatite et de chlorapatite par un nouveau procédé de projection plasma opérant à basse énergie. Les essais de pulvérisation par MTBE ont été réalisés par l'entreprise Inasmet-Tecnalia partenaire du projet Nanomed2.

I-1. Choix et préparation du substrat

Les substrats destinés à la réalisation des dépôts d'apatite par projection plasma sont à base de titane pur de type T40 qui est biocompatible et présente une excellente résistance mécanique (Normes : ASTM F 67 Grade 2 et ISO 5832-2). Les substrats sont sous forme de disques de diamètre 12 mm et d'épaisseur 3 mm. Un protocole de préparation de la surface a été adopté pour tous les substrats : après polissage, la surface des disques a été nettoyée et dégraissée à l'acétone puis rendue rugueuse par sablage au corindon F150 avec une pression de 2 bars (rugosité arithmétique = 1 μm environ). Le sablage a pour but de faciliter l'accrochage mécanique des particules d'apatite fondues.

I-2. Projection thermique par mini-torche plasma à basse énergie

I-2-1. Le dispositif expérimental

Les revêtements d'hydroxyapatite et de chlorapatite obtenus à partir des poudres de HA et CIA de granulométrie 50-80 μm ont été réalisés sous air avec une nouvelle mini-torche de projection plasma (Figure 3.1) opérant à basse énergie (MTBE). Ce dispositif est conçu et fabriqué par l'entreprise Inasmet-Tecnalia (San Sebastian, Espagne) pour permettre de réaliser des recouvrements d'implants par de fines couches d'apatites.



Figure 3.1 : Photographie de la mini-torche (MTBE) pour la projection plasma à basse énergie

La mini-torche plasma est munie d'électrodes standard de F4-gun (6 mm buse / Electrode/ Ordre N° 1018851) et d'un circuit de refroidissement à eau (Figure 3.2) et ses pôles électriques sont séparés par une résine époxy renforcée de fibres de verre. Pour des mesures de sécurité, le système a été conçu pour opérer uniquement avec l'argon comme gaz plasmagène.

Afin d'améliorer la performance du système MTBE, les dimensions de la buse de la mini-torche et des ports d'injection de la poudre ont été adaptées pour permettre un flux gazeux et aérodynamique.

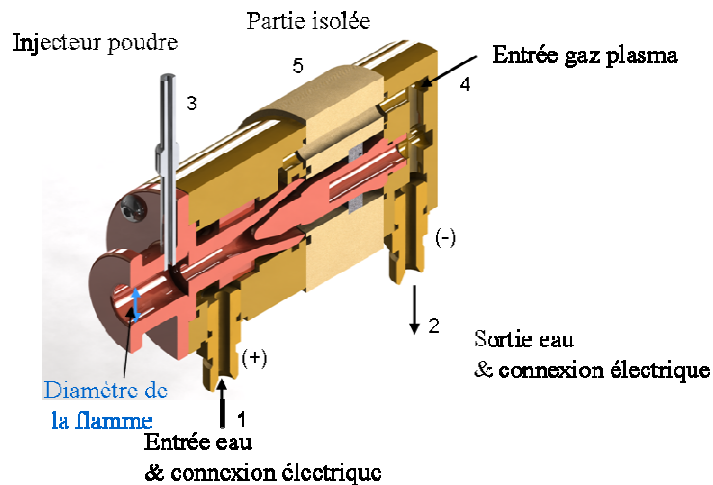


Figure 3.2 : Schéma d'une coupe transversale de la mini-torche plasma

Un schéma représentatif du dispositif MTBE est illustré sur la Figure 3.3. Le système est couplé avec une source standard de courant continu (TETRIX-421W DC "SYNERGIC", Praxair Soldadura, Espagne) avec une puissance nominale maximale de 15 kW pour une intensité de 400 A. Cette unité fonctionne avec un module de contrôle des gaz afin d'obtenir un flux gazeux stable, précis et reproductible.

Le contrôle électronique de l'autoallumage est commandé par un ordinateur. Il permettra la détermination, la mesure et le contrôle des paramètres clés de manière automatique. L'injecteur de poudre a été placé dans la buse de la torche spécialement conçue pour améliorer le transfert thermique de la flamme du plasma aux particules d'apatite (HA ou CIA) et ainsi atteindre un degré de « fusion » adéquat. Le système est capable de fonctionner avec des chargeurs de poudres classiquement utilisés pour une projection plasma standard.

Dans cette étude, nous avons utilisé une unité commerciale d'alimentation en poudre (Twin10, Sulzer Metco, Suisse). Le déplacement vertical de la torche a été ajusté à 3 mm pour s'adapter à la taille du spot du plasma et sa vitesse relative a été fixée à 200 mm/s. Comme le transfert thermique sur le substrat est limité par la puissance relativement faible du système, le refroidissement du substrat n'est pas nécessaire au cours de la procédure de dépôt.

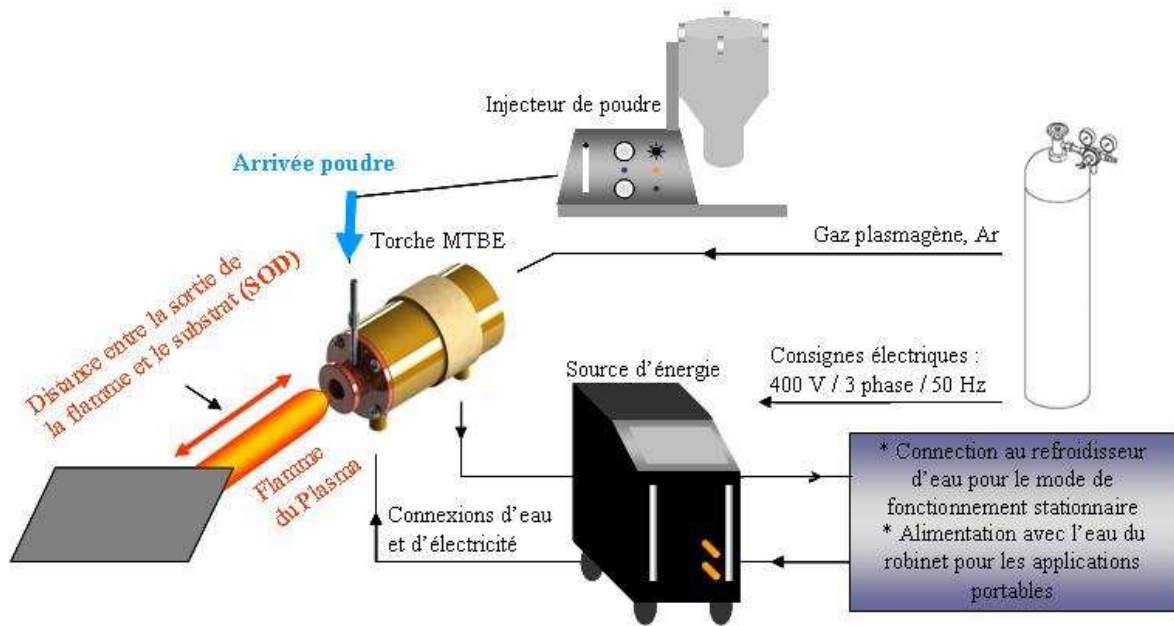


Figure 3.3 : Schéma simplifié du système de projection plasma à basse énergie

I-2-2. Paramètres de projection

De nombreux travaux évoquent l'influence des paramètres de projection sur les propriétés du dépôt (Cheang and Khor 1996; Gross and Berndt 1998). Il existe, en effet, une cinquantaine de paramètres et leur impact sur la microstructure des revêtements est délicate à évaluer. Toutefois, des études préalables de l'effet de ces paramètres, menées par nos collaborateurs d'Inasmet-Tecnalia, ont permis de déterminer les conditions optimales pour la projection de poudres d'apatite de granulométrie 50-80 μm . L'ensemble des paramètres de projection retenus pour le dépôt d'apatite par MTBE a été optimisé pour avoir un meilleur rendement et limiter la décomposition de la poudre. Le Tableau 3.1 récapitule l'ensemble de ces paramètres optimaux.

Tableau 3.1: Paramètres optimaux retenus pour la projection de poudres d'apatites par mini-torche plasma basse énergie

Débit de gaz plasmagène Ar (L/min)	24
Intensité de courant (A)	400
Débit de gaz porteur (Ar, L/min)	4
Débit de poudre (g/min)	8
Distance de projection (mm)	40
Nombre de passages	1 ; 6 ; 12 ; 20

I-3. Elaboration des dépôts

Le recouvrement des substrats en titane a été réalisé par la mini-torche à projection plasma. Celle-ci opère par des balayages horizontaux pour répartir la poudre d'apatite projetée par la flamme sur la totalité du substrat. Les balayages (ou passages) de la mini-torche plasma pendant la projection

de poudre déterminent l'épaisseur du dépôt. Dans le présent travail, nous avons étudié les dépôts d'hydroxyapatite et de chlorapatite obtenus après 1, 6, 12 et 20 passages par la mini-torche. Le Tableau 3.2 présente les références des différents dépôts réalisés et étudiés ; ces références seront utilisées dans la suite de ce chapitre. La présentation de la référence des échantillons rend compte du type de poudre projetée (HA ou CIA) ainsi que du nombre de passages de la mini-torche plasma (1P, 6P, 12P ou 20P).

Nous pouvons remarquer l'effet déterminant du nombre de passages sur l'épaisseur du dépôt. Celle-ci est déterminé à l'aide d'un appareil « Fischer, DUALSCOPE MP0R » qui fonctionne à la fois sur le principe des courants de Foucault (normes : DIN EN ISO 2360, ASTM B244) et sur celui de l'induction magnétique (normes : EN ISO 2178, ASTM B499). Comme attendu, plus le nombre de passages augmente plus l'épaisseur du dépôt augmente. Par ailleurs, nous observons que l'épaisseur des dépôts de chlorapatite est systématiquement plus faible que celle des dépôts d'hydroxyapatite pour le même nombre de passages de la mini-torche.

Tableau 3.2 : Références et épaisseurs des dépôts réalisés et étudiés

Référence	Nombre de passages par la mini-torche	Epaisseur du dépôt (μm)
Dépôt-HA-1P	1	28 ± 4
Dépôt-HA-6P	6	85 ± 4
Dépôt-HA-12P	12	161 ± 4
Dépôt-HA-20P	20	274 ± 4
Dépôt-CIA-1P	1	16 ± 4
Dépôt-CIA-6P	6	60 ± 4
Dépôt-CIA-12P	12	120 ± 4
Dépôt-CIA-20P	20	179 ± 4

L'examen à l'œil nu des dépôts d'HA et de CIA permet d'observer la bonne homogénéité des dépôts bien répartis sur toute la surface du substrat métallique. Une photographie macroscopique d'un dépôt d'HA est présentée sur la Figure 3.4.

De plus, il est à noter que le grattage du dépôt nécessaire pour la caractérisation des dépôts s'est avéré difficile, preuve du bon accrochage des dépôts sur la surface métallique.



Figure 3.4 : Photographie d'un échantillon de titane revêtu d'hydroxyapatite par mini-torche plasma

II. CARACTERISATION DE LA SURFACE

L'état de surface est un facteur déterminant sur la bioactivité des matériaux implantés. Nous nous proposons donc de caractériser les dépôts d'HA et de CIA en mettant tout particulièrement l'accent sur les modifications entraînées par l'utilisation de chlorapatite. Diverses méthodes d'analyses physico-chimiques ont été employées : la microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à un détecteur à rayons X à dispersion d'énergie (EDS) et la mesure de la rugosité de surface à l'aide d'un interféromètre optique. L'ensemble de ces méthodes est décrit dans l'*Annexe I*.

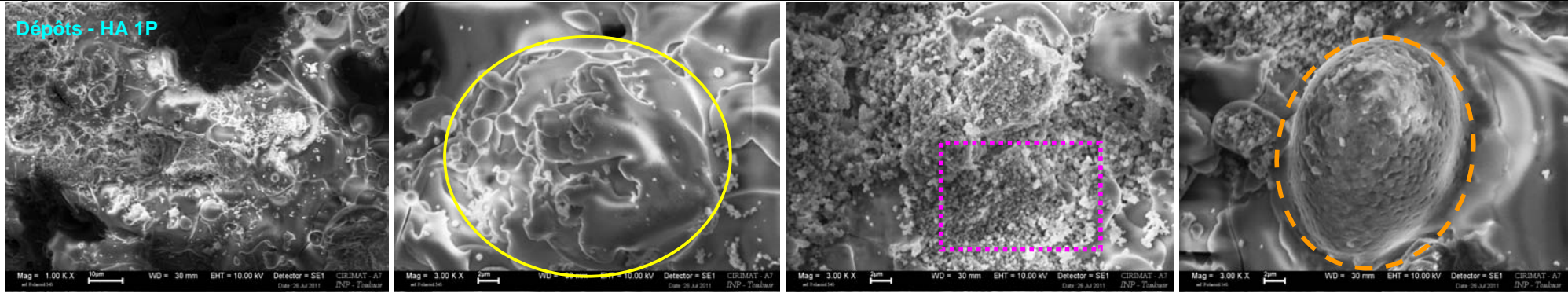
II-1. Analyse de la surface des dépôts par MEB/EDS

Les images MEB des dépôts réalisés à partir des poudres d'HA et de CIA sont présentées sur la Figure 3.5. L'observation de la surface des échantillons d'HA et de CIA obtenus après 1, 6, 12 et 20 passages de la mini-torche révèle une microstructure lamellaire caractéristique des revêtements obtenus par projection plasma. En outre, nous remarquons que la surface est rugueuse avec la présence de pores, de particules sphériques de différentes formes et dimensions. Cependant, aucune fissure n'a été observée durant l'analyse. Toutefois, il apparaît que les surfaces des dépôts obtenus avec la poudre de CIA montrent une rugosité plus faible que les dépôts d'HA. Il semble donc que la texture des dépôts plasma de chlorapatite soit modifiée par rapport à celle des dépôts plasma d'HA.

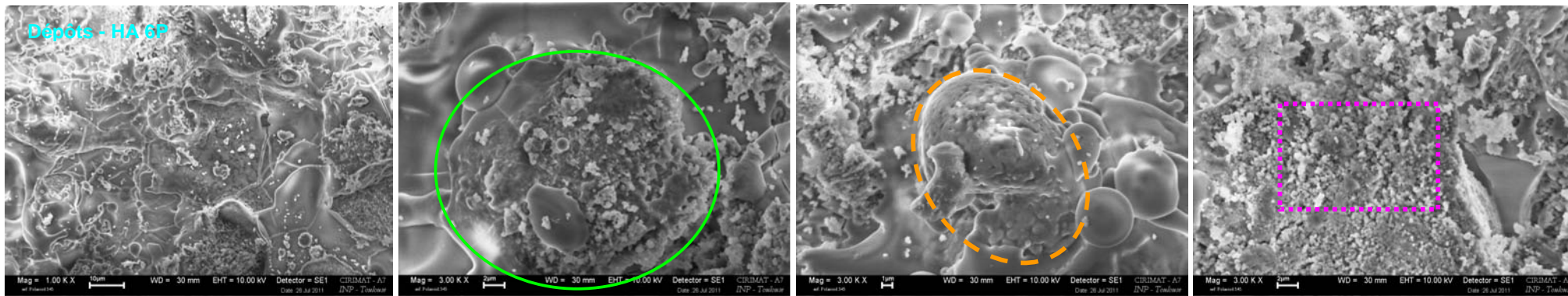
Après un examen détaillé des images recueillies, nous nous intéressons à quatre morphologies les plus rencontrées à la surface des dépôts :

- Des particules fondues aux formes arrondies et écrasées sur la surface du substrat. Nous utiliserons le mot anglais « splat » pour les nommer. Elles sont entourées par des cercles jaunes
- Des splats dont la partie centrale est d'apparence cristallisée (cercle vert)
- Des regroupements de particules cristallisées de 0.1 à 1 μm (rectangle rose)
- Des grains déformés ayant une surface d'apparence frittée. Ces grains n'ont souvent pas fondu et sont parfois déformés. Certains d'entre eux sont entourés par un trait orange.

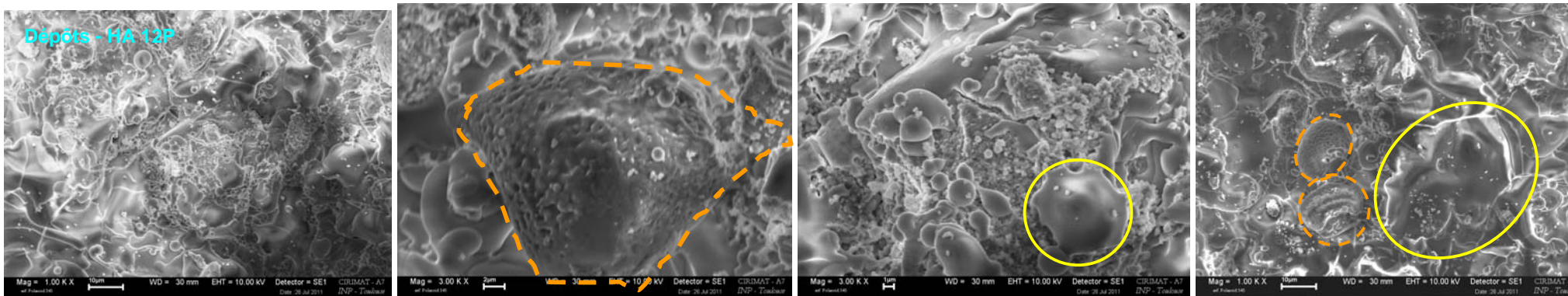
Dépôts - HA 1P



Dépôts - HA 6P

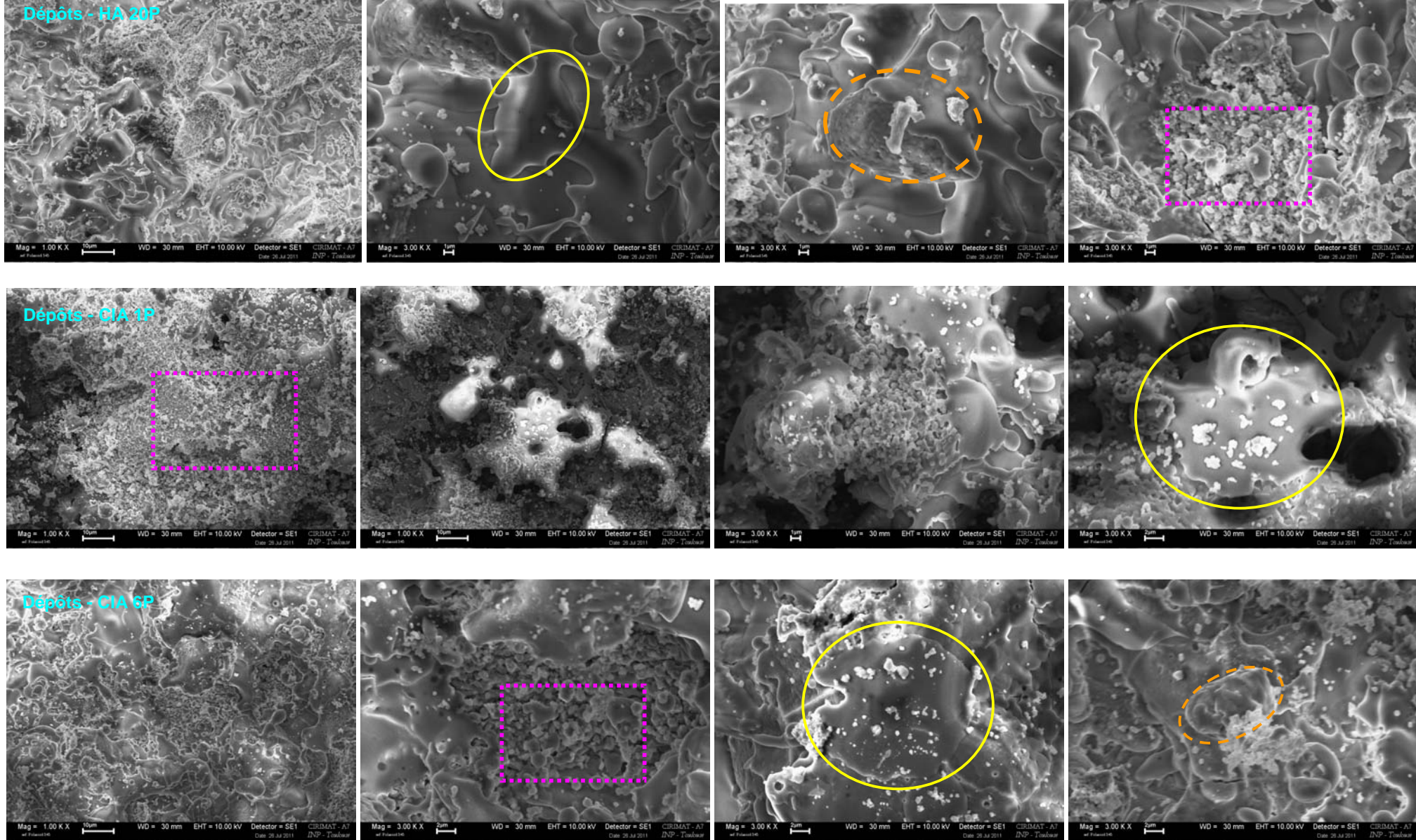


Dépôts - HA 12P



Chapitre III.

Revêtements d'HA et de CIA obtenus par mini-torche plasma à basse énergie



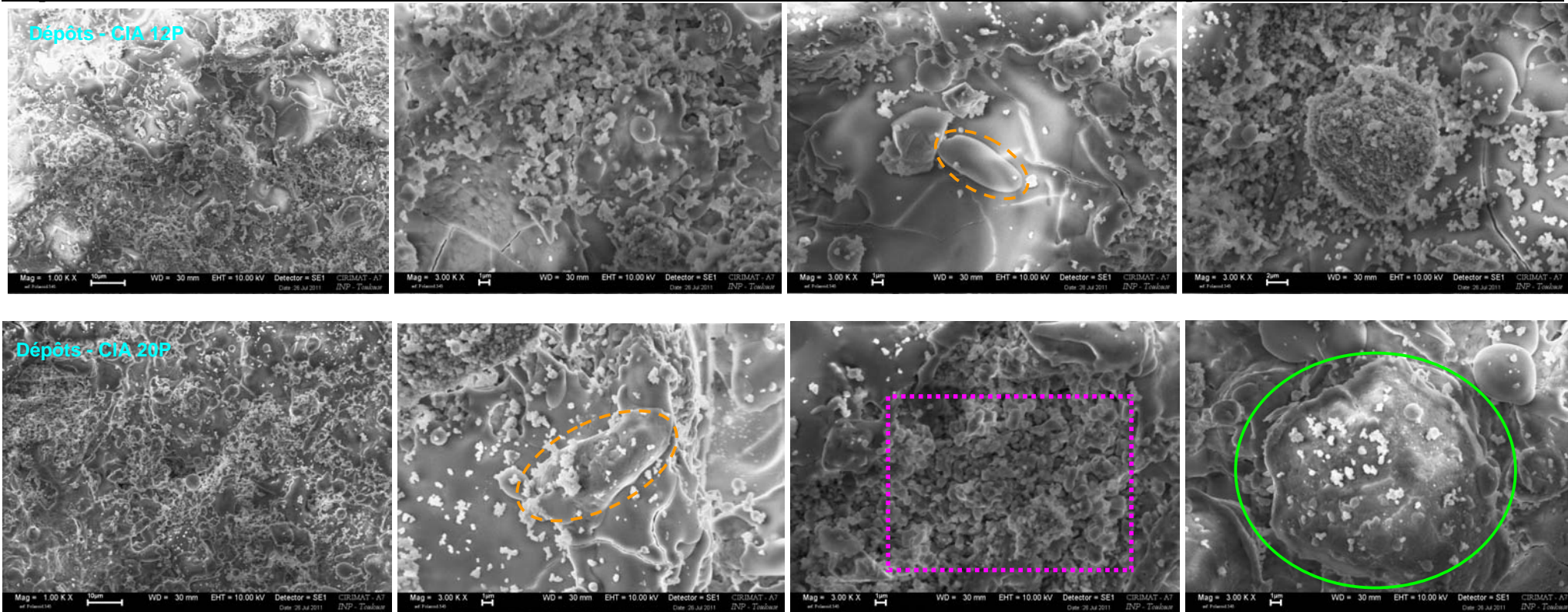


Figure 3.5 : Micrographies MEB de la surface des dépôts d'HA et de CIA obtenus après 1, 6, 12 et 20 passages de la mini-torche plasma.

Nous pouvons constater la présence de nombreux splats bien visibles sur la surface du dépôt HA-1P. Ceci est dû à la trempe rapide des particules. Les dépôts d'HA-6P, 12P et 20P contiennent plutôt des splats recristallisés. Par ailleurs, le nombre de splats observables sur la surface des dépôts CIA est très faible et leur surface est moins importante que dans les dépôts d'HA. Cependant, les dépôts de CIA semblent contenir plus de particules recristallisées. Le recouvrement est homogène et les cristaux semblent bien adhérer au substrat. On observe aussi la formation de particules non fondues dans les deux types de dépôts. Celles-ci proviennent de gros grains qui semblent avoir subi un léger frittage de la surface durant la projection plasma.

L'analyse EDS réalisée sur différents points des dépôts d'HA et de CIA confirme la présence de tous les éléments introduits initialement et l'absence de pollution par d'autres éléments (dans les limites de détection de l'appareil). Un exemple de spectre EDS d'un dépôt d'HA obtenu après un passage de la mini-torche est présenté sur la Figure 3.6.

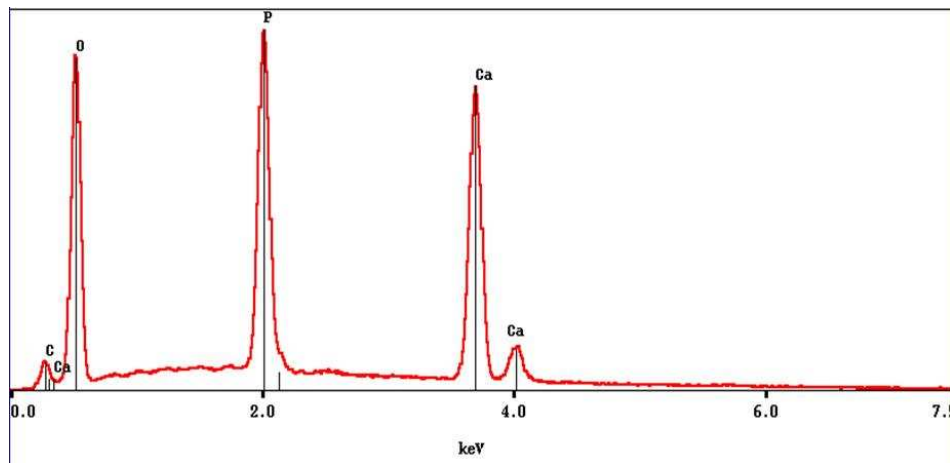


Figure 3.6: Spectre EDS d'un dépôt d'HA obtenu après 1 passage de la mini-torche plasma

II-2. Mesure de la rugosité de surface des dépôts

La rugosité des revêtements de prothèses est un facteur majeur, déterminant pour le développement cellulaire. La rugosité finale du dépôt dépend de la rugosité initiale du substrat et des conditions expérimentales choisies pour effectuer le dépôt. Dans notre cas, la rugosité initiale est fixée par le sablage du substrat tandis que la rugosité finale évolue essentiellement en fonction de l'épaisseur du dépôt (nombre de passages de la mini-torche) et de la nature du matériau projeté (hydroxyapatite ou chlorapatite). La mesure de rugosité est effectuée à l'aide d'un interféromètre optique (*Annexe I*). La méthode est non destructive, rapide et permet d'accéder à la reconstitution 2D et/ou 3D de la surface analysée (Figure 3.7) ainsi qu'à certaines caractéristiques de rugosité, notamment la rugosité arithmétique R_a .

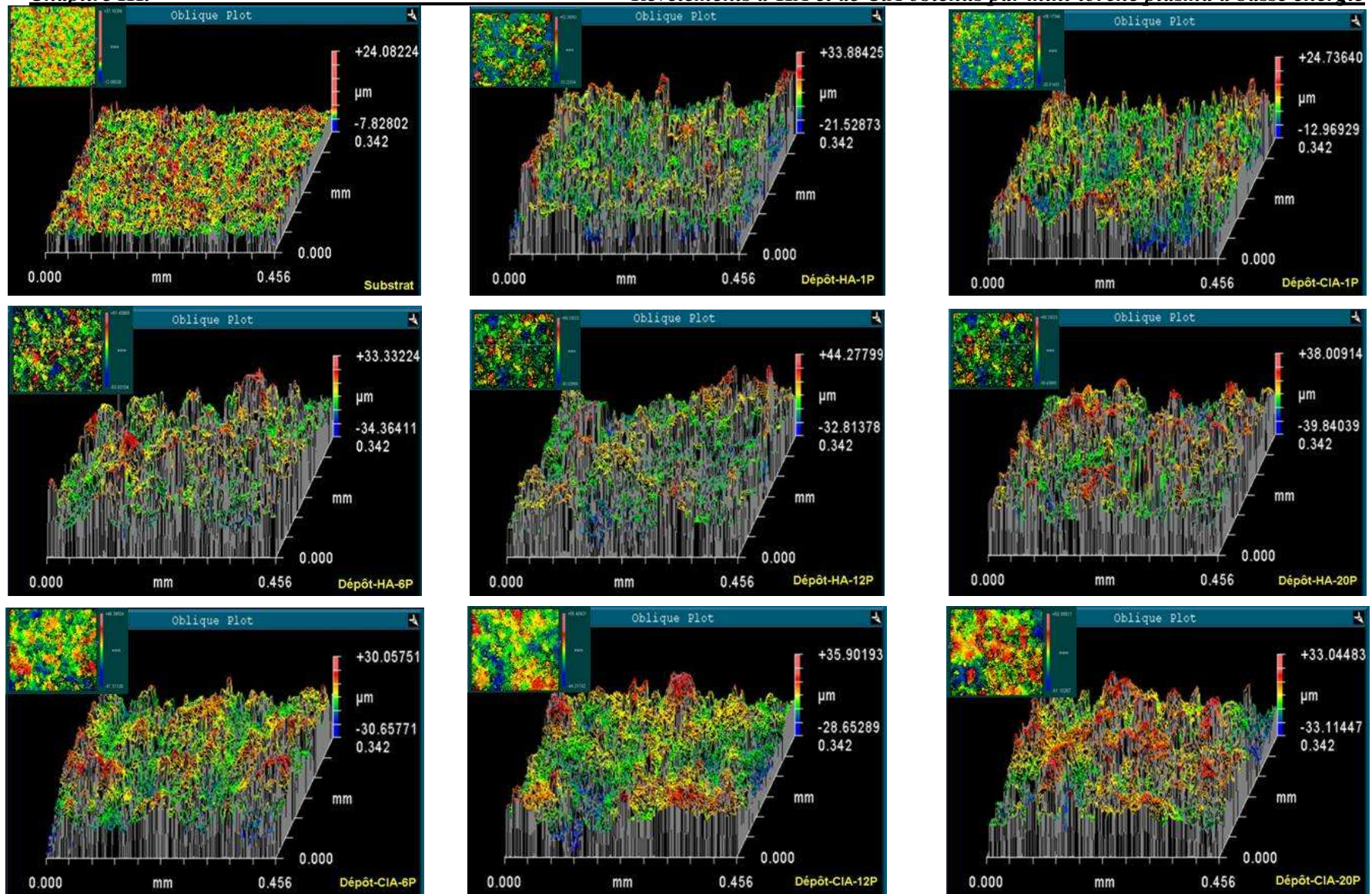


Figure 3.7: Images 3D des surfaces du substrat sable non revêtu ainsi que celles des dépôts d'HA et de CIA obtenus après 1, 6, 12 et 20 passages de la mini-torche plasma.

Le diagramme présenté sur la Figure 3.7.bis illustre la variation de la rugosité arithmétique en fonction du nombre de passages ainsi que du type d'apatite projetée. L'examen de cette figure montre que dès le premier passage de la mini-torche, le R_a enregistre un saut brusque vers des valeurs comprises entre 4.32 et 6.33 μm . D'autre part, on constate que les revêtements à base d'hydroxyapatite présentent des valeurs de R_a plus élevées que celles mesurées pour les revêtements de chlorapatite. Les différences de propriétés physico-chimiques des deux types d'apatite déposées, en particulier leur comportement à haute température lors de la projection ainsi que lors du refroidissement pourraient expliquer les différences de rugosité observées pour les deux types de dépôt. Cependant, à partir de 6 passages, le R_a reste constant pour les deux types de dépôt.

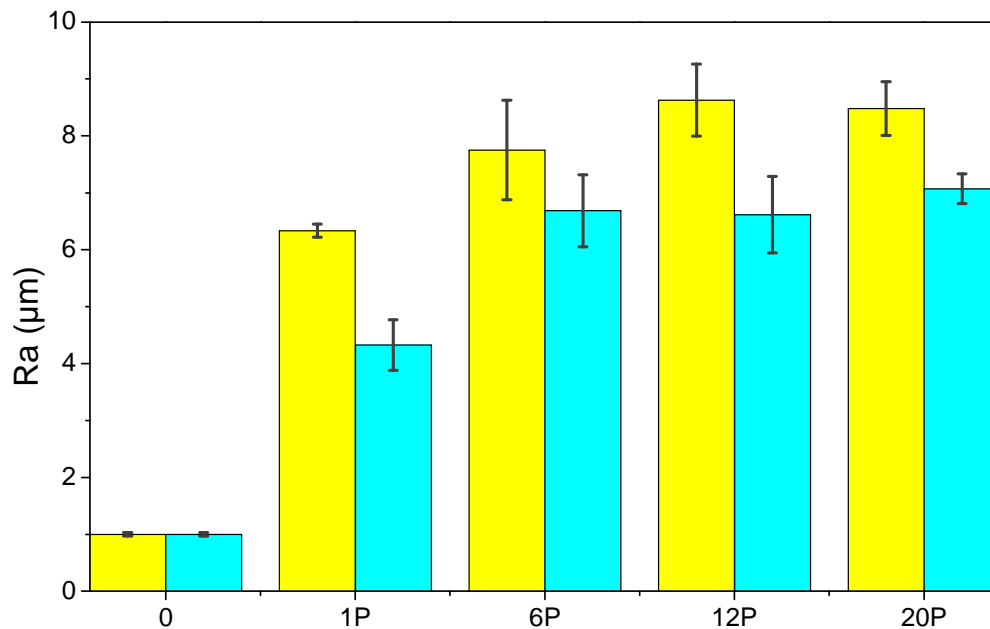


Figure 3.7.bis: Variation de la rugosité de surface des dépôts de HA (en jaune à gauche) et de CIA (en bleu à droite) en fonction du nombre de passages de la mini-torche plasma. (0 : substrat avant traitement plasma)

II-3. Conclusion

Les observations effectuées par microscopie (MEB-EDS) et par interférométrie optique sur la surface des échantillons montrent des dépôts avec une microstructure lamellaire avec présence de différentes morphologies de grains (fondus 'splats' recristallisés, déformés...). Il est à noter qu'aucune fissure ou craquelure n'a été observée sur l'ensemble des revêtements ce qui suggère que les dépôts réalisés à l'aide du nouveau système MTBE ont une bonne adhérence sur le substrat. L'utilisation de la chlorapatite comme poudre de départ pour la projection plasma donne lieu à des dépôts plus homogènes et moins rugueux. Enfin, nous avons surtout pu constater au cours de cette étude les modifications de l'état de surface engendrées par la modification de composition de la poudre de départ. Nous nous intéressons dans le paragraphe suivant aux conséquences de cette chloruration sur les propriétés structurales des dépôts.

III. ANALYSE STRUCTURALE DES DEPOTS

III-1. Caractérisation par diffraction des rayons X

En raison de la bonne adhérence des dépôts sur les substrats, ainsi que de leur faible épaisseur, la détermination des phases étrangères par diffraction des rayons X a été menée directement sur les dépôts sans grattage. La Figure 3.8.a rassemble les diagrammes de diffraction des rayons X des dépôts d'HA élaborés à partir de 1, 6, 12 ou 20 passages de la mini-torche plasma. Après analyse des diffractogrammes, nous remarquons que les raies caractéristiques des dépôts correspondent à celles de l'hydroxyapatite de référence (JCPDS 09-432) sans aucune raie supplémentaire. Sur l'ensemble des dépôts d'HA, les raies caractéristiques du CaO, TCP et TTCP sont absentes (fiches JCPDS en *Annexe 2*). La phase amorphe produite lors de la projection apparaît sous forme d'un large halo de faible intensité centré autour de $2\theta = 30,50^\circ$. Toutefois, on peut remarquer deux raies supplémentaires ($2\theta = 34,98^\circ$ et $38,30^\circ$) détectées sur le dépôt-1P produit après un seul passage de la mini-torche. Ces raies correspondent à celles du titane constituant le substrat à recouvrir. L'apparition de ces deux raies dans le diffractogramme du dépôt HA-1P uniquement peut être due à sa faible épaisseur ou à un recouvrement irrégulier ou incomplet de la surface. Les diagrammes de diffraction des rayons X des dépôts de CIA sont reportés sur la Figure 3.8.b. Nous remarquons que les raies sont bien définies et correspondent à celles d'une chlorapatite pure. Cependant, l'examen des diagrammes à l'aide d'un logiciel approprié (Match!) confirme que les dépôts de CIA correspondent à une chlorapatite de structure hexagonale (JCPDS 33-271) contrairement à la poudre de CIA initiale qui présentait une structure monoclinique (cf. Chapitre 2). Ce changement de système cristallin de la CIA a également été mis en évidence autour de 200°C par analyse thermogravimétrique de la CIA synthétisée (cf. Chapitre 2). La phase amorphe n'est pas visible et aucune différence n'est détectée entre les dépôts.

Rapport atomique Ca/P des dépôts

Afin de déterminer le rapport atomique Ca/P par DRX suivant la norme ISO 13779-3 :2008, les dépôts d'HA et de CIA obtenus après 12 passages de la mini-torche ont été grattés, broyés et calcinés à 1000°C durant 15 h. Ils ont ensuite été analysés par diffraction des rayons X (Figure 3.9). Les rapports atomiques déterminés pour les différents échantillons sont reportés dans le Tableau 3.4.

Chapitre III. Revêtements d'HA et de CIA obtenus par mini-torche plasma à basse énergie

Tableau 3.4 : Rapports atomiques des dépôts d'HA et de CIA obtenus après 12 passages de la mini-torche plasma (détermination suivant la norme ISO 13779-3 :2008)

Echantillons	Dépôt d'HA	Dépôt de CIA
Ca/P	1.667 ± 0.002	1.667 ± 0.002

Nous constatons que les deux types de dépôts étudiés (HA et CIA) ont un rapport atomique Ca/P égal à celui d'une apatite stœchiométrique. La projection plasma par la mini-torche à basse énergie ne semble pas globalement altérer la composition ni la stœchiométrie de l'apatite.

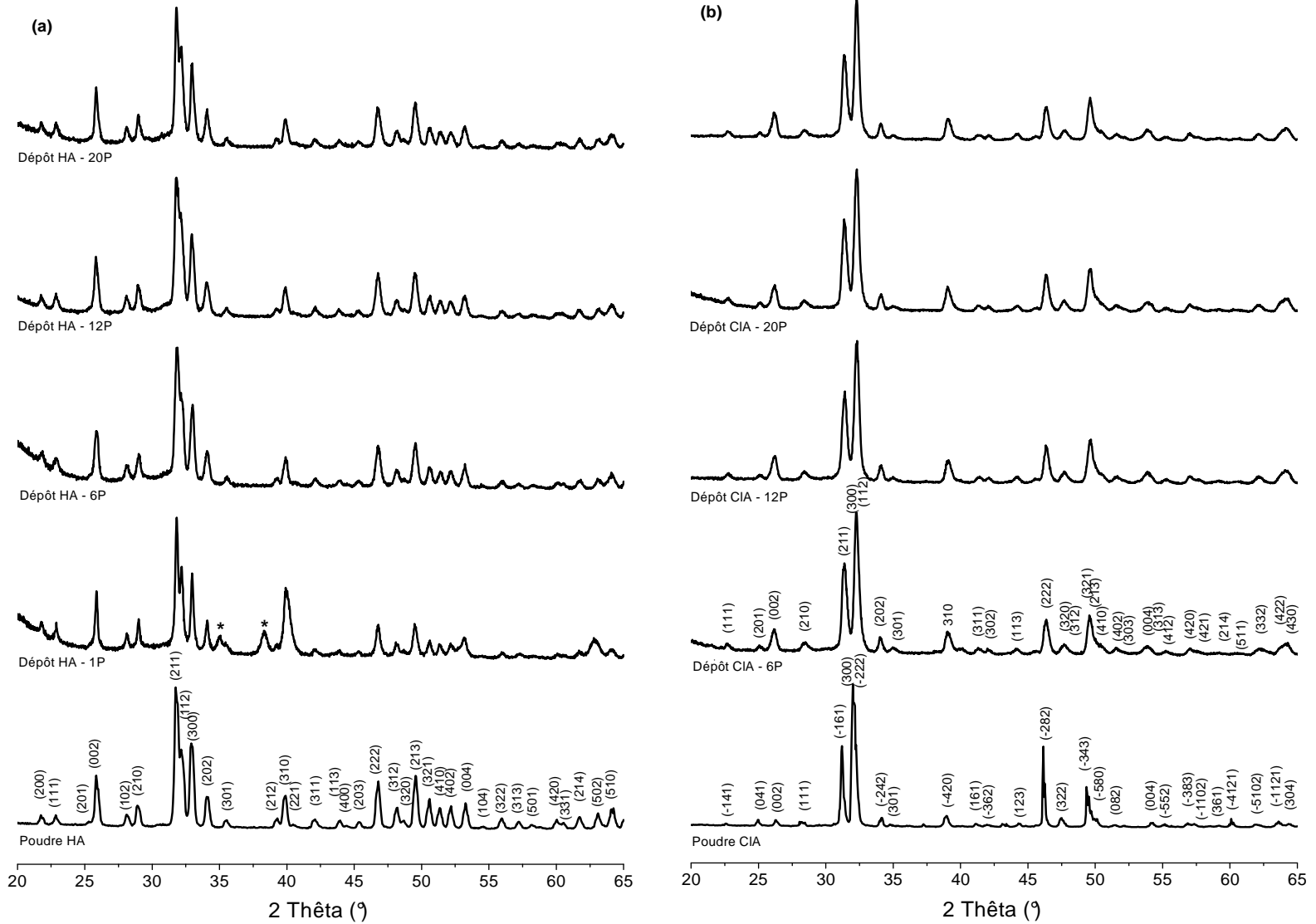


Figure 3.8 : Diagrammes de diffraction des RX des dépôts d'HA (a) et de CIA (b) en fonction du nombre de passages de la mini-torche plasma comparés respectivement à celui de la poudre initiale

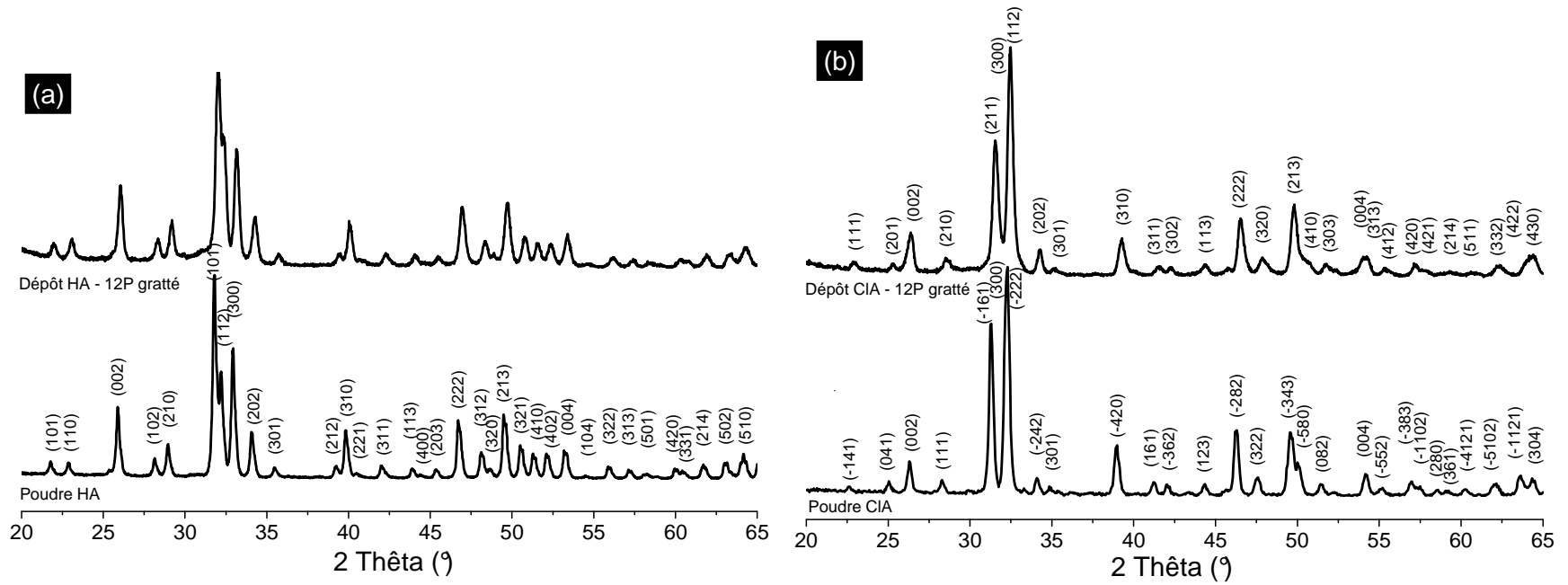


Figure 3.9 : Diagrammes de diffraction des rayons X des dépôts d'HA (a) et de CIA (b) obtenus après 12 passages de la mini-torche comparés respectivement à celui de la poudre initiale

Détermination du rapport de cristallinité des revêtements

L'étude de la « cristallinité » des revêtements a été effectuée sur les dépôts grattés selon la norme ISO 13779-3 :2008. Cette norme définit le rapport de cristallinité comme paramètre caractéristique de l'état de cristallinité des revêtements d'hydroxyapatite. Ce rapport est basé sur la mesure des intensités intégrées de 10 raies de diffraction du diagramme des dépôts d'HA comparées à celles d'une HA de référence comme l'indique l'équation (1).

$$Rc = \frac{\sum_{(hkl)} A}{\sum_{(hkl)} A'} * 100 \quad (1)$$

Rc est le rapport de cristallinité en %. $\sum_{(hkl)} A$ et $\sum_{(hkl)} A'$ représentent respectivement la somme des intensités intégrées des 10 raies de diffraction du dépôt d'HA après grattage et de la poudre d'HA de référence (Tableau 3.5). La norme ISO 13779-3 :2008 préconise un pourcentage minimal de 50 %. Nous avons calculé ce rapport à partir des diagrammes de RX des dépôts grattés d'HA obtenus après 12 passages de la mini-torche (Figure 3.9). Par la suite, nous avons adopté la même approche pour calculer le rapport de cristallinité des dépôts à base de chlorapatite obtenus après 12 passages de la mini-torche (CIA-12P) : les 10 raies de diffraction sélectionnées sont indiquées dans le Tableau 3.5. Nous obtenons des rapports de cristallinité de $R_{HA} = 68 \%$ pour les dépôts d'HA et $R_{CIA} = 98 \%$ pour les dépôts de CIA.

Tableau 3.5: Raies de diffraction X sélectionnées pour le calcul du rapport de cristallinité des dépôts d'HA et de CIA

Raies de diffraction de la HA	Raies de diffraction de la CIA
002	201
102	002
210	210
211	211
112	300
300	112
202	202
310	310
222	222
213	213

Les dépôts plasma d'HA réalisés par la société Inasmet présentent un bon rapport de cristallinité (68 %) conforme aux exigences de la norme. Ceci permet d'affirmer que les paramètres de projection ont été parfaitement maîtrisés. Toutefois, cette cristallinité reste plus faible que celle de l'apatite de référence (HA de référence). Cette différence est probablement attribuée à la présence d'une solution solide oxy-hydroxyapatite. Par ailleurs, les dépôts de CIA ont un excellent rapport de cristallinité (98 %). Ce résultat laisse penser qu'on a très peu de phase amorphe.

Taille des cristallites et Micro-contraintes

Sur la Figure 3.9, nous constatons, une augmentation de la largeur à mi-hauteur des raies de diffraction entre les poudres et les dépôts aussi bien pour la HA que la CIA. Cette observations peut être liée a plusieurs phénomènes reliés au désordre dans le matériau ainsi qu'aux nombres d'interfaces, les plus importants sont: (i) une diminution de la taille des cristallites (ii) une augmentation des micro-contraintes. Afin de séparer ces contributions, nous avons effectué des affinements Rietveld en utilisant respectivement pour l'HA et la CIA, les structures présentées dans le chapitre 1 (HA: $P6_3/m$ et CIA $P2_1/c$). A la lecture de données calculées (Tableau 3.6), on remarque pour les deux compositions entre la poudre et le dépôt, une augmentation significative des micro-contraintes ainsi qu'une diminution conséquente de la taille des cristallites.

Tableau 3.6 : Résultats de l'affinement Rietveld de l'HA et de CIA initiales ainsi que dans leur dépôt respectif obtenu obtenus après 12 passages de la mini-torche

Groupe d'espace : $P6_3/m$		
	Poudre HA	Dépôt HA-12P
a (Å)	9.1457(2)	9.4107(2)
c (Å)	6.8865(2)	6.8748(2)
Taille des cristallites (Å)	4025(171)	2030(67)
Micro contrainte (rms)	0.00058(2)	0.00099(2)
R_{exp} (%)	5.47	6.00

Groupe d'espace : $P2_1/c$		
	Poudre CIA	Dépôt CIA-12P
a (Å)	9.652(1)	9.550(3)
c (Å)	19.319(2)	19.261(4)
c (Å)	6.784(1)	6.818(2)
γ (°)	120.00(2)	120.00(1)
Taille des cristallites (Å)	1467(39)	747(20)
Micro contrainte (rms)	0.00106(3)	0.00135(3)
R_{exp} (%)	6.30	5.85

Cependant, il n'est pas évident de conclure, car nous le verrons plus loin dans ce chapitre, la présence probable d'une solution solide oxy-hydroxyapatite ou oxy-chlorapatite peut influencer les résultats de notre analyse car il est relativement difficile de tenir compte de ce genre de situation complexe dans un modèle d'affinement. Ainsi l'augmentation de la largeur a mi-hauteur des pics, pourrait être liée au désordre cristallin résultant de la simple présence de ces solutions solides.

III-2. Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

L'analyse par spectroscopie FTIR des huit dépôts étudiés a été réalisée sur la poudre après grattage du dépôt ; les spectres d'absorption FTIR obtenus sont rassemblés sur la Figure 3.10. Les spectres des poudres de référence ont également été inclus sur cette figure pour comparaison. Un premier examen des spectres obtenus dans la région spectrale comprise entre $1100-950\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_3\text{PO}_4$ et $\nu_1\text{PO}_4$) et $600-560\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_4\text{PO}_4$) correspondant aux modes de vibration des groupements phosphates montre des bandes plus larges et moins bien résolues que celles des poudres initiales. L'augmentation de l'intensité relative des bandes du domaine $\nu_2\text{PO}_4$ à 434 et 471 cm^{-1} corrélée avec la diminution de l'intensité relative des bandes à 3572 et 630 cm^{-1} révèle la présence d'une phase oxyhydroxyapatite dans les dépôts d'HA. Nous avons observé le même phénomène pour les dépôts de CIA attestant de la formation d'une solution solide oxy-chlorapatite.

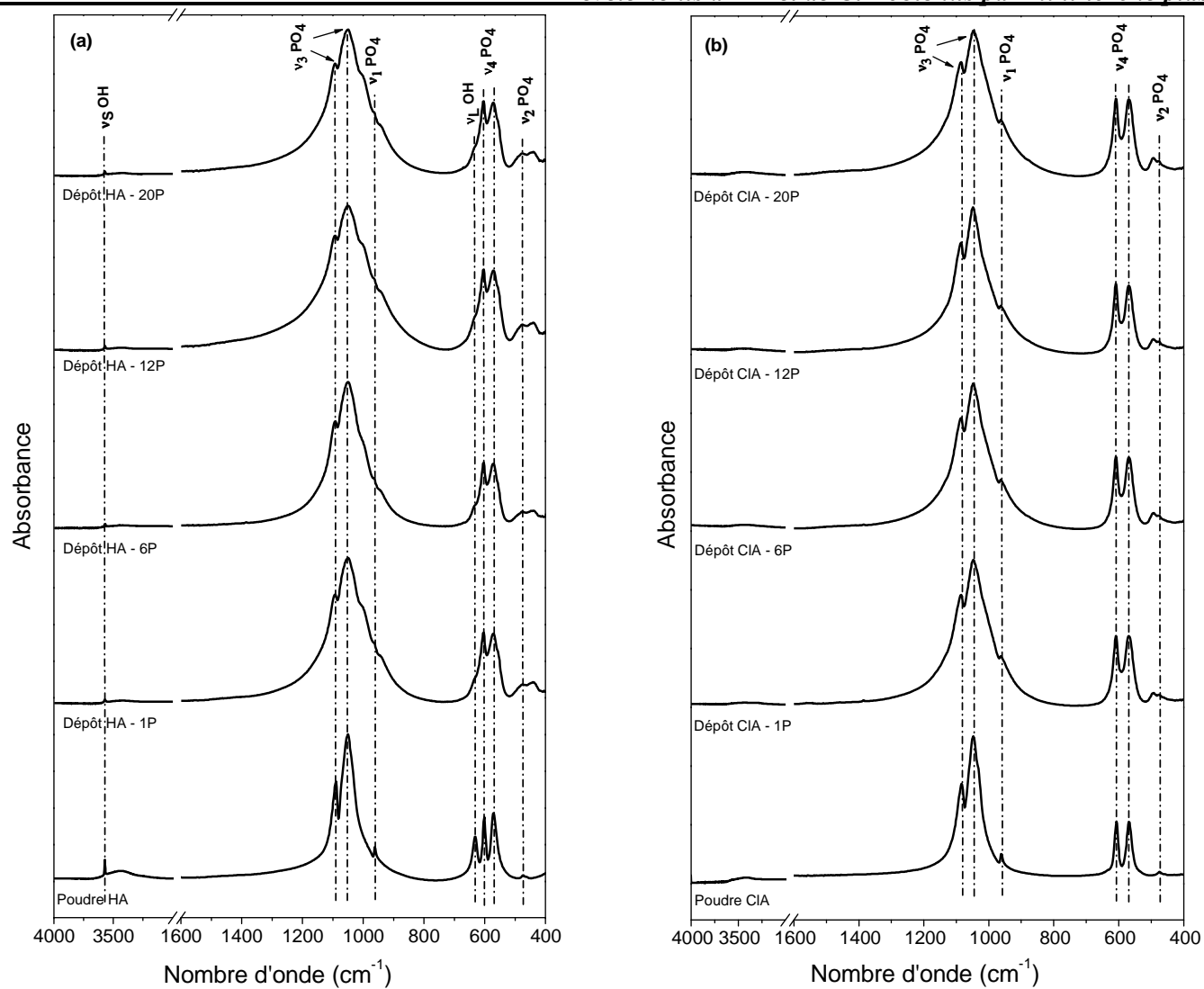


Figure 3.10. Spectres FTIR des dépôts grattés d'HA (a) et de CIA (b) en fonction du nombre de passages de la torche plasma comparés à celui de leur poudre initiale respective

III-3. Caractérisation par micro-spectroscopie Raman

La Figure 3.11 regroupe les spectres Raman des dépôts d'HA (Figure 3.11.a) et de CIA (Figure 3.11.b) ainsi que ceux des poudres initiales d'HA et de CIA. On observe la présence des bandes correspondant aux modes de vibration des groupements phosphate. Les bandes ($\nu_2\text{PO}_4$, $\nu_3\text{PO}_4$ et $\nu_4\text{PO}_4$) présentent des similitudes avec celles obtenues pour les poudres initiales. Cependant, la bande $\nu_1\text{PO}_4$ des apatites semble être la plus affectée après pulvérisation plasma.

Afin de préciser l'évolution de cette bande, une évaluation semi-quantitative des différentes raies constituant la bande $\nu_1\text{PO}_4$ a été réalisée. Pour cela, nous avons opéré des traitements mathématiques de décomposition des spectres Raman en utilisant le Logiciel GRAMS/32. Tous les spectres Raman ont été décomposés selon un modèle mathématique que nous avons élaboré en s'inspirant des travaux de thèse de X. Ranz sur la phase oxyapatite et la phase amorphe haute température (Ranz 1996). Une correction de la ligne de base a été menée sur chaque spectre. La décomposition a été effectuée en considérant quatre raies élémentaires dont trois de forme lorentzienne et une de forme gaussienne. Les itérations ont été poursuivies jusqu'à ce que la convergence soit atteinte. Une moyenne de trois 3 itérations a été calculé pour chaque pic.

La Figure 3.12 présente la décomposition de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ dans le domaine $910\text{-}990\text{ cm}^{-1}$ pour les différents dépôts. Cette décomposition fait apparaître des pics spécifiques à $966\text{-}969$, $950\text{-}951$, $961\text{-}963\text{ cm}^{-1}$ et une bande large à $945\text{-}950\text{ cm}^{-1}$. Cette dernière pourrait être attribuée à la présence d'une phase amorphe (Ranz 1996; Gross *et al.* 1998a). Les pics à $966\text{-}969$ et $950\text{-}951\text{ cm}^{-1}$ ont été cités par X. Ranz : ils correspondent à la présence d'une phase oxyapatite (Trombe 1972; Ranz 1996; Gross *et al.* 1998b). Le pic à $961\text{-}963\text{ cm}^{-1}$ est attribué à l'HA dans le cas des dépôts d'HA et à la chlorapatite dans le cas des dépôts de CIA. Ce pic est l'un des groupes les plus intenses. Les aires relatives des différentes composantes ont été déterminées par rapport à la somme totale des aires (Figure 3.13).

L'examen de la Figure 3.13 révèle un important taux de phase amorphe dans le dépôt HA-1P, un peu moins dans le dépôt HA-6P. On constate que la quantité relative de phase amorphe diminue avec l'augmentation du nombre de passages de la mini-torche plasma. Quant aux dépôts à base de chlorapatite, le taux de phase amorphe reste très faible et relativement stable. Le taux de la phase oxyapatite est très variable. Sa présence est également constatée dans les dépôts de CIA confirmant ainsi les résultats des analyses par spectroscopie FTIR.

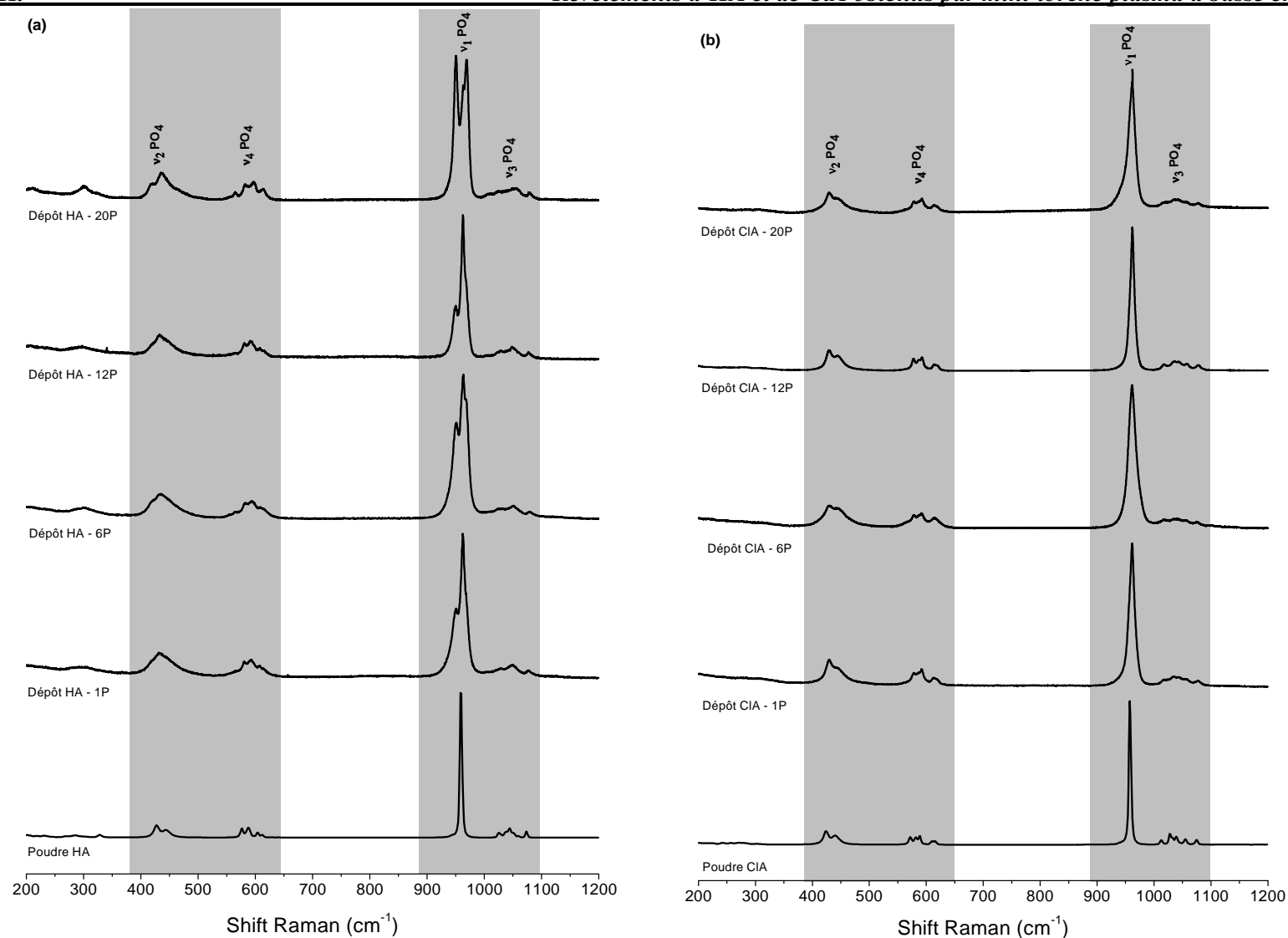


Figure 3.11 : Spectres Raman des dépôts grattés d'HA (a) et de CIA (b) en fonction du nombre de passages de la torche plasma comparés à ceux de leur poudre initiale respective

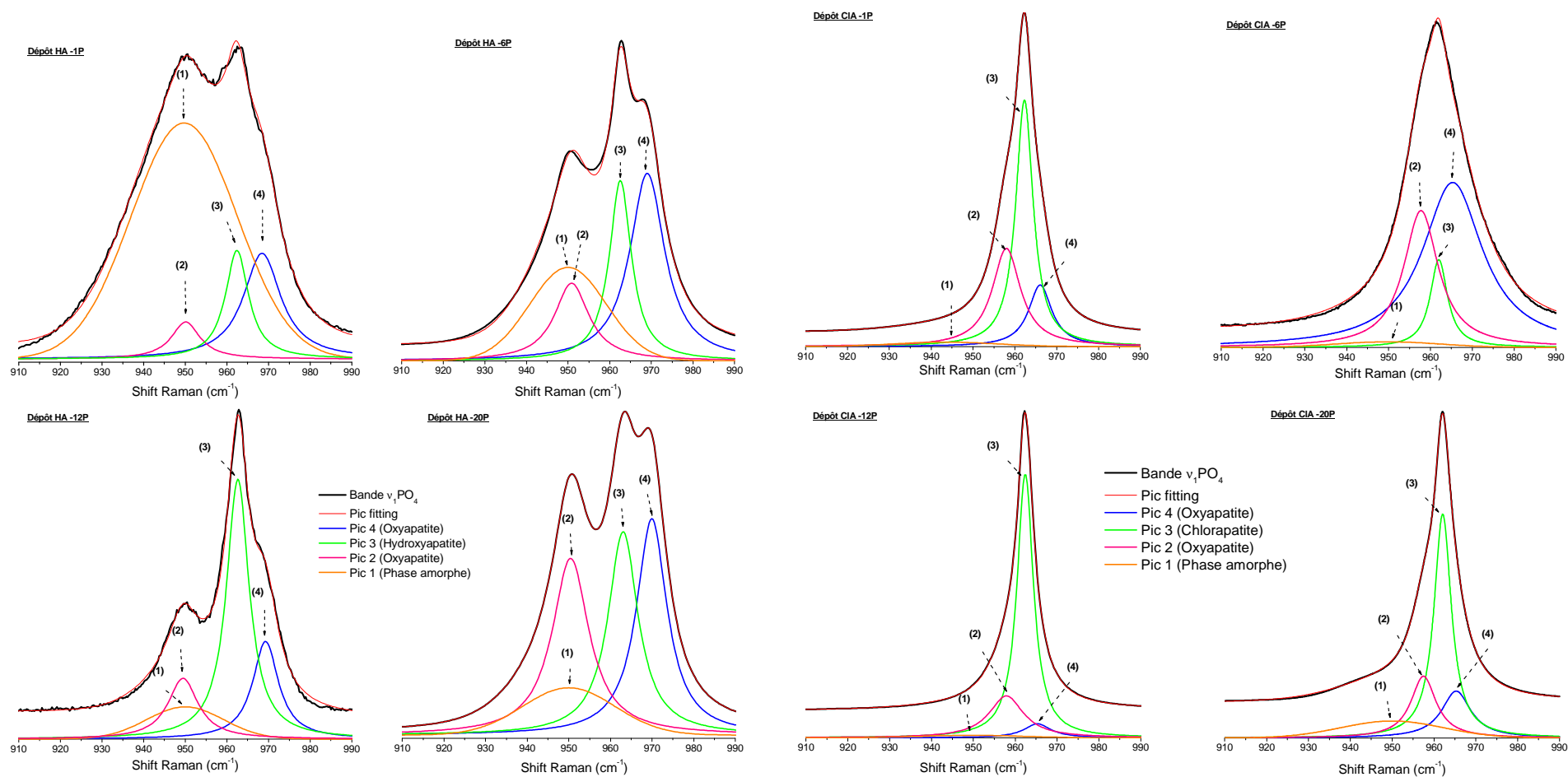


Figure 3.12 : Décomposition de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ ($910\text{-}990\text{ cm}^{-1}$) des dépôts de HA et de CIA en fonction du nombre de passages de la torche plasma

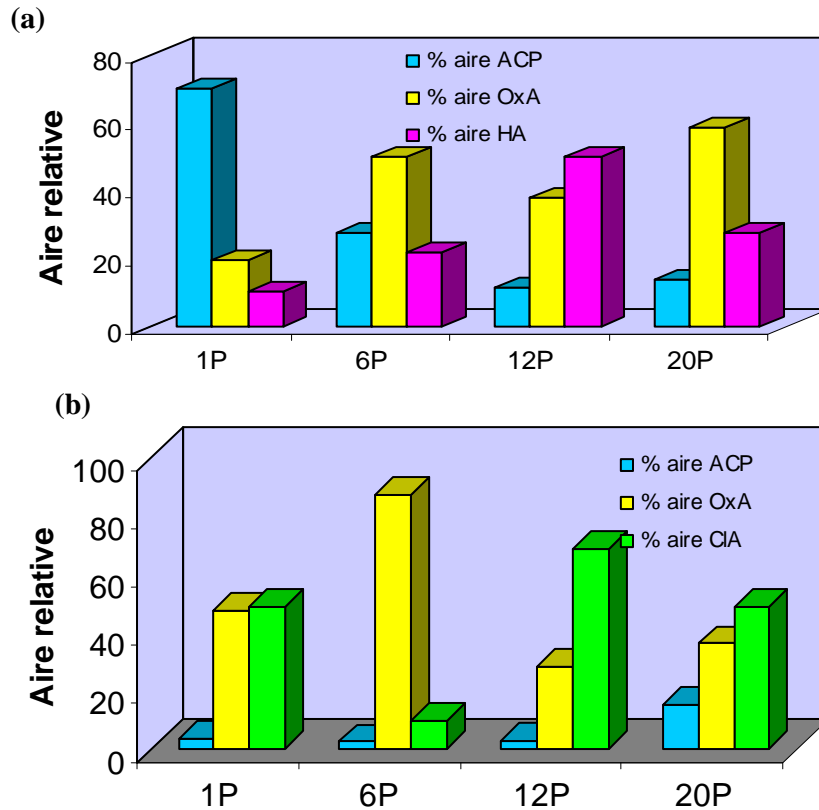


Figure 3.13 : Quantités relatives des différentes espèces calculées à partir du rapport des aires des pics de décomposition Raman pour les dépôts d'HA (a) et de CIA (b) en fonction du nombre de passages de la mini-torche plasma

Analyse de l'hétérogénéité de la surface des dépôts

La micro-spectroscopie Raman est une méthode spectroscopique vibrationnelle qui permet d'avoir des informations à l'échelle locale sur la microstructure des dépôts plasma étudiés. L'observation par la caméra du micro-spectroscopie (Figure 3.14) confirme l'inhomogénéité de la surface des dépôts déjà signalée par l'observation de la surface par MEB. Les particules projetées ont pris différentes formes suivant leur état de fusion ainsi que la surface du substrat sur lequel elles sont déposées. Les grains sont sous forme de lamelles de différentes tailles (1 à 50 μm) selon leur état de fusion. On trouve des grains fondus (complètement ou partiellement), recristallisés ou non fondus. L'étude de l'hétérogénéité des dépôts d'HA et de CIA par micro-spectroscopie Raman contribuera probablement à la compréhension des phénomènes se produisant lors de l'impact et de la solidification des particules d'apatite projetées.

La méthodologie d'analyse adoptée consiste à effectuer plusieurs acquisitions sur quelques formes présentes à la surface du dépôt. Sur le dépôt d'HA 12P, nous avons repéré quatre formes majoritaires : (a) un grain d'environ 45 μm de diamètre : il s'agit probablement d'une gouttelette complètement écrasée sur la surface (« splat ») ; (b) un petit grain d'un diamètre de 5 μm environ : c'est une particule qui s'est fragmentée en plusieurs petits grains (fleur). La forme (c) concerne une particule non-fondue de 30 μm de diamètre. En dernier, la zone (d) est la partie sombre de l'image.

Dans la littérature, ce dernier type de zone est souvent attribué à la présence de phosphate de calcium amorphe (Bhadang and Gross 2004a). Le dépôt de CIA 12P semble dominé par les particules recristallisées de petites tailles (1 à 3 μm) similaires à la forme (b) avec la présence de quelques grains non fondus (c).

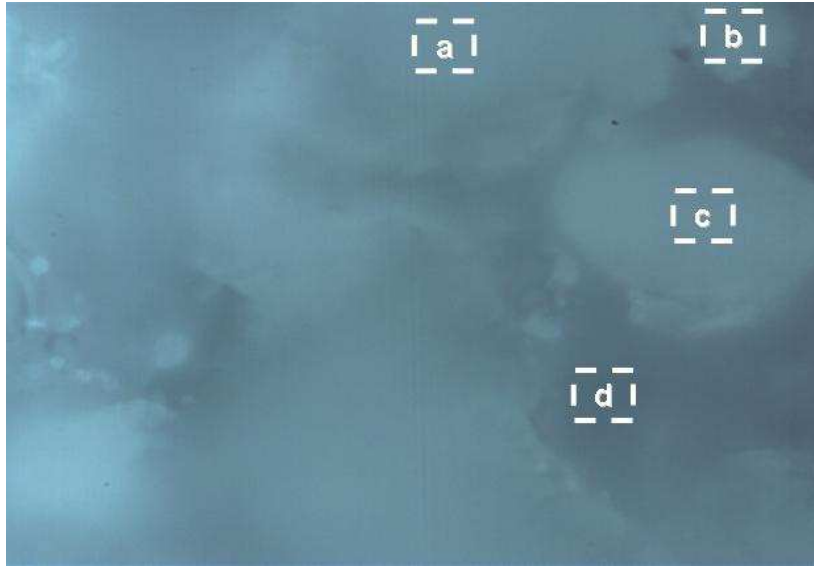


Figure 3.14 : Image prise par la caméra du micro-spectroscopie Raman de la surface d'un dépôt d'HA obtenu après 12 passages de la mini-torche plasma

1) *Hétérogénéité du dépôt HA-12P*

Les spectres de diffusion Raman des dépôts d'HA 12P analysés dans les zones précédemment citées mettent en évidence la présence de bandes de vibration de groupements phosphate (Figure 3.15). Cependant, nous nous intéressons particulièrement à la bande $\nu_1\text{PO}_4$ qui semble la plus affectée par la microstructure de la zone analysée. La décomposition de cette bande dans le domaine $910\text{-}990\text{ cm}^{-1}$ selon le modèle présenté précédemment (cf. Figure 3.12) fait apparaître des pics spécifiques à $966\text{-}969$, $950\text{-}951$ et $961\text{-}963\text{ cm}^{-1}$ ainsi qu'une bande large à $945\text{-}950\text{ cm}^{-1}$. L'attribution et l'allure des pics issus de la décomposition mathématique des bandes pour les zones étudiées sont indiqués sur la Figure 3.16. On remarque que les aires relatives au pic de la phase amorphe et aux pics de l'oxyapatite varient considérablement suivant la zone analysée. L'examen de la Figure 3.17 permet de noter que :

- La zone « a » contient un très faible taux d'amorphe. Habituellement, cette forme de grain écrasé est composée essentiellement de phase amorphe due à la trempe rapide après contact avec le substrat. Cependant, dans notre cas, il s'agit de la couche supérieure d'un dépôt obtenu après 12 passages de la mini-torche plasma. Dans ce cas, le temps de refroidissement est plus lent et le grain pourrait avoir eu le temps de recristalliser totalement ou partiellement.

- Les zones « b » et « d » contiennent un taux élevé de phase amorphe. Elles ont pratiquement les mêmes compositions en oxyapatite et en hydroxyapatite.

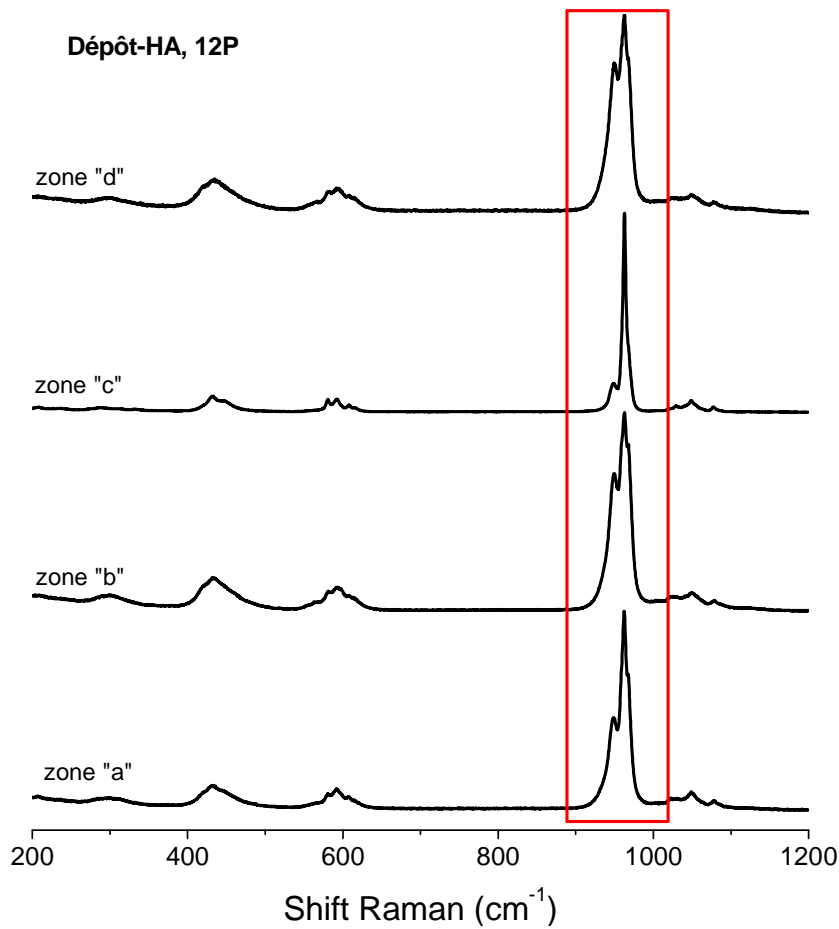


Figure 3.15 : Spectres Raman des zones a, b, c et d identifiées à la surface du dépôt d'HA 12P (cf. image présentée sur la Figure 3.14)

- La zone « c » paraît très différente. La décomposition de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ correspondant à cette zone montre qu'elle est composée majoritairement d'HA. La Figure 3.17 montre que l'aire relative au pic correspondant à l'ACP est inférieure à 10 %, celle correspondant à l'oxyapatite est inférieure à 30 %. Il est très probable que cette particule n'ait pas fondu et que seule sa couche supérieure contienne de l'ACP et de l'oxyapatite.

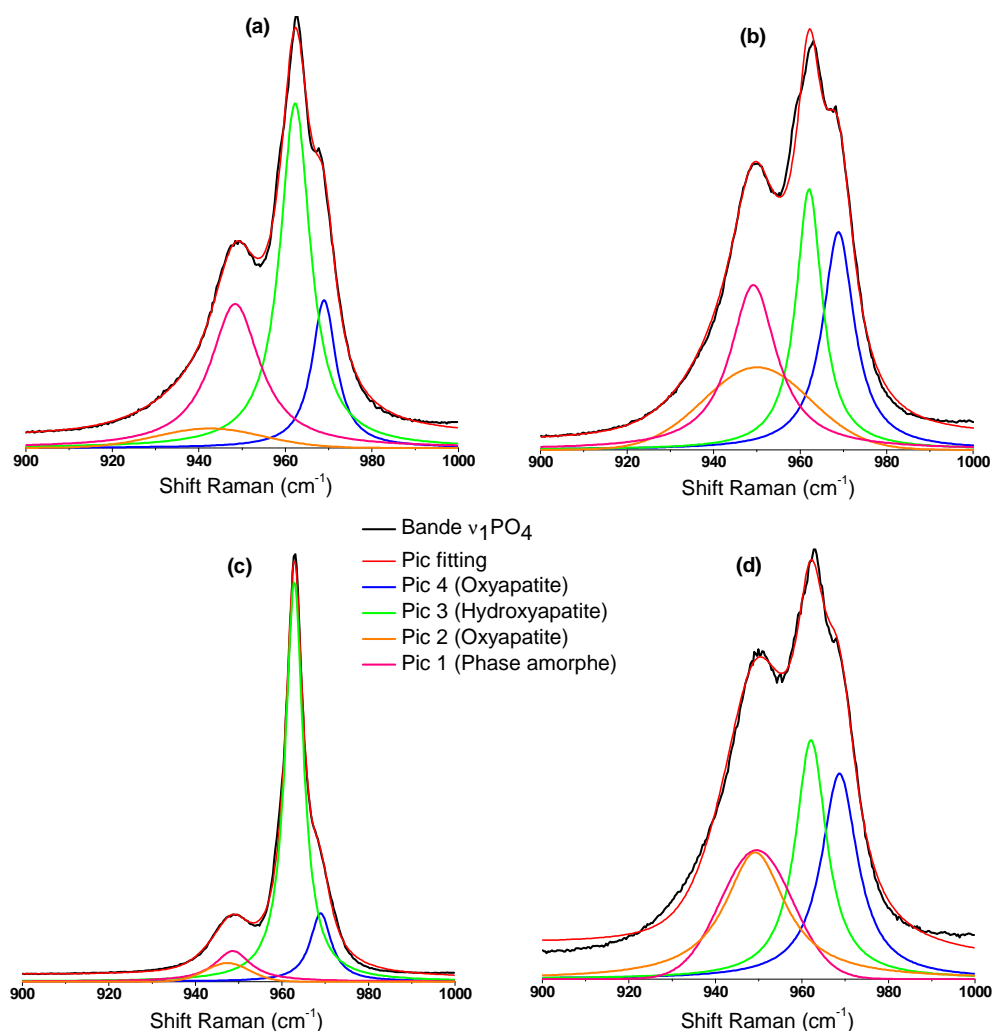


Figure 3.16 : Décomposition de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ du spectre Raman des quatre zones (a, b, c et d) identifiées à la surface de dépôts d'HA 12P (cf. Figures 3.14 et 3.15)

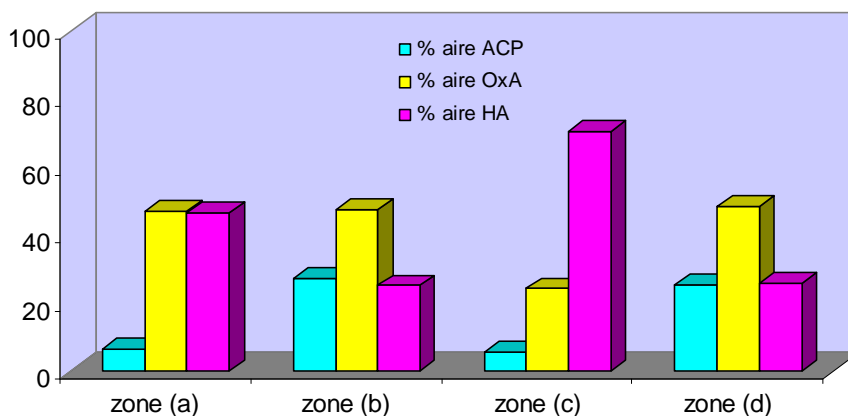


Figure 3.17 : Quantités relatives des différentes espèces calculées à partir du rapport des aires des pics issus de la décomposition de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ du spectre Raman des quatre zones (a, b, c et d) identifiées à la surface de dépôts d'HA 12P

2) *Hétérogénéité du dépôt CIA-12P*

Comme nous l'avons déjà signalé, la surface des dépôts de chlorapatite est moins rugueuse que celle de l'hydroxyapatite. Pour cette raison, l'analyse de l'inhomogénéité de la surface du dépôt CIA-12P concerne deux zones uniquement. Nous avons remarqué la présence majoritaire de petites particules recristallisées de 1 à 3 μm ainsi que de particules ayant l'aspect de grains non ou partiellement fondus. Ces zones sont référencées respectivement « b » et « c » en raison de leur analogie avec les morphologies rencontrées sur les zones « b » et « c » du dépôt HA-12P.

L'analyse par micro-spectroscopie Raman réalisée sur les deux zones identifiées à la surface de l'échantillon présente des modes de vibration typiques d'une chlorapatite stoechiométrique (Figure 3.18). Les bandes dans les domaines 430-450, 570-629 et 1020-1080 cm^{-1} correspondent respectivement aux modes $\nu_2\text{PO}_4$, $\nu_4\text{PO}_4$ et $\nu_3\text{PO}_4$ des groupements phosphate de l'apatite. La bande la plus intense à 963 cm^{-1} correspond à la bande $\nu_1\text{PO}_4$. La décomposition de cette bande suivant le modèle utilisé pour les dépôts d'HA révèle la présence d'un très faible taux de phase amorphe ainsi que d'une phase oxyapatite (Figure 3.19). La phase oxyapatite s'est probablement formée au cours de la projection. La chlorapatite pourrait éventuellement réagir soit avec une molécule d'eau ou d'oxygène pour donner lieu à une oxyapatite ou une solution solide oxy-chlorapatite. L'hypothèse de la présence d'une solution solide oxy-chlorapatite est confortée par le déplacement de la position du pic relatif à l'oxyapatite observé à 951 cm^{-1} dans le cas d'un dépôt d'HA et à 957 cm^{-1} pour les dépôts de CIA.

D'après les Figures 3.19 et 3.20, nous pouvons confirmer que la zone « b » du dépôt CIA-12P correspond effectivement à une gouttelette recristallisée tandis que la zone « c » est attribuée à un grain non ou partiellement fondu.

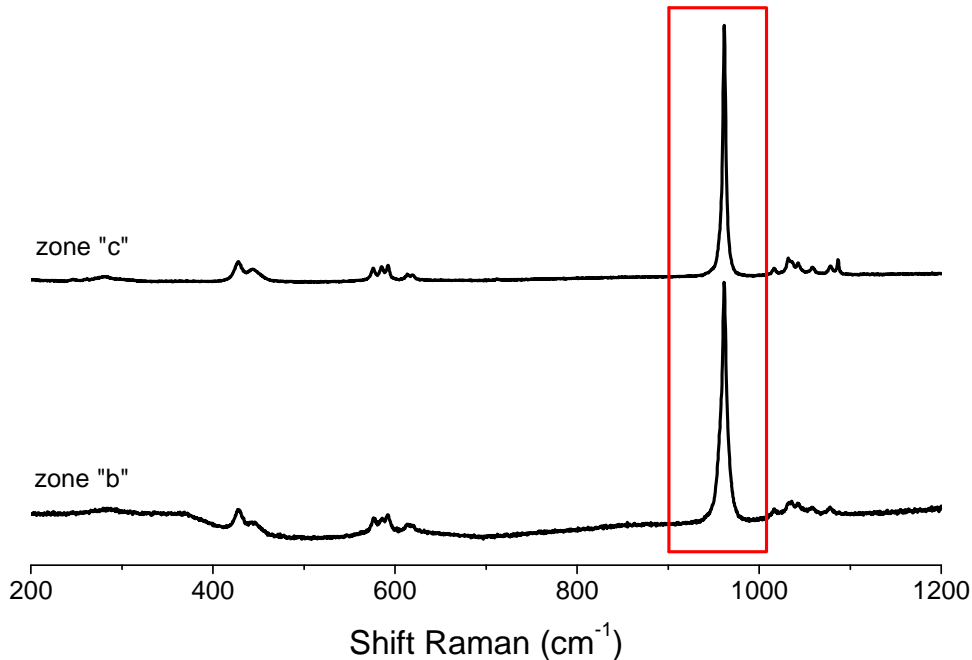


Figure 3.18 : Spectres Raman des zones b et c identifiées à la surface du dépôt de CIA-12P (zones similaires aux zones b et c identifiées sur la Figure 3.14 pour le dépôt d'HA-12P)

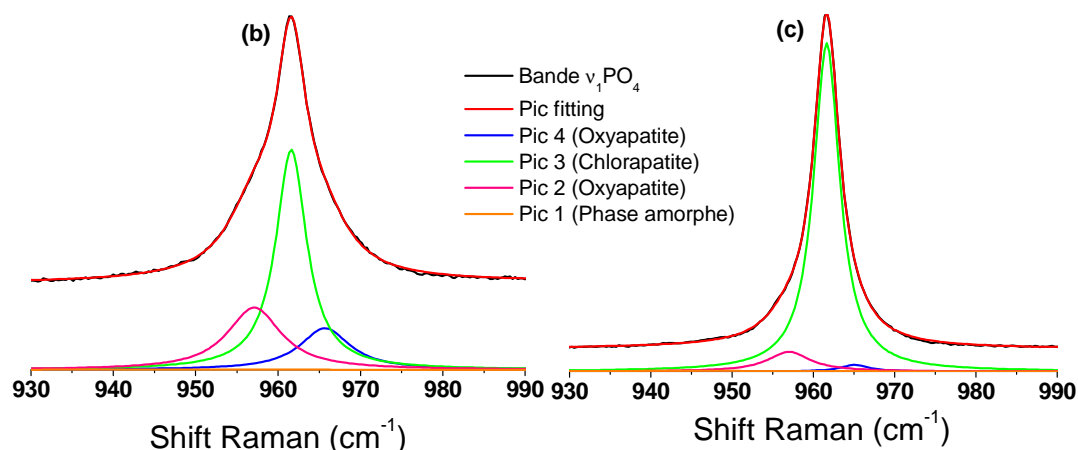


Figure 3.19 : Décomposition de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ ($910\text{-}990\text{ cm}^{-1}$) du spectre Raman des zones b et c identifiées à la surface de dépôts de CIA 12P

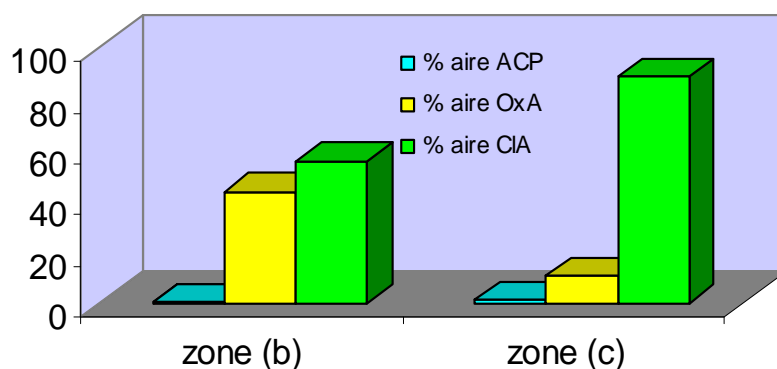


Figure 3.20 : Quantités relatives des différentes espèces calculées à partir du rapport des aires des pics issus de la décomposition de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ du spectre Raman des zones b et c identifiées à la surface de dépôts de CIA 12P

III-4. Conclusion

Les analyses physico-chimiques réalisées sur l'ensemble des dépôts d'apatites obtenus à l'aide de la mini-torche plasma basse énergie (MTBE) a révélé un rapport atomique Ca/P égal à celui d'une apatite stoechiométrique ainsi qu'un très bon rapport de cristallinité et sans aucun produit de décomposition (TCP, TTCP, CaO). Ces résultats montrent que les différents paramètres intervenant au cours de la projection par la MTBE ont pu être optimisés en vue d'obtenir des dépôts bien cristallisés et exempts de phases étrangères issues de la décomposition.

Nous avons également constaté que d'une manière générale, la chlorapatite avait un meilleur comportement thermique que l'hydroxyapatite : le taux de phase amorphe dans le dépôt est plus faible dans le cas de la CIA. On a également observé la formation d'une faible proportion d'oxyapatite, en solution solide, probablement formée lors de la projection plasma.

La micro-spectroscopie Raman facilite l'accès à des informations très localisées sur la structure lamellaire de la surface des dépôts. Les observations par cette technique montrent la présence

d'une phase oxyapatite dans les différents dépôts étudiés y compris dans les dépôts de chlorapatite. L'analyse des dépôts a révélé une meilleure homogénéité de composition des dépôts de CIA avec un très faible taux de phase amorphe. Nous avons pu constater que les phases amorphe et oxyapatite pouvaient se trouver en grandes quantités à l'interface dépôt/substrat (analyse du dépôt après 1 seul passage de la mini-torche), ce qui pourrait fragiliser le dépôt et provoquer sa dissolution rapide après implantation. Nous nous proposons dans le paragraphe suivant d'examiner ces deux phases en particulier à l'interface dépôt/substrat.

IV. ETUDE DE L'INTERFACE DEPOT/SUBSTRAT

Après avoir étudié la surface des substrats dans le paragraphe précédent, nous nous sommes attachés à caractériser ensuite l'interface dépôt/substrat car la création d'un dépôt sur la surface va générer une interface qui constitue généralement la zone de faiblesse pour l'implant. La difficulté réside dans la caractérisation et la détermination de la position et de la nature de l'interface. Car, si l'interface os/apatite conditionne le caractère bioactif du dépôt, l'interface métal/dépôt conditionne, quant à elle, ses propriétés mécaniques en traction. L'état de l'interface entre le métal et l'apatite est lié aux conditions de projection (Yang and Chang 2001) et au pré-sablage du substrat. Ce traitement crée des infractuosités dans lesquelles viennent se loger les particules d'apatites plus au moins fondues. L'accrochage mécanique se fait probablement lors du retrait au cours du refroidissement. L'examen de la jonction substrat/revêtement a été réalisé sur des coupes perpendiculaires au plan de l'interface (coupe transverse).

IV-1. Préparation et observation des échantillons

Les échantillons ont été tronçonnés au moyen d'un disque diamanté (Struer) puis enrobés dans une résine époxy, avant un polissage minutieux (Figure 3.21). Afin de ne pas altérer la microstructure des dépôts, en créant une fissuration interfaciale, par exemple, les papiers abrasifs grossiers ne sont pas utilisés. En effet, les échantillons sont polis manuellement au moyen de disques abrasifs en carbure de silicium de grade 1200 et 2400, puis 4000 pour un effet poli miroir. Ils ont été observés par la suite par microscope binoculaire (Figures 3.22 et 3.23).

Les coupes transversales d'HA-12P et de CIA-12P présentent différentes structures lamellaires. Il s'agit pour nous ici d'un système modèle d'hétérogénéité qui va nous permettre de développer la méthodologie relative à l'analyse des dépôts plasma par cartographie Raman.



Figure 3.21: Tronçonneuse et coupes transverses des échantillons étudiés

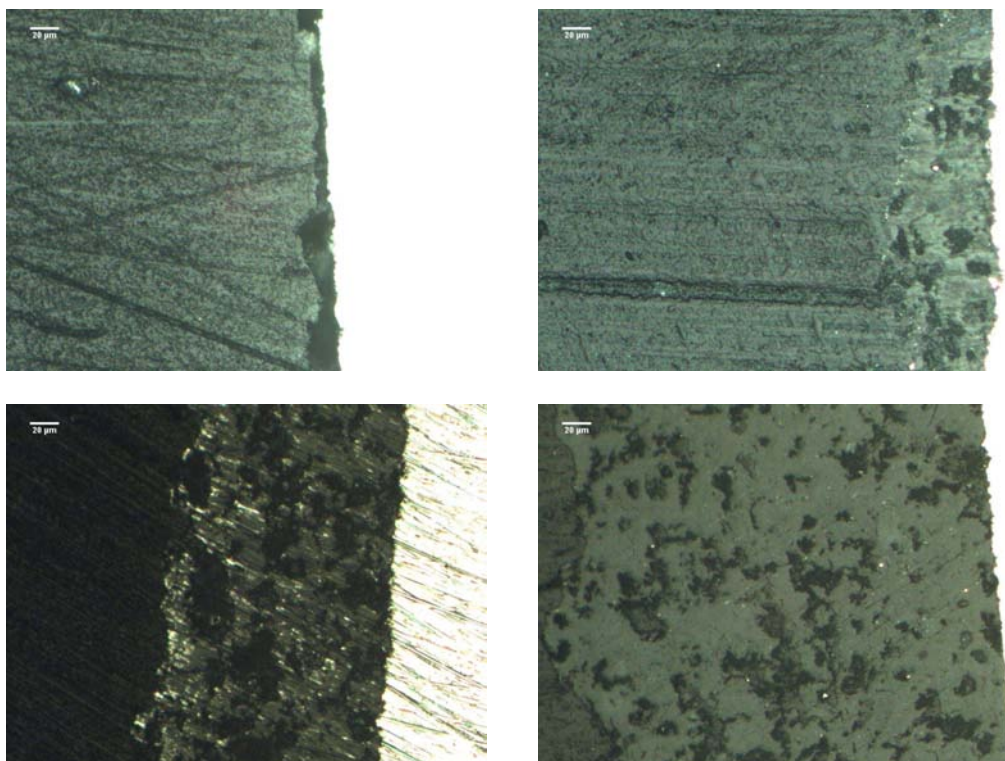


Figure 3.22 : Images microscopiques des coupes transverses des dépôts d'HA obtenus respectivement après 1, 6, 12 et 20 passages de la mini-torche plasma

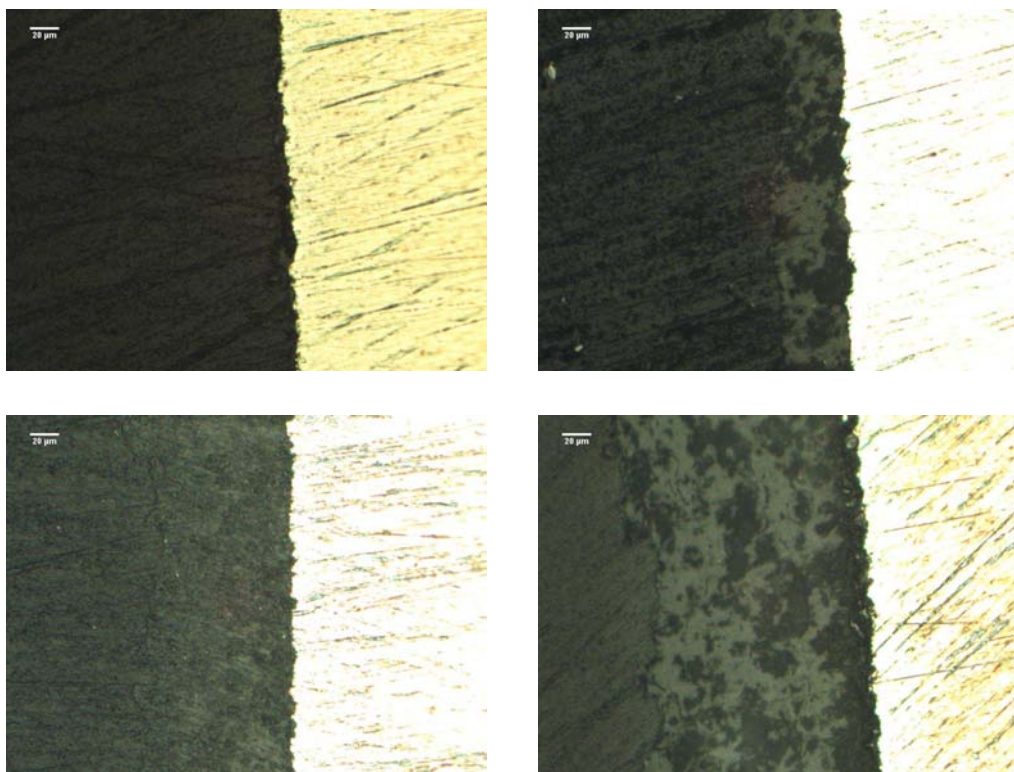


Figure 3.23 : Images microscopiques des coupes transverses des dépôts de CIA obtenus respectivement après 1, 6, 12 et 20 passages de la mini-torche plasma

IV-2. Observations par microscopie électronique à balayage

L'examen de la jonction céramique/métal par microscopie électronique à balayage (MEB), a été réalisé sur des coupes perpendiculaires au plan de l'interface (*Annexe 1*). Les micrographies des coupes HA-12P et CIA-12P sont reportées respectivement sur les Figures 3.24 et 3.25.

D'autre part, l'observation de coupes transverses effectuées sur le dépôt d'HA 12P montre un contact intime entre le substrat métallique et le dépôt céramique d'HA. Les images révèlent une structure lamellaire caractéristique des revêtements obtenus par projection plasma. Les tâches sombres apparaissant sur les dépôts sont attribuables à la présence de pores. Il est très probable que les pores dont le diamètre est égal ou supérieur à 10 µm aient été formés lors du polissage suite au départ de particules non fondues « pullout particles » (Gross and Kovalevskis 1996).

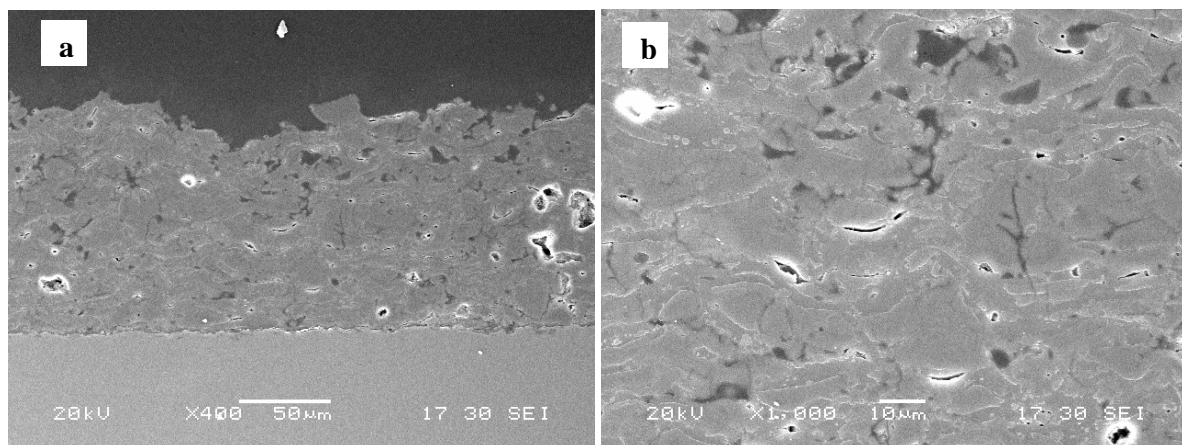


Figure 3.24 : Clichés MEB d'une coupe transverse d'un dépôt HA – 12P

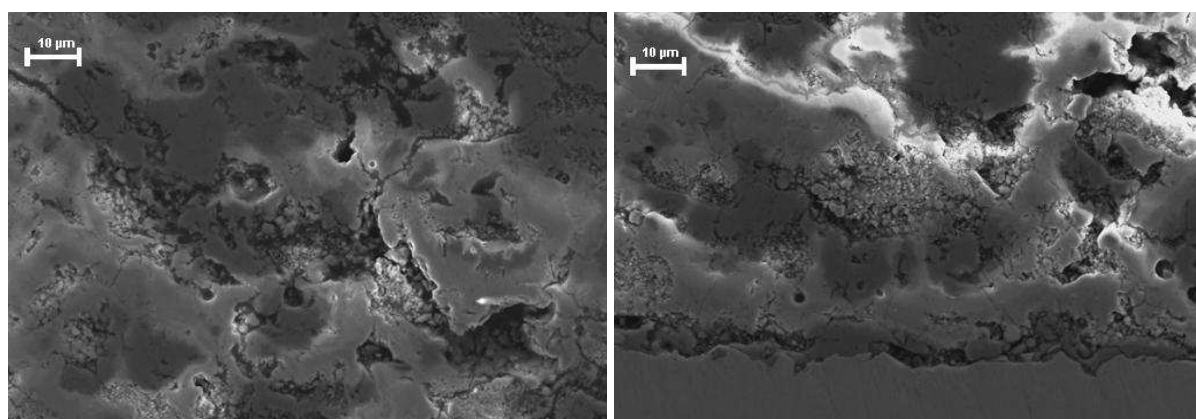


Figure 3.25 : Clichés MEB d'une coupe transverse d'un dépôt CIA – 12P

IV-3. Analyse par micro-spectroscopie Raman

IV-3-1. Principe de la micro-spectroscopie Raman

La micro-spectroscopie Raman permet l'acquisition de spectres, en balayant une surface qui peut aller jusqu'à quelques mm², et d'établir une cartographie de cette zone avec une résolution spatiale micrométrique. Une zone d'intérêt est sélectionnée à la surface de l'échantillon, visualisée grâce à une caméra vidéo. La zone à analyser est ensuite divisée en petits domaines de taille définie. Le laser est alors focalisé sur le premier domaine et le spectre Raman correspondant est enregistré. L'échantillon étant monté sur une platine motorisée en XYZ, il est déplacé de façon à ce que le laser soit focalisé sur le deuxième domaine où l'acquisition d'un autre spectre Raman est ensuite lancée, et ainsi de suite. Il y a donc à la fin de l'analyse autant de spectres que de domaines individuels définis au début de l'analyse ; la durée de l'analyse dépend notamment de ce nombre de domaines.

IV-3-2. But de l'étude

L'objectif de cette étude est de coupler des données qualitatives et semi-quantitatives obtenues par micro-spectroscopie Raman pour caractériser plus finement et avec une bonne résolution spatiale la surface de dépôts d'HA et de CIA. Pour chaque type de dépôts, d'une part, nous disposons de l'analyse qualitative (spectre Raman) des domaines analysés avec une bonne résolution spatiale grâce à la cartographie établie par micro-spectroscopie Raman et d'autre part, nous allons décomposer la bande $\nu_1\text{PO}_4$ des spectres Raman sur chaque domaine analysé pour obtenir des données semi-quantitatives (proportion des phases) sur chaque domaine du dépôt analysé. Le couplage de ces deux types de données (cartographie et décomposition de la bande $\nu_1\text{PO}_4$) qui demande de traiter un grand volume de données, nous permettra d'identifier et de « quantifier » relativement les phases constituants chaque type de dépôts et de reconstituer ainsi la surface analysée en fonction de la proportion (aire, largeur à mi-hauteur) des pics et de la phase recherchée (phase amorphe, oxyapatite ou hydroxyapatite/chlorapatite).

Les analyses ont été effectuées à l'aide d'un spectromètre Horiba Jobin-Yvon HR 800 (Figure 3.26) (voir *Annexe I*), doté d'un objectif X50 longue distance et d'une caméra vidéo. Nos expériences ont été menées avec une source laser à argon ionisé (632,8 nm) et un réseau à 1800 traits/mm pour une meilleure résolution.



Figure 3.26 : Micro-spectromètre Raman, Horiba Jobin-Yvon - CIRIMAT

Nous avons choisi d'effectuer des cartographies avec une résolution de 1 μm . Différentes méthodes de décomposition peuvent être utilisées : toutes ont pour principe de décomposer manuellement un à un l'ensemble des spectres individuels puis de les reconstruire à partir de données relatives aux pics résultants de la décomposition (aire, largeur à mi-hauteur). En général, ces traitements permettent de mettre en évidence les hétérogénéités de composition avec une bonne sensibilité. Différentes approches existent. Cependant, nous avons ici appliqué une méthode de décomposition simple, disponible sur le logiciel d'acquisition LabSpec version 5. Cette méthode consiste à

sélectionner la bande à analyser ($\nu_1\text{PO}_4$: $930 - 990 \text{ cm}^{-1}$) sur la fenêtre qui gère l'ensemble des spectres enregistrés. Par la suite, on introduit le nombre de pics qui composent la bande $\nu_1\text{PO}_4$ ainsi que leurs positions puis on lance le programme d'itérations. Dans la fenêtre contenant les consignes relatives aux pics de décomposition, on peut indiquer selon quelle donnée et quel pic on cherche à effectuer une cartographie (aire du pic de la phase amorphe par exemple). Après la fin des itérations, trois fenêtres apparaissent (Figure 3.27). La première contient l'ensemble des spectres enregistrés. La deuxième fenêtre est une image 2D représentant une cartographie selon le pic sélectionné. En déplaçant le curseur sur l'image, la troisième fenêtre affiche le spectre correspondant à la position du curseur ainsi que le résultat de la décomposition et les positions des pics en ce point du dépôt.

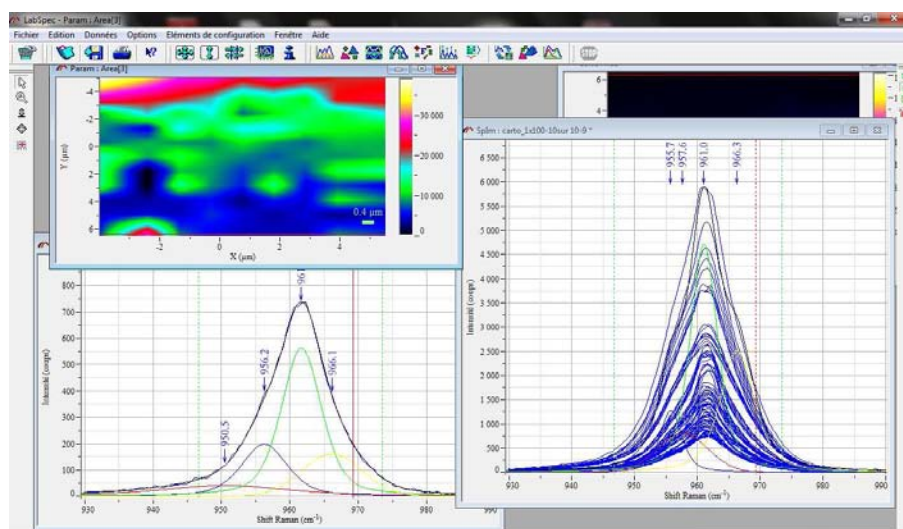


Figure 3.27 : Image de la fenêtre de résultats affichés par le logiciel LabSpec V5 après traitement des spectres Raman (décomposition et cartographie)

IV-3-3. Résultats de l'analyse qualitative et semi-quantitative par micro-spectroscopie Raman

Dépôt HA 12P

Nous avons effectué la cartographie sur une surface de $22 \mu\text{m} \times 130 \mu\text{m}$ avec une résolution de $1 \mu\text{m}$. La Figure 3.28 présente la zone de l'échantillon, pour laquelle une cartographie a été effectuée. Notons que le titane se trouve en bas de l'image, idem pour toute les cartographies.

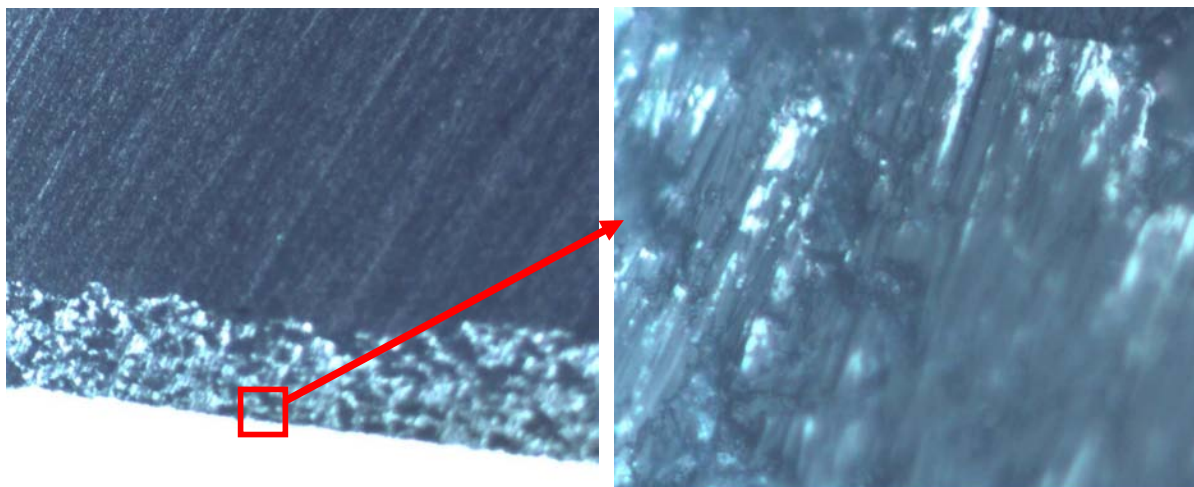


Figure 3.28 : Image obtenue par la caméra du microscope Raman de la surface cartographiée du dépôt HA – 12P

Nous avons choisi d'analyser une surface qui commence dès l'interface dépôt/substrat. Aucune différence ne peut être mise en évidence par simple comparaison directe des spectres obtenus. Cependant, après décomposition de la bande $\nu_1\text{PO}_4$, nous avons cartographié la surface analysée dans un premier temps suivant l'aire du pic de la phase amorphe (Figure 3.29).

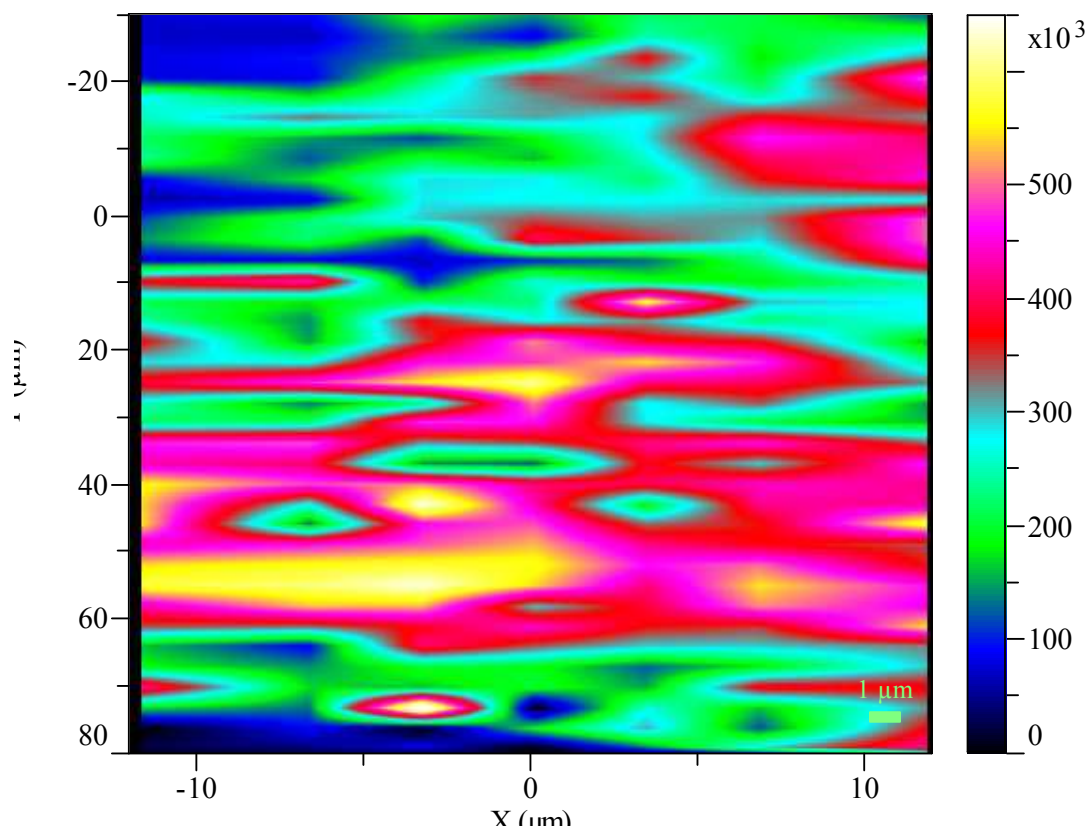


Figure 3.29: Cartographie selon l'aire de la phase amorphe sur toute la zone cartographiée ($22 \mu\text{m} * 110 \mu\text{m}$) d'un dépôt HA-12P

La Figure 3.29 présente la cartographie en 2D qui traduit l'évolution de l'aire du pic de la phase amorphe sur l'ensemble de la surface analysée. L'examen global de cette cartographie montre l'hétérogénéité de distribution de cette phase qui reste à un taux relativement important sur l'ensemble du dépôt. La texture lamellaire du dépôt est également « visible » sur cette cartographie ; elle confirme les observations déjà faites par MEB. L'évolution de la proportion en phase amorphe représentée par les différentes couleurs montre des grains avec un bord contenant une forte proportion de phase amorphe et un coeur bien cristallisé (Figure 3.30). Des observations similaires ont été reportés par Heimann (Heimann 2006) et concernent des grains qui ont fondu partiellement en gardant un coeur apatitique et des bords fondus (amorphe). Cependant, le phénomène opposé est observé près de l'interface. Des grains de 6 à 12 μm qui ont un coeur avec une forte proportion de phase amorphe et des bords recristallisés (Figure 3.31). Ce type de grains peuvent se former probablement lors du balayage par la mini-torche qui apporte de l'énergie au grain et le fait fondre. La recristallisation de celui-ci commence alors de l'extérieur vers l'intérieur. Nous avons également effectué une cartographie sur la même surface que la Figure 3.31, mais suivant le pic de l'hydroxyapatite (Figure 3.32). Cette figure confirme que le dépôt est composé majoritairement de phase amorphe. On observe également 3 grains ayant un coeur composé d'hydroxyapatite, tandis que la proportion en cette phase diminue progressivement en allant vers l'extrémité. Cette observation est cohérente avec les résultats tirés de la Figure 3.30 ainsi qu'avec les travaux publiés par d'autres auteurs (Gross *et al.* 1998a; Heimann 2006).

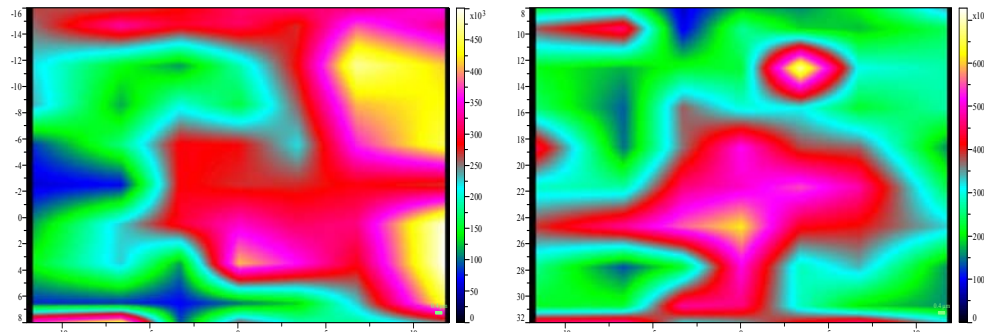


Figure 3.30: Zooms de la cartographie de la figure 3.29 effectuée sur deux zones de 22 μm * 22 μm d'un dépôt HA-12P

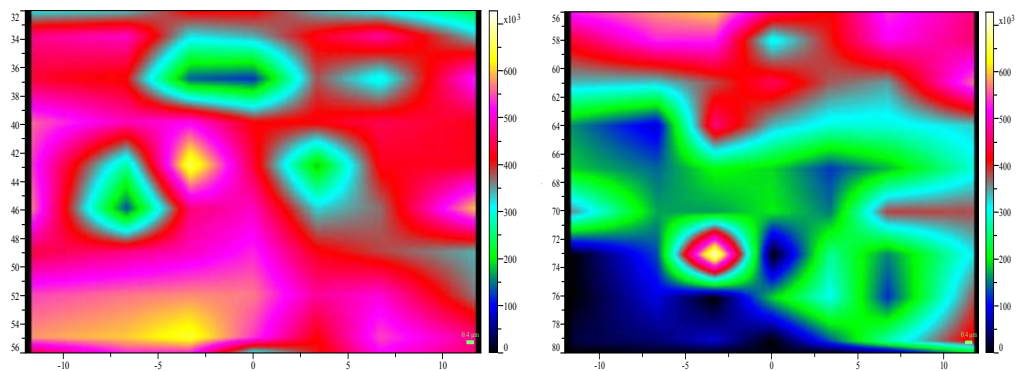


Figure 3.31 : de la cartographie de la figure 3.29 effectuée sur deux zones de 22 μm * 22 μm d'un dépôt HA-12P proches de l'interface dépôt/substrat

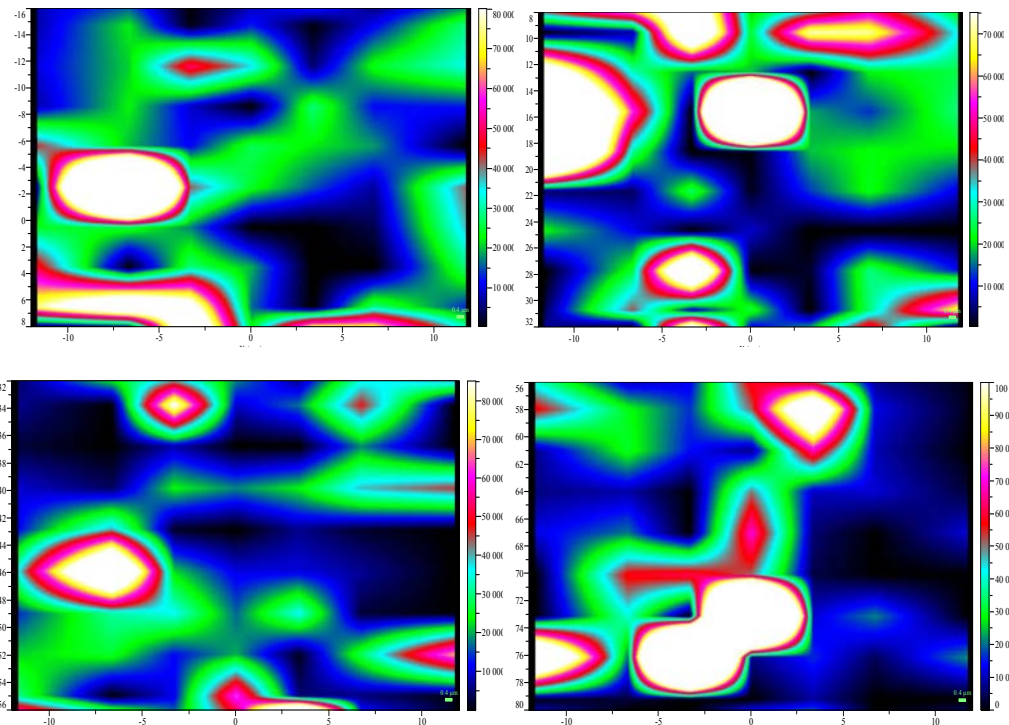


Figure 3.32 : Cartographies selon l'aire de l'hydroxyapatite sur différentes zones de 22 μm *22 μm d'un dépôt HA-12P

Dépôt CIA 12P

La Figure 3.33 présente la zone cartographiée d'un dépôt de CIA 12P selon l'aire de la phase amorphe. L'observation de cette figure montre une structure lamellaire composée essentiellement de couches dont l'état de cristallinité augmente au fur et à mesure qu'on s'éloigne de l'interface. Il faut également signaler un fort taux de grains recristallisés. Cette observation rejoint les observations des micrographies MEB de la surface d'un dépôt de CIA 12P. Il s'agit de grains de 1 à plusieurs microns, qui étaient probablement à l'état liquide et qui ont recristallisé suite à la trempe. Compte tenu de la faible proportion de phase amorphe dans les dépôts de chlorapatite, on peut considérer que la recristallisation à partir de la phase liquide serait plus rapide.

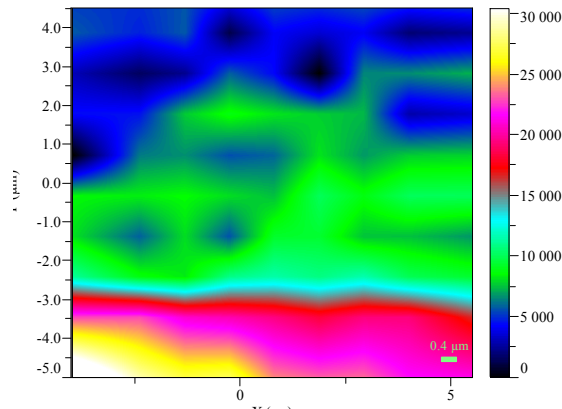


Figure 3.33 : Cartographie Raman selon l'aire de la phase amorphe sur une zone de 9.5 μm *9.5 μm d'un dépôt CIA-12P

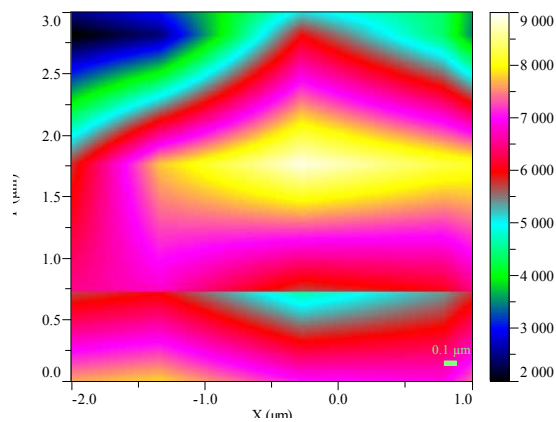


Figure 3.34 : Agrandissement d'un grain présent dans la cartographie de la figure 3.33 d'un dépôt CIA-12P

V. ETUDE DE L'ADHERENCE MECANIQUE DES DEPOTS

Une fois placé dans le corps, un implant est soumis à des sollicitations mécaniques diverses susceptibles d'arracher le dépôt, par exemple lors de frottements avec le tissu osseux lors de la mise en place de la prothèse ou bien une fois qu'elle est implantée et que le patient reprend une activité. L'implant est également soumis à la réactivité chimique des fluides biologiques ainsi qu'à l'activité cellulaire. Il est donc important de tester la tenue mécanique et le caractère protecteur des revêtements déposés.

En effet, la liaison dépôt/substrat peut être de différentes natures : accrochage mécanique, liaison chimique, adsorption physique, forces électrostatiques...

La mesure de l'adhérence consiste donc à déterminer la force minimale qui doit être appliquée pour provoquer la rupture de ces liaisons. Dans ce paragraphe, deux techniques de mesure de l'adhérence mécanique des dépôts sont décrites et ont été utilisées : la première concerne les dépôts épais et la deuxième les dépôts fins.

V-1. Mesure de l'adhésion/cohésion des dépôts plasma

V-1-1. Condition de la réalisation des essais

L'adhérence des revêtements effectués par torche plasma sur un substrat métallique en titane est qualifiée en mesurant la contrainte à la rupture du système revêtement/substrat sous l'effet d'une force perpendiculaire à l'interface (ASTM C633, ISO 13779-4). La résistance à la rupture (σ_R) en mégapascals (MPa) est déterminée par la formule suivante :

$$\sigma_R = \frac{F}{S} \quad (4)$$

La force nécessaire à la rupture de l'interface substrat-dépôt (F) (en N) permet, connaissant l'aire de contact du dépôt avec le substrat (S) (en mm²) d'accéder à l'adhérence selon l'équation (4). Le schéma de principe du test d'adhérence est donné sur la Figure 3.35. Deux éprouvettes de traction (diamètre = 25 mm) sont collées de part et d'autre de l'échantillon revêtu.

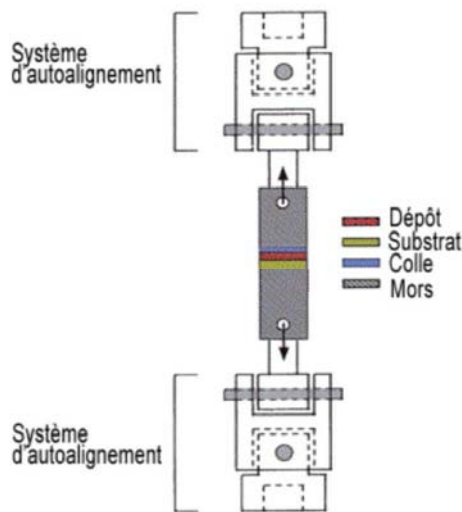


Figure 3.35 : Dispositif de mesure de l'adhérence revêtement/substrat (ASTM C633-01)

Ce test relatif à la détermination de l'adhérence en traction de revêtements phosphocalciques pour applications biomédicales est normé (ASTM C633-01). Cependant, il présente des limitations attribuables principalement au collage des éprouvettes et à leur alignement : dans le cas des dépôts poreux, une diffusion excessive de la colle dans le dépôt vers le substrat peut induire des résultats surestimés alors qu'un mauvais alignement introduira une composante de contrainte de cisaillement abaissant la valeur. Ce procédé permet de mesurer uniquement des valeurs d'adhérence intermédiaire car la résistance limitée des colles utilisées (inférieure à 80 MPa) conduit à des ruptures colle-substrat ou colle-dépôt et non une rupture à l'interface que l'on

souhaite caractériser. Il n'existe pas encore de norme associée à cette méthode pour mesurer l'adhérence des dépôts fins en effet des problèmes liés à la diffusion de la colle perturbent fortement les interprétations des résultats.

Les substrats utilisés sont sous forme de disques de diamètre 25 mm en accord avec la norme ASTM C633-01. Les mesures sont réalisées sans précharge et avec une vitesse de traction de 1 mm/min. Nous avons utilisé une colle spéciale référencée « FM1000 » qui s'applique à chaud ($200\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) pendant 90 à 100 minutes. Les mesures ont été réalisées uniquement sur les dépôts d'HA et de CIA obtenus après 12 passages de la mini-torche plasma.

V-1-2. Résultats

Les résultats de la résistance à la rupture des dépôts d'HA et de CIA sont présentés sur la Figure 3.36. Chaque valeur constitue une moyenne de 6 mesures sur 6 échantillons du même type.

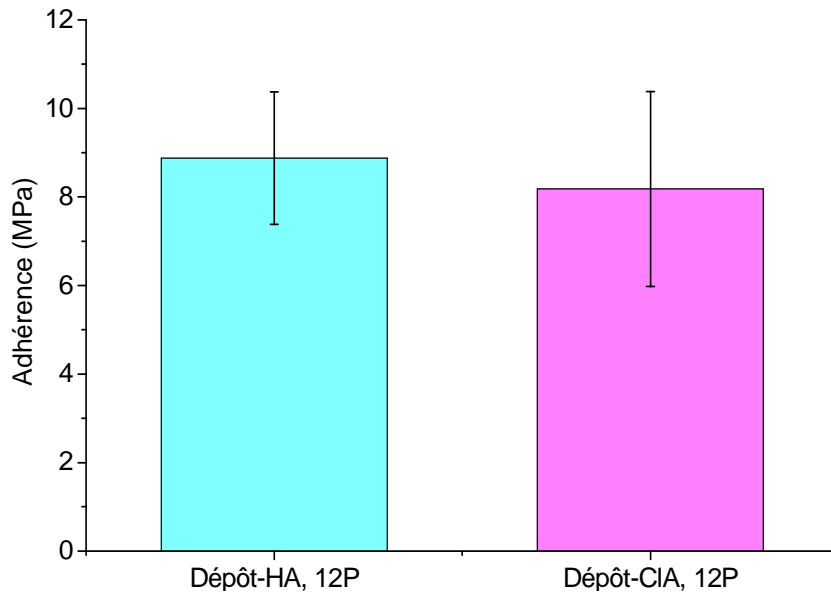


Figure 3.36 : Résistance à la rupture en traction des dépôts d'HA et de CIA obtenus après 12 passages de la mini-torche de projection plasma

Les dépôts réalisés avec la poudre CIA ont une tenue mécanique en traction égale à 8.2 ± 2.2 MPa ; elle est équivalente à celle des dépôts d'HA 8.9 ± 1.5 MPa.

En général, les dépôts apatitiques peuvent avoir une rupture cohésive et/ou une rupture adhésive. La rupture est cohésive si elle se produit à l'interface dépôt/substrat, tandis qu'elle est adhésive si elle se produit au niveau de l'interface entre la colle et le dépôt. Les dépôts d'HA présentent des ruptures principalement cohésives (4 éprouvettes sur 6). Les dépôts de CIA donnent, quant à eux, des profils de rupture mixte, avec environ 80 % de surface cohésive.

Cette méthode n'est pas applicable à des revêtements ayant des épaisseurs inférieures à 0.38 mm (Jacota Popescu 2008). Dans le but de trouver un moyen de comparaison de l'adhérence pour les

revêtements fins, nous allons comparer ces résultats à ceux que nous avons obtenus sur les mêmes échantillons mais par la méthode du scratch test.

V-2. Mesure de l'adhérence des dépôts par micro-rayure (scratch-test)

L'essai de rayure (*scratch-test*) est couramment utilisé pour évaluer quantitativement l'adhérence des revêtements fins. Il consiste à enfoncer un stylet dans la surface d'un dépôt (Figure 3.37). Ce stylet est déplacé le long d'une distance (d), sous la charge d'une force (L). Cette charge augmente progressivement, jusqu'à la valeur qui détache le dépôt du substrat. On appelle charge critique (L_c) la charge qui correspond au début du détachement du dépôt. La charge critique caractérise l'adhérence. Le résultat du test est exprimé en unité de force. Le principe de l'essai et les paramètres requis pour la mesure de l'adhérence des dépôts étudiés sont présentés dans l'*Annexe I*.

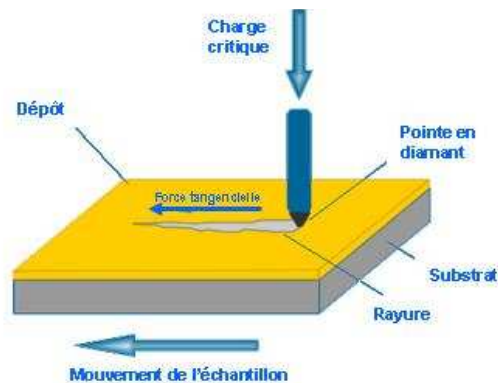


Figure 3.37 : Représentation schématique du principe du scratch test (exemple d'une rayure)

Sur une même rayure, plusieurs types d'endommagements peuvent se succéder (écaillage, fissure, craquelure...) selon la nature du dépôt et du substrat. Les différents modes d'endommagement des revêtements ont été répertoriés par Bull (Bull 2006). Dans le cas des revêtements par mini-torche plasma, la charge critique (L_c) a été définie comme étant la charge provoquant l'enlèvement de la totalité du dépôt et l'apparition du substrat comme on peut le voir sur la Figure 3.38.

Trois moyens sont disponibles pour déterminer cette charge critique :

- l'évolution du coefficient de frottement entre la pointe et l'échantillon peut, dans certains cas, permettre de déterminer le moment où le stylet atteint l'interface dépôt/substrat.
- l'évolution de l'émission acoustique peut permettre de détecter la fissuration ou encore l'arrachage.
- le moyen le plus fiable reste l'observation par microscopie optique et électronique qui permet de détecter précisément à quel niveau l'endommagement considéré est initié.

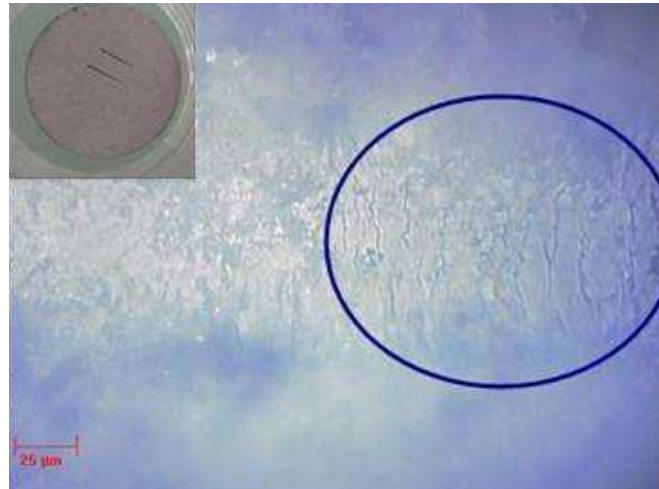


Figure 3.38 : Photographies d'un dépôt HA-12P rayé (méthode utilisée pour évaluer la charge critique)

Trois rayures ont été effectuées par échantillon. Toutes les charges critiques qui seront données par la suite sont donc une moyenne des trois charges critiques correspondantes déterminées par microscope optique couplée au logiciel d'analyse « Scratch 3.76 ». Une observation au microscope électronique à balayage est effectuée par la suite pour avoir une meilleure visibilité de la rayure (Figure 3.39).

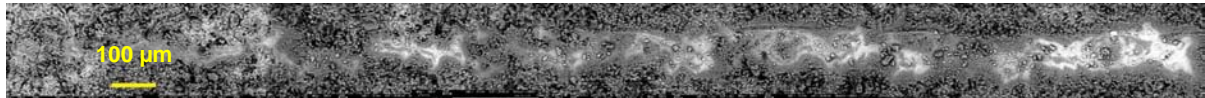


Figure 3.39 : Observation par MEB d'une rayure sur un dépôt HA 12P

Résultats

Des essais de rayure ont été effectués sur les dépôts d'HA et de CIA obtenus après 1, 6 et 12 passages de la mini-torche plasma. Quelle que soit la nature du dépôt ou le nombre de passages, les observations MEB montrent qu'il n'y a pas d'écaillage ni de fissure du dépôt en bord de rayure. Le dépôt disparaît progressivement jusqu'à apparition du substrat.

La Figure 3.40 présente les charges critiques mesurées pour les échantillons d'HA et de CIA. Nous constatons que la charge critique évolue avec l'épaisseur du dépôt. D'autre part, les dépôts de CIA ont des charges critiques très proches de celles des dépôts d'HA. Ceci, par comparaison, atteste, de leur bonne adhérence.

Nous avons pu mettre en place un protocole de mesure de l'adhérence des dépôts fins par la technique du scratch test. Celui-ci n'est pas encore utilisé pour les dépôts obtenus par torche plasma. Cependant, il a été mentionné et utilisé dans des travaux traitant des revêtements fins d'HA par des procédés de recouvrement à basse température (Cleries *et al.* 2000; Wang *et al.* 2004; Roy 2008).

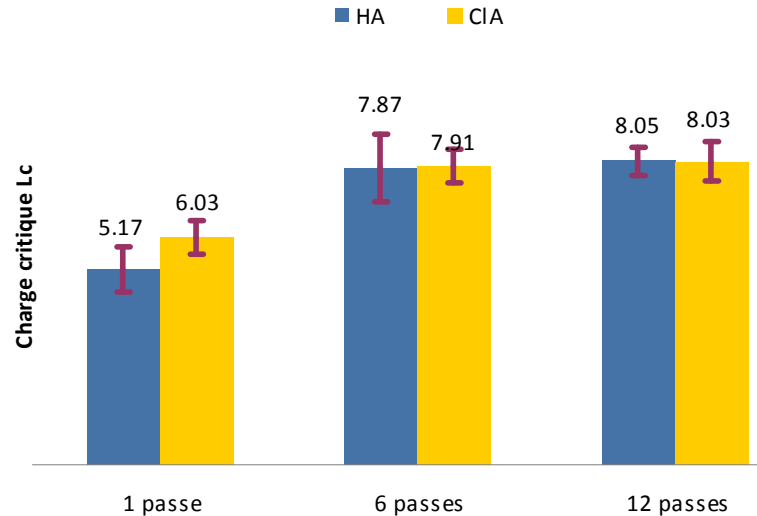


Figure 3.40 : Charge critique (en Newton) mesurée pour les dépôts d'HA et de CIA obtenus après 1, 6 et 12 passages de la mini-torche plasma

L'évolution de cette charge critique est représentative de l'évolution de l'adhérence du dépôt sur son substrat et il est intéressant de chercher à établir une corrélation entre le test du collage (norme ASTM C633) et le scratch test. Laugier (Laugier 1981) et Rickerby (Bull and Rickerby 1990; Chalker *et al.* 1991) ont proposé une relation entre l'énergie d'adhérence et la charge critique mesurée. Cependant, ces relations font intervenir d'importantes hypothèses et ne sont pas directement applicables au mode de dégradation que nous observons.

Le scratch test demeure une excellente technique comparative relativement facile à mettre en oeuvre, fréquemment employée industriellement pour qualifier un revêtement au cours d'un procédé de fabrication industriel.

VI. ETUDE DE LA BIOACTIVITE DES REVETEMENTS

L'ostéoconductivité est toujours associée *in-vivo* à la formation d'une apatite néoformée analogue à celle du minéral osseux à la surface de l'implant (Rey 1998; Hou *et al.* 2007; Eichert *et al.* 2008; Rey *et al.* 2009). Plusieurs études ont montré qu'il s'agit d'une apatite carbonatée (Hench 1998; Rey 1998; Cazalbou *et al.* 2004). Les dépôts d'hydroxyapatite élaborés par projection plasma ont cependant une faible réactivité de surface. Certains travaux ont montré qu'il était possible d'accroître la bioactivité des implants en déposant au préalable une couche d'apatite nanocristalline carbonatée (Autefage *et al.* 2009). Dans le cadre de ces travaux de thèse, il serait intéressant également de tester l'ostéoconductivité de la chlorapatite qui contrairement à l'hydroxyapatite n'est pas encore utilisée comme un biomatériau.

Le but de cette étude est de mieux appréhender la formation et l'évolution de la phase précipitée à la surface des dépôts étudiés. Nous avons choisi de tester *in vitro* ces revêtements d'apatites dans

un milieu où le pH et les concentrations en ions inorganiques sont proches de ceux des fluides biologiques en mettant en œuvre le test bien connu et normé utilisant une solution SBF (Simulated Body Fluid) (Kokubo 1998). Il s'agit d'une solution simulant le plasma sanguin et ne contenant que des ions inorganiques. C'est donc un milieu acellulaire et aprotéique. Nous l'avons préparé suivant la norme ISO 23317 (2007) en apportant quelques améliorations au protocole de préparation (*Annexe I*).

Afin de mettre en évidence la formation de la couche d'apatite carbonatée néoformée après 4 semaines d'immersion des dépôts dans la solution SBF à 37°C, à la surface des dépôts, nous avons utilisé différentes méthodes d'analyse : la diffraction des rayons X (DRX), la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) et la microscopie électronique à balayage (MEB). Ces études ont été effectuées en triplicat sur des dépôts d'HA et de CIA obtenus après 1, 6, 12 ou 20 passages de la mini-torche.

VI-1. Caractérisation par diffraction des rayons X

L'examen par diffraction des rayons X du précipité néoformé sur la surface des revêtements de CIA et d'HA montre une phase précipitée très mal cristallisée, de structure apatitique (Figure 3.41). Il nous a semblé intéressant de calculer les dimensions des cristallites formés et de les comparer à celles de l'apatite dans l'os. La longueur des cristaux d'apatite est liée à la largeur à mi-hauteur de la raie 002 et leur largeur est proportionnelle à la largeur à mi-hauteur de la raie 310. L'application de la formule de Scherrer nous donne la dimension moyenne des cristallites.

Tableau 3.7 : Taille des cristallites des dépôts après immersion durant 4 semaines dans la solution SBF

	$L_{002} (\pm 5 \text{ \AA})$	$L_{310} (\pm 5 \text{ \AA})$	L_{002}/L_{310}
Dépôt-HA 1P	158	48	3.29
Dépôt-HA 6P	174	42	4.14
Dépôt-HA 12P	159	65	2.45
Dépôt-HA 20P	163	67	2.43
Dépôt-CIA 1P	168	57	2.95
Dépôt-CIA 6P	173	71	2.44
Dépôt-CIA 12P	164	66	2.48
Dépôt-CIA 20P	173	73	2.37
Os humain adulte*	213	68	3.13

* : valeur moyenne pour un os long (Ranz 1996)

Un premier examen des valeurs obtenues (Tableau 3.7) atteste que les tailles des cristallites formés à la surface des dépôts de chlorapatite sont très proches de celles correspondant aux cristallites des dépôts d'HA. En effet, on remarque que les cristaux formés au cours du test ont des dimensions nanométriques proches de celles de l'os. Ils correspondent d'avantage à des cristallites d'os jeune, pour lesquels la taille des cristaux est plus petite. Notons qu'il peut y avoir aussi une recristallisation en surface de la phase amorphe.

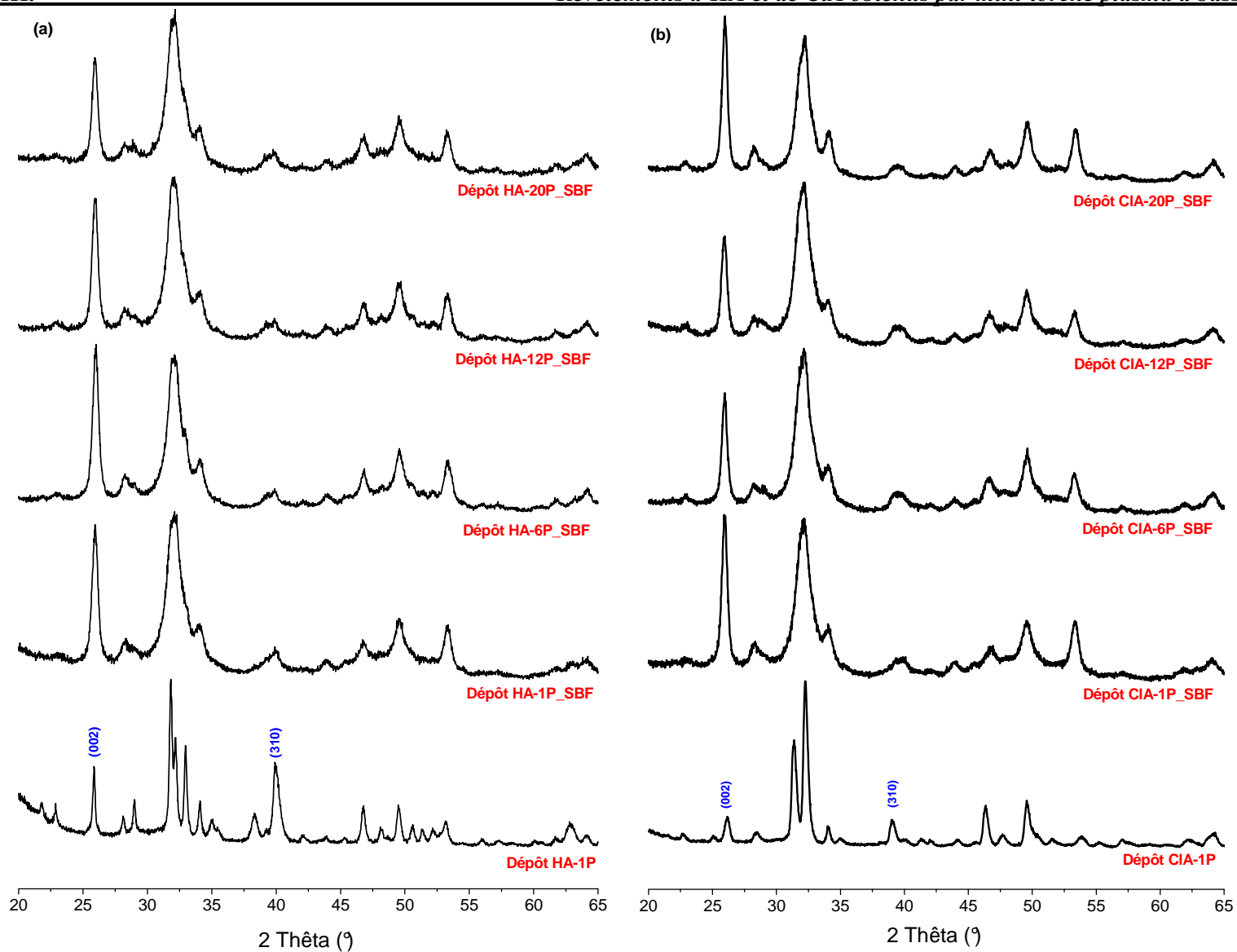


Figure 3.41: Diffractogrammes de rayons X des dépôts d'HA et de CIA après immersion dans le SBF pendant 4 semaines

VI-2. Caractérisation par spectroscopie infrarouge (FTIR)

Les dépôts d'HA et de CIA obtenus après différents nombres de passages de la MTBE ont été préalablement grattés en surface afin de récupérer majoritairement la couche d'apatite néoformée. Les spectres d'absorption infrarouge des poudres récupérées sont caractéristiques de celui d'une apatite carbonatée analogue au minéral osseux (Figure 3.42), en accord avec la basse cristallinité observée par DRX.

Les bandes dans les domaines $1150-1000\text{ cm}^{-1}$ et $650-550\text{ cm}^{-1}$ correspondent respectivement aux modes $\nu_3\text{PO}_4$ et $\nu_4\text{PO}_4$ des groupements phosphate situés dans les sites apatitiques. La bande à 961 cm^{-1} est attribuée au mode de vibration $\nu_1\text{PO}_4$. La bande large et intense dans le domaine $3400-3000\text{ cm}^{-1}$ témoigne de la présence d'eau adsorbée à la surface des cristaux ou éventuellement d'eau intracristalline (LeGeros *et al.* 1978).

De plus, on remarque la présence des bandes ν_3 et ν_2 des groupements carbonate dans les domaines $1500-1350\text{ cm}^{-1}$ et $900-850\text{ cm}^{-1}$ attestant de la présence de groupements carbonate dans ces apatites. Le premier domaine met en évidence deux bandes vers 1476 cm^{-1} et 1419 cm^{-1} caractéristiques des ions carbonates localisés dans les sites PO_4^{3-} (carbonate de type B) (Rey *et al.* 1989; Elliott 1994). La deuxième région spectrale fait apparaître une bande à 871 cm^{-1} attribuée aux vibrations des carbonates de type B, et un épaulement vers 879 cm^{-1} attribué aux carbonates qui occupent les sites monovalents de la structure apatitique (carbonate de type A) (Elliott 1994). Ces observations indiquent que la phase formée à la surface des dépôts après immersion dans le SBF est une apatite mal cristallisée carbonatée mixte de type AB.

Afin d'examiner plus finement les modifications des spectres FTIR des dépôts après leur immersion dans la solution SBF pendant 4 semaines à 37 °C , nous avons procédé à la décomposition des principales bandes d'absorption infrarouge des groupements phosphate entre 490 et 650 cm^{-1} ($\nu_4\text{PO}_4$) et carbonate $810-900\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_2\text{CO}_3$). Pour cela, nous avons opéré des traitements mathématiques de décomposition sur les régions spectrales sélectionnées en utilisant le logiciel GRAMS/AI version 8.0. Ces décompositions, conformément aux différents travaux effectués dans ce domaine (Rey *et al.* 1991a; Rey *et al.* 1991b), ont été réalisées en considérant une forme de bande lorentzienne pour chaque bande d'absorption infrarouge. Les attributions des bandes correspondant aux domaines $\nu_4\text{PO}_4$ et $\nu_2\text{CO}_3$ sont indiquées sur les spectres respectivement sur les Figures 3.43 et 3.44. Dans le domaine $\nu_4\text{PO}_4$, on note la présence de bandes spécifiques aux groupements HPO_4^{2-} et PO_4^{3-} non-apatitiques situées à 535 et 550 cm^{-1} . La décomposition dans le domaine $\nu_2\text{CO}_3$ fait apparaître, en plus des bandes spécifiques aux ions carbonate de type A et B, une bande large vers 866 cm^{-1} caractéristique des espèces carbonate labiles présentes à la surface d'apatites nanocristallines (Rey *et al.* 1989).

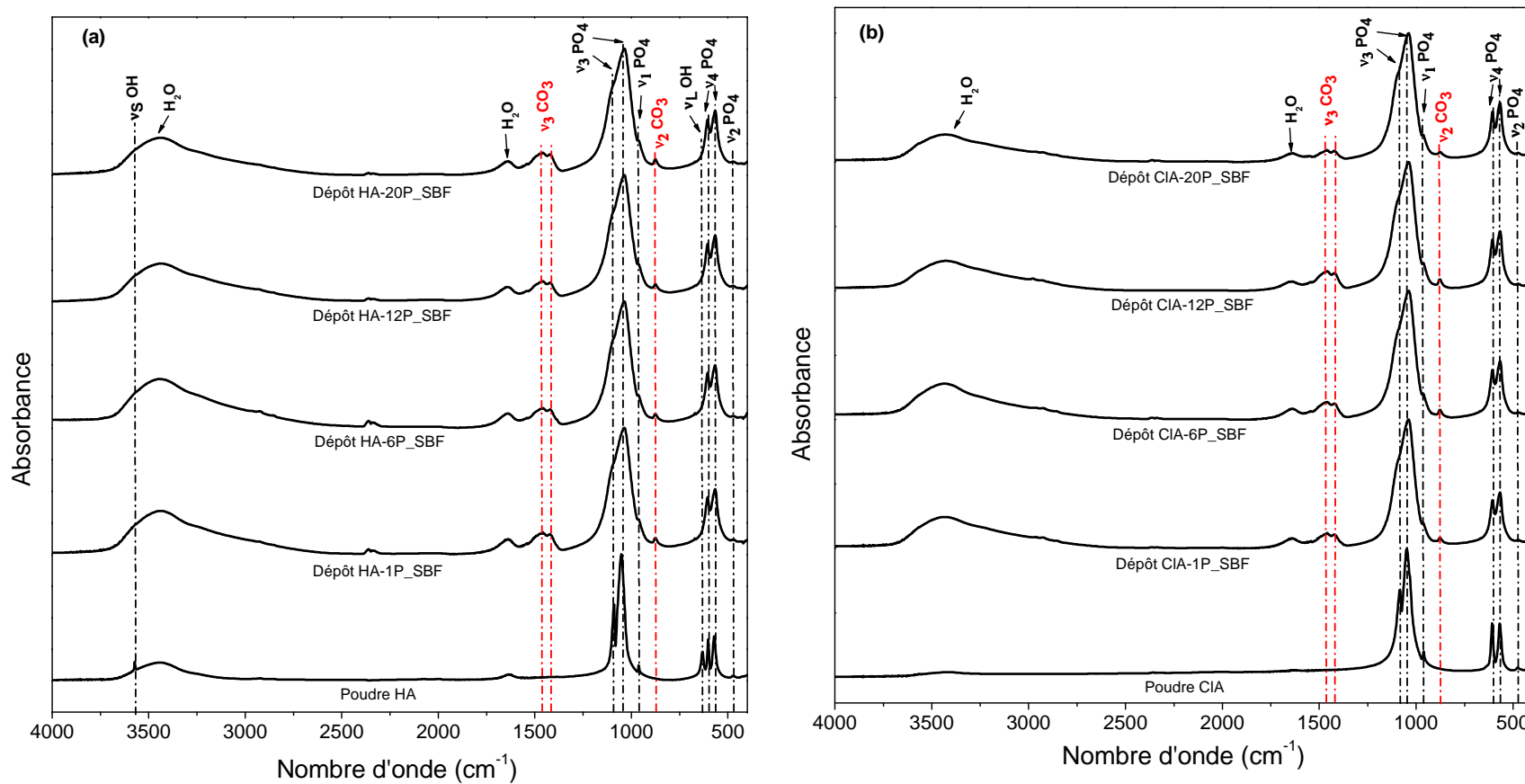


Figure 3.42 : Spectres d'absorption infrarouge de la poudre récupérée à la surface des dépôts d'HA et de CIA après immersion dans la solution SBF pendant 4 semaines

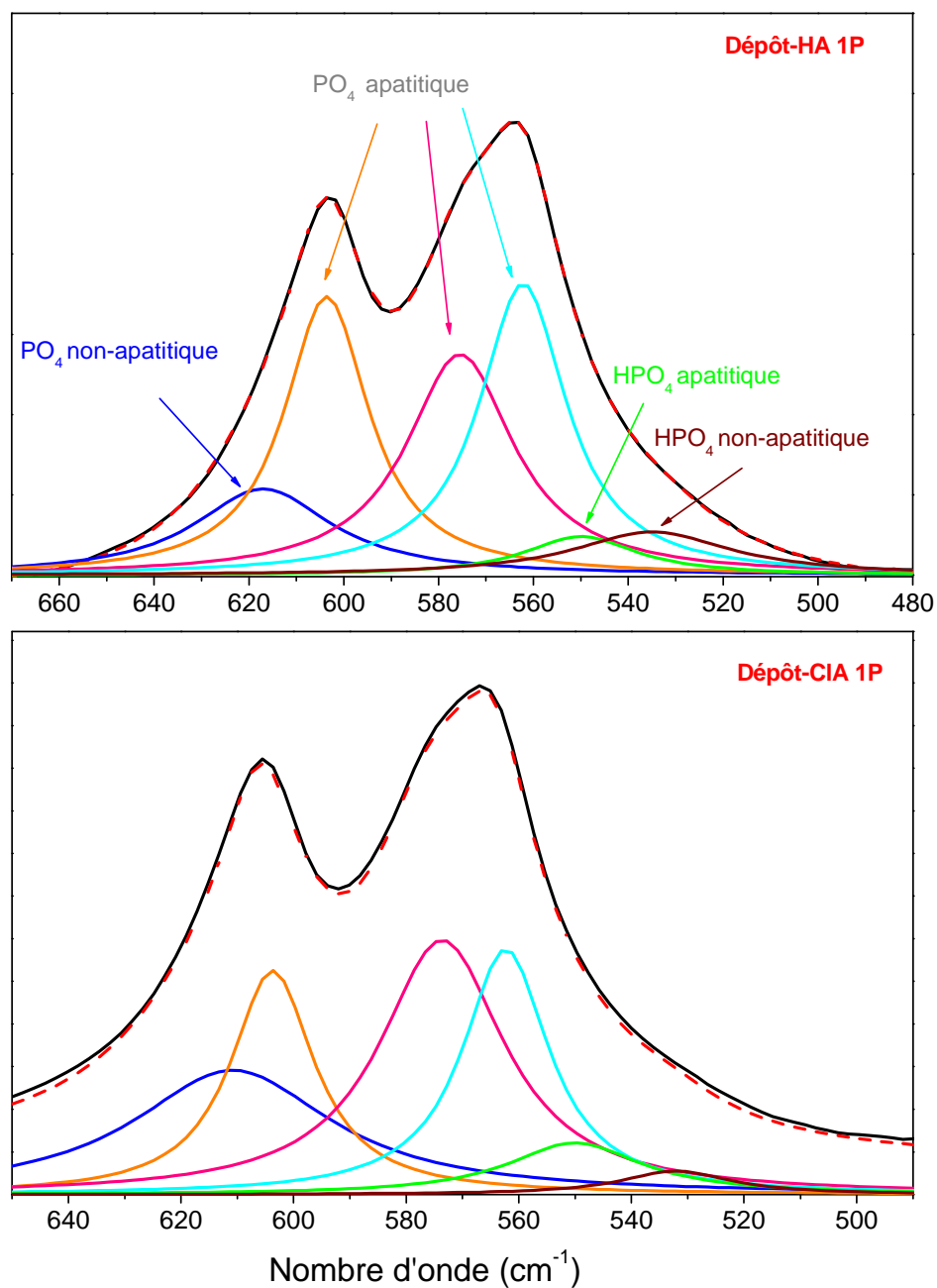


Figure 3.43 : Décomposition de la bande phosphate entre 490 et 650 cm⁻¹ de la poudre récupérée à la surface des dépôts d'HA et de CIA après leur immersion dans un milieu SBF pour une durée de 4 semaines

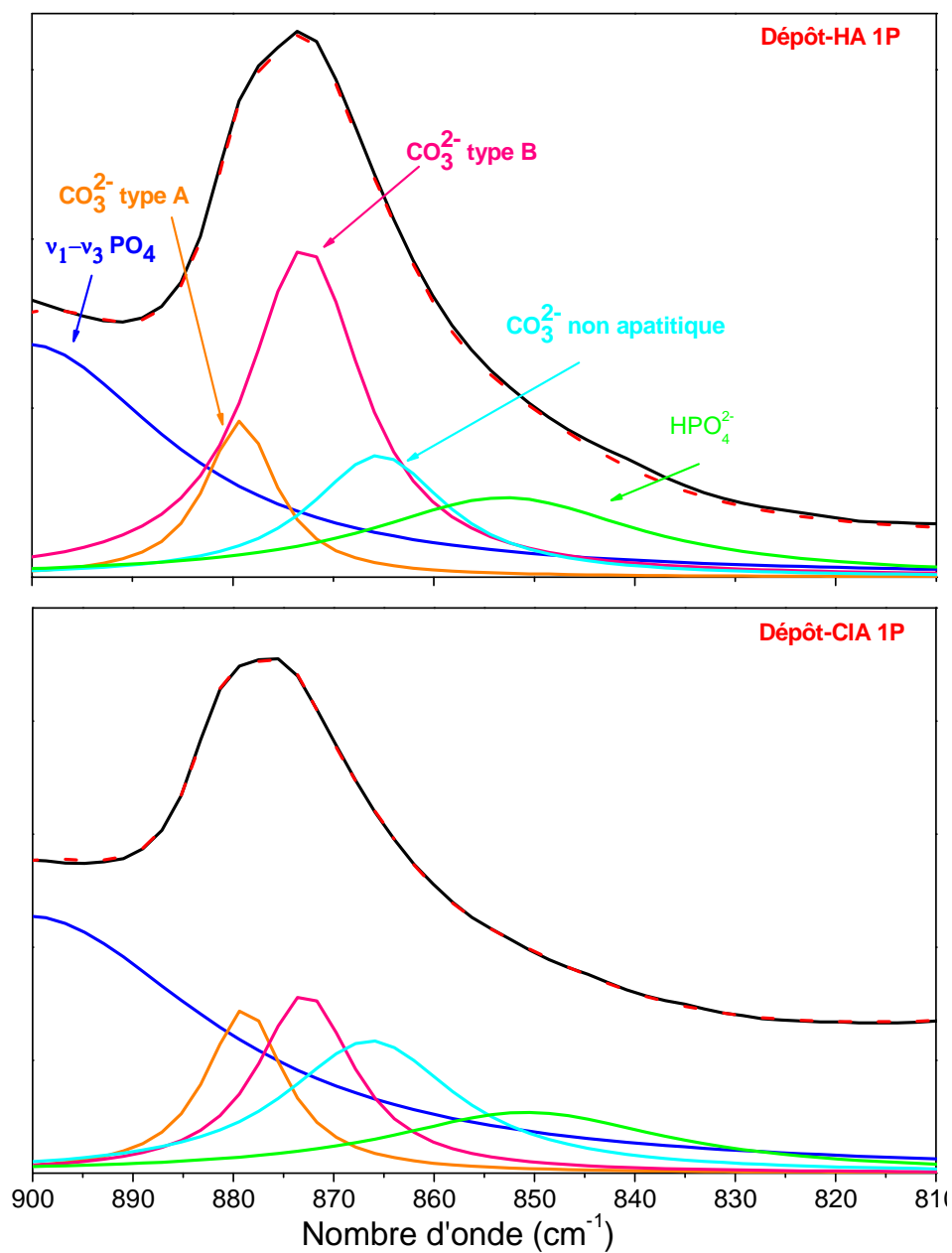


Figure 3.44 : Décomposition de la bande carbonate entre 810 et 900 cm^{-1} de la poudre récupérée à la surface des dépôts d'HA et de CIA après leur immersion dans un milieu SBF pour une durée de 4 semaines

VI-3. Observation par microscopie électronique à balayage

Les micrographies de la surface des échantillons recueillis après immersion dans la solution SBF durant 4 semaines sont regroupées sur les Figures 3.45 et 3.46. Nous constatons que la surface a été considérablement modifiée. En effet, nous observons la présence d'une couche neoformée constituée de particules sphériques liées entre elles. Celles-ci se composent de petites aiguilles de 0.5 à 4 μm de longueur. Cette morphologie observée est caractéristique de celle d'une apatite nanocristalline analogue au minéral osseux. Les observations sont les mêmes à la surface des dépôts à base de chlorapatite (Figure 3.46). Ces particules peuvent s'agglomérer pour former des colliers ou des plaquettes. Le recouvrement semble homogène et on retrouve des particules même à l'intérieur des pores. De plus ces grains semblent parfaitement adhérer au substrat. Ces observations rejoignent les résultats obtenus par analyse DRX et par spectroscopie FTIR et confirment donc la formation d'une couche d'apatite carbonatée à la surface des revêtements.

VI-4. Conclusion

Les tests *in vitro* réalisés au cours de ce travail de thèse permettent d'obtenir une couche composée de nanocristaux d'apatite carbonatée mal cristallisée à la surface des dépôts et ce quel que soit le type de dépôt (HA ou CIA). Ce phénomène atteste de la réactivité des dépôts d'apatites étudiés et suggère qu'on peut attendre une bonne capacité d'ostéoconduction des dépôts élaborés par mini-torche plasma à basse énergie. Ce premier test *in vitro* constitue une première étape pour évaluer la bioactivité notamment de la chlorapatite.

Cependant, dans le milieu biologique, qui est un système ouvert, le comportement des phosphates de calcium peut être différent et il faut rappeler que les interactions entre le matériau et le milieu vivant sont très complexes et nombreuses. Dans le paragraphe qui suit, on s'intéresse à la cinétique de dissolution *in vitro* des revêtements d'apatites dans une solution modèle à pH acide pouvant simuler les conditions locales de pH liées aux réactions inflammatoires qui peuvent suivre le traumatisme chirurgical.

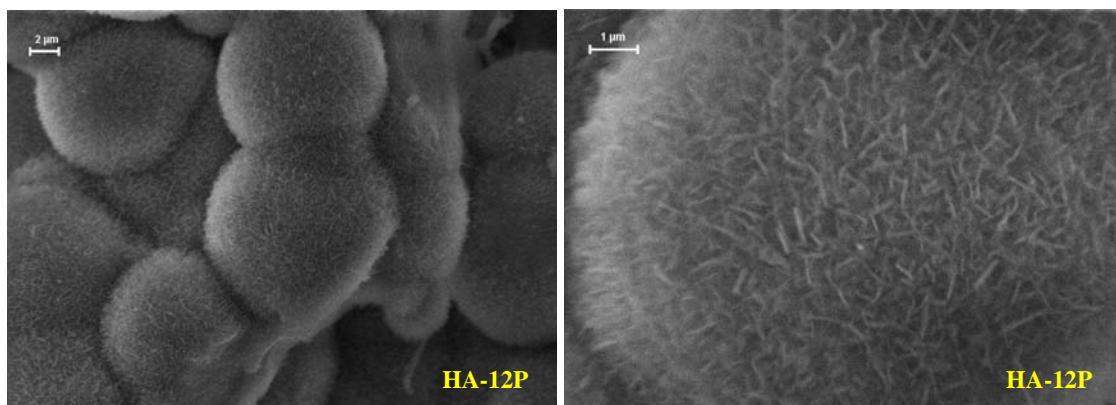


Figure 3.45 : Micrographies MEB des dépôts d'HA après immersion 4 semaines dans une solution SBF

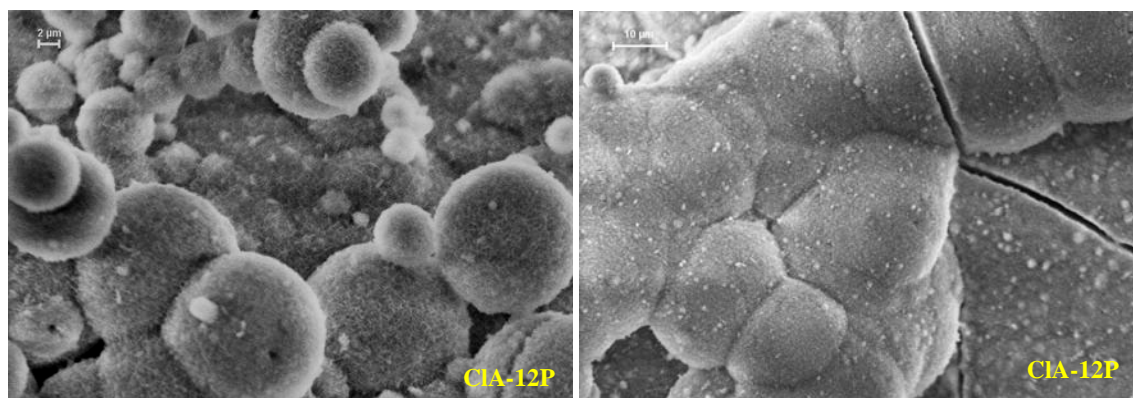


Figure 3.46 : Micrographies MEB des dépôts de CIA après immersion 4 semaines dans une solution SBF

VII. ETUDE DE LA DISSOLUTION DES DEPOTS

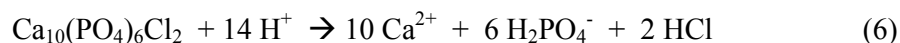
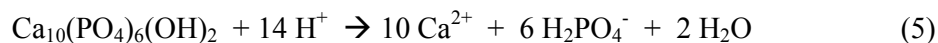
VII-1. Généralités

Le corps étranger provoque au sein de l'organisme des modifications chimiques et physiques (mécaniques, rhéologiques, etc) qui entraînent par la suite des réactions biologiques. Dans tous les cas ces réactions conduisent à une modification de l'interface matériau-milieu vivant qui se traduit par l'interposition d'une couche de protéines voire de minéraux à la surface du matériau et une adaptation des tissus environnants.

Une réaction inflammatoire locale qui suit le traumatisme chirurgical est provoquée par la plupart des matériaux. Les cellules vont se fixer à la surface du matériau ou à sa proximité et sécréter localement des acides et des oxydants puissants (peroxydes, superoxydes, hydroperoxydes) afin de tenter d'éliminer le corps étranger. Le pH local peut atteindre pendant la durée de la phase d'inflammation des valeurs très basses (pH 3-4) et ce milieu se révèle particulièrement agressif pour les matériaux. En milieu vivant, la plupart des métaux, certains polymères et céramiques sont attaqués au moins superficiellement et les résidus d'attaque (ions métalliques, particules, oligomères) sont libérés dans le milieu biologique.

Chapitre III. Revêtements d'HA et de CIA obtenus par mini-torche plasma à basse énergie

Pour notre étude, nous avons choisi de suivre la dissolution du dépôt au cours du temps à pH maintenu constant et égal à 4. La dissolution de l'apatite en solution acide correspond à la réaction suivante respectivement pour les dépôts d'HA et de CIA :



Le test de dissolution consiste à immerger l'échantillon dans une solution acide. D'après les réactions (Eq. 5) et (Eq. 6), la dissolution en milieu acide d'une hydroxyapatite ou d'une chlorapatite provoque une remontée de pH due à la consommation des protons par les phosphates. L'ajout d'une solution acide, commandé au moyen d'un dispositif pH-stat permet alors de maintenir le pH constant tout au long de l'expérience de dissolution. De ce fait, il existe une relation entre la quantité de phosphate de calcium dissous et le volume d'acide ajouté ce qui nous permet d'avoir un suivi cinétique et quantitatif de la dissolution de chaque type de dépôts étudiés.

VII-2. Etude expérimentale

Les études de dissolution réalisées dans le cadre de ce travail ont été effectuées à 37°C dans une solution d'acide nitrique à pH constant et égal à 4. La solution titrante acide permettant de maintenir le pH constant lors de l'étude de dissolution est une solution d'acide nitrique à pH = 2.35. Le dispositif de pH-stat utilisé pour l'étude de la dissolution comprend un bain thermostaté à 37°C, un réacteur thermostaté et agité, un pH-mètre et une électrode pH, une burette titrante, un impulsomètre et un enregistreur ; le dispositif dans son ensemble est présenté sur la Figure 3.47.



Figure 3.47 : Photographie de l'installation de pH-stat utilisée pour l'étude de la dissolution des dépôts

Le pH est mesuré au moyen d'une électrode de verre préalablement étalonnée. Le pHmètre est relié à un pH-stat dont la consigne est fixée à $\text{pH} = 4$ dans le cas présent. Pour une variation de pH, de l'ordre de 0.005 unité pH le pH-stat commande l'ajout dans le milieu réactionnel d'une goutte (0,03 mL) de solution d'acide nitrique à $\text{pH} 2.35$. L'enregistrement du volume de la solution d'acide ajoutée et de la valeur du pH est fait automatiquement à l'aide d'un multi-mètre. Ces données sont enregistrées chaque seconde puis converties en mL d'acide et en valeurs de pH sur Excel.

Le porte échantillon en Teflon est composé de deux parties qui se vissent pour bloquer la pastille revêtue du dépôt étudié en laissant apparaître la surface du dépôt seulement à travers un orifice de 0.8 cm de diamètre (Figure 3.48). Ce porte échantillon permet ainsi de contrôler la surface du dépôt exposée à la solution acide (en supposant que les surfaces spécifiques des dépôts ont des valeurs relativement proches quel que soit le dépôt étudié).

Après l'étalonnage de l'électrode et le démarrage de l'enregistrement, l'échantillon est introduit dans 150 mL de solution acide. Il est ensuite fixé par un support qui le maintient en équilibre immergé au centre du réacteur et au dessus du barreau aimanté utilisé pour l'agitation du milieu de dissolution.

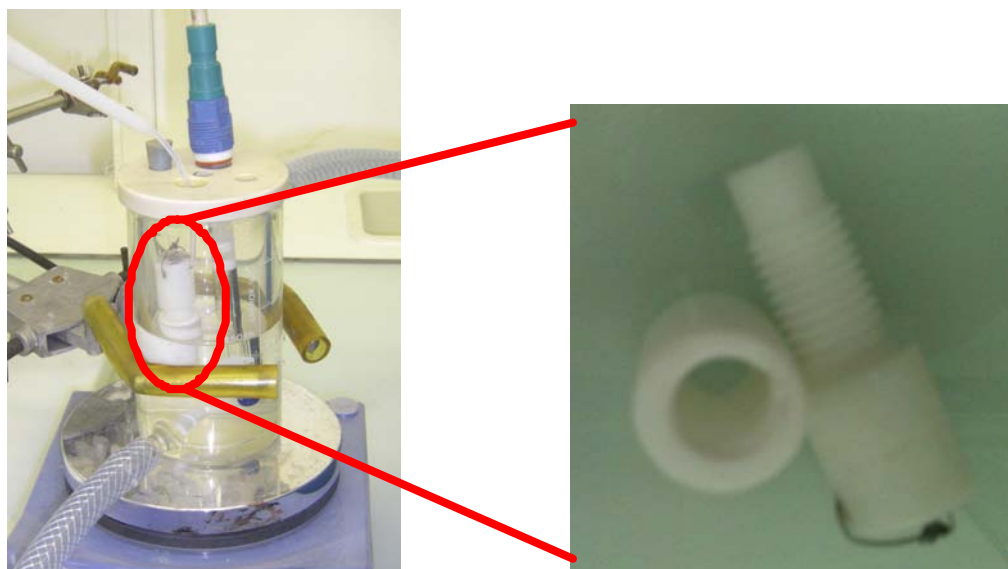


Figure 3.48 : Porte échantillon utilisé lors du test de dissolution des dépôts d'apatites

VII-3. Résultats

En raison de la faible solubilité des revêtements d'apatites élaborés, nous avons analysé la solubilité des dépôts obtenus après un seul passage de la mini-torche plasma. Deux échantillons de chaque type de dépôt ont été analysés.

Les courbes de dissolution de deux dépôts d'HA et de CIA sont reportées sur la Figure 3.49. Compte tenu du faible nombre d'échantillons testés, nous donnerons ci-après que des tendances de résultats.

Nous pouvons remarquer que la quantité totale d'acide ajouté est bien plus élevée dans le cas des dépôts d'HA. Cette différence notable peut s'expliquer par la différence significative du taux de phase amorphe présentes dans les deux types de dépôts étudiés. En effet, nous avons déjà montré par analyse par micro-spectroscopie Raman que la quantité de phase amorphe présente est largement plus importante dans les dépôts d'HA que dans les dépôts de CIA. Ce taux plus élevé de phase amorphe dans les dépôts d'HA a conduit lors du test de dissolution à l'ajout d'une quantité totale d'acide beaucoup plus importante que pour les dépôts de CIA. En accord avec les analyses par micro-spectroscopie Raman déjà présentées dans ce chapitre, les résultats de cette étude de dissolution confortent le fait que les dépôts de CIA semblent contenir une très faible proportion phase amorphe. De plus, il semble que les phases cristallisées qu'ils contiennent soient moins solubles que dans les dépôts d'HA.

Par ailleurs, nous pouvons remarquer que pour les deux types de revêtements étudiés, la vitesse d'ajout de la solution d'acide reste constante pendant toute la durée de l'expérience (courbe relativement linéaire sur les 24 h de test), traduisant à priori une bonne homogénéité des dépôts. Toutefois, on peut remarquer que les dépôts réalisés avec la poudre de chlorapatite

Chapitre III. Revêtements d'HA et de CIA obtenus par mini-torche plasma à basse énergie

présentent globalement des vitesses de dissolution plus faibles (pente des courbes plus faible) que ceux réalisées avec l'hydroxyapatite.

D'autres tests de dissolution réalisés sur du plus long terme (9 jours) présentent également une vitesse d'ajout constante et les analyses par MEB et EDS après ce test ont révélé la persistance du dépôt d'apatite (Figure 3.50). Ce test montre la très faible solubilité des dépôts plasma réalisés par la mini-torche plasma basse énergie. D'autres auteurs ont obtenu des résultats analogues avec la fluorhydroxyapatite. Cependant, les quantités d'ajout mesurées pour cette poudre sont plus importantes que pour la CIA testée dans notre étude. Ceci atteste que le dépôt de CIA est moins soluble que celui de FHA obtenu par Ranz (Ranz 1996; Pullen and Gross 2005). La présence du chlore conduit certainement à la formation d'une apatite relativement insoluble.

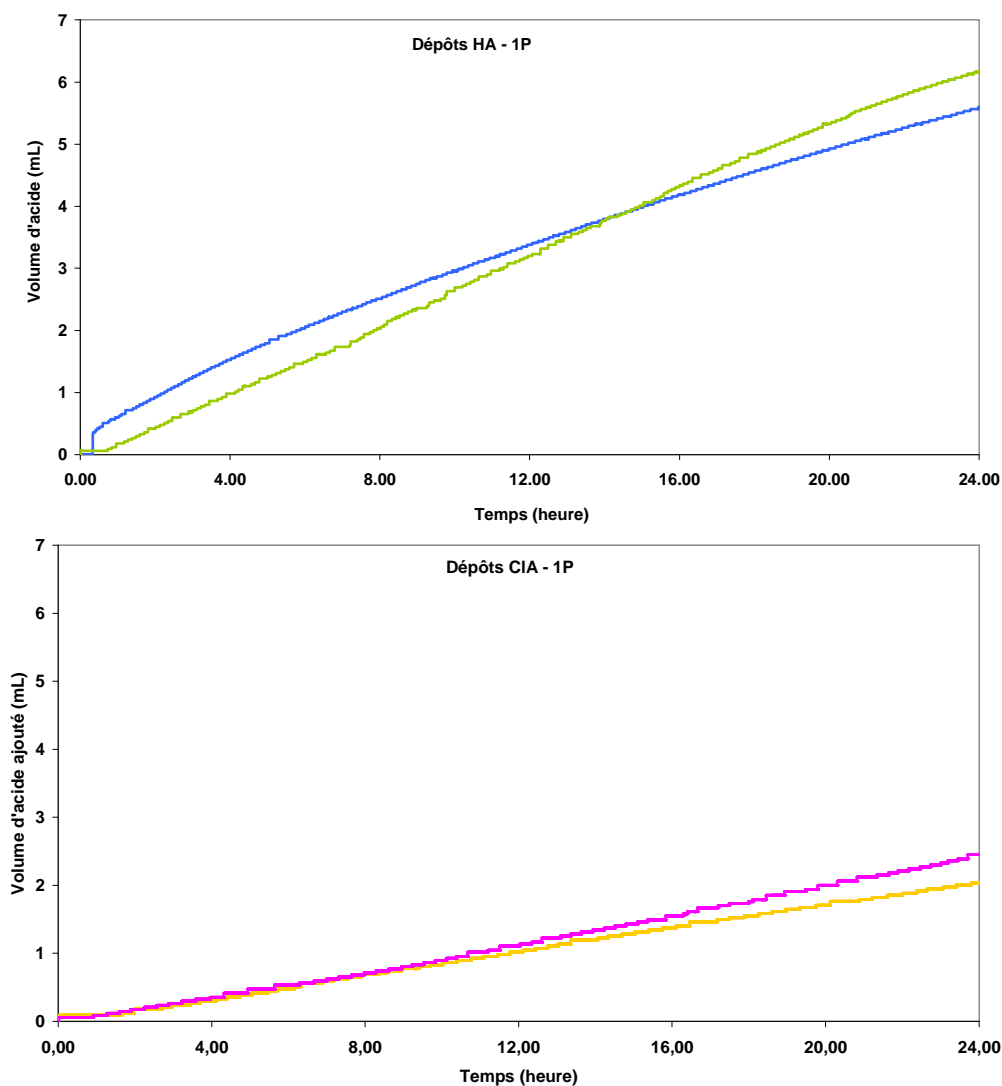


Figure 3.49 : Courbes de dissolution à pH 4 de deux dépôts d'HA (en haut) et de CIA (en bas) obtenus après 1 passage de la mini-torche plasma

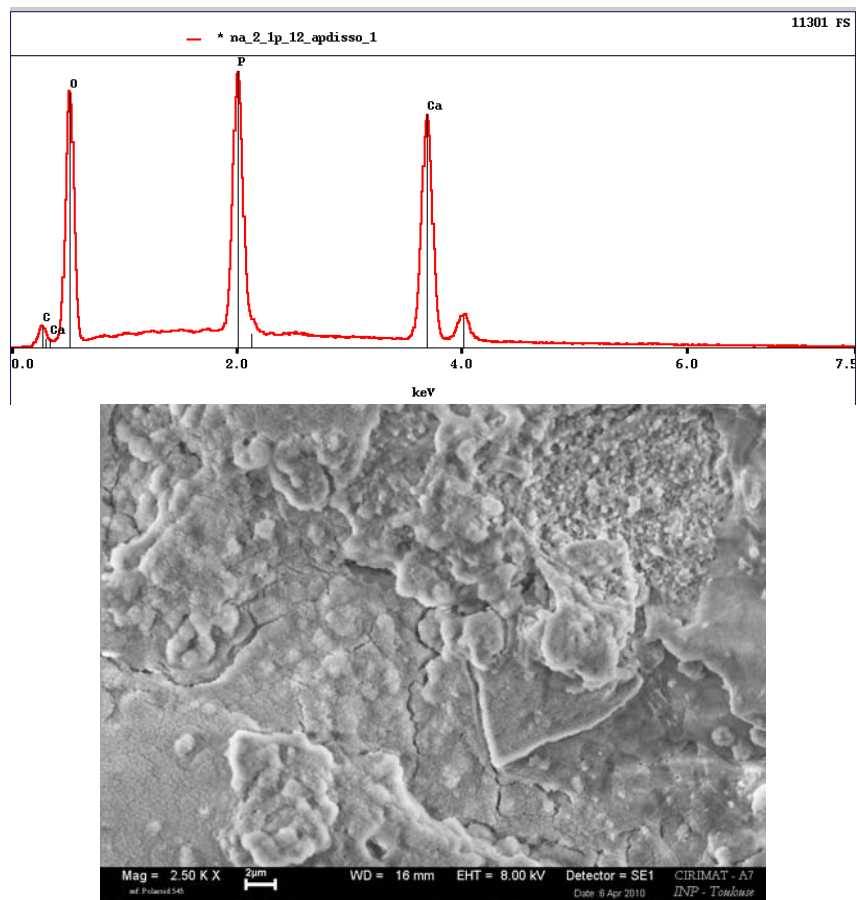


Figure 3.50 : Micrographie MEB (en bas) et analyse EDS (en haut) d'un dépôt HA 1P après dissolution à pH = 4 pendant 9 jours

VIII. DISCUSSION

La majorité des études effectuées sur des dépôts d'HA par projection plasma ont montré la présence de phases étrangères cristallisées ainsi qu'une phase amorphe (De Groot *et al.* 1987; Sun *et al.* 2001). Ces phases résultent de la décomposition de l'hydroxyapatite durant la pulvérisation et leur proportion dans les dépôts est reliée aux paramètres et aux conditions de projection. La particule d'hydroxyapatite, après avoir pénétré dans le plasma, serait constituée de plusieurs phases hétérogènement distribuées dans la particule, selon les températures locales atteintes. Les apatites sont en effet de piètre conducteurs thermiques et il existe donc à l'intérieur de chaque particule et compte tenu de la très faible durée du temps de contact avec le plasma, un fort gradient de température. Bien que l'on ne soit pas dans des conditions d'équilibre thermodynamique, le diagramme de phase (Figure 1.8) permet de prévoir la distribution de ces phases (Carayon and Lacout 2003). La partie externe du grain qui a été soumise aux températures les plus élevées ($T > 1600$ °C) serait constituée essentiellement d'une phase liquide vraisemblablement associée à du CaO, dont le point de fusion est

beaucoup plus élevé (2885 °C). Il est à noter que la formation de ce composé conduit nécessairement à la diminution du rapport Ca/P de la phase liquide. La partie sous-jacente du grain (1400 °C < T < 1600 °C) n'aurait pas subi la fusion mais se serait probablement décomposée en TCP, TTCP et CaO. La partie interne du grain (T < 1400 °C), quant à elle, aurait subi une deshydroxylation partielle en gardant une structure apatitique. Comme il existe un fort gradient de température on peut cependant imaginer qu'il existe ici aussi une hétérogénéité de la des-hydroxylation de la HA, la partie centrale de la particule étant la plus proche d'une hydroxyapatite. La Figure 3.51 illustre de façon schématique la répartition des phases dans les grains d'apatite au cours de la pulvérisation.

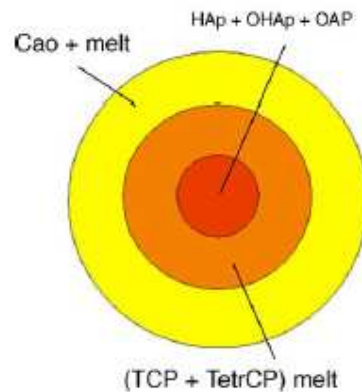


Figure 3.51 : Répartition des phases dans les grains d'apatite au cours de la pulvérisation, d'après (Heimann 2006)

Après impact sur la cible, ces gouttelettes prennent des formes très complexes et la trempe très rapide qui se produit conduit ici encore à d'importants gradients de température dans le splat. Les lamelles de phosphates de calcium sont donc extrêmement hétérogènes et les différents domaines se chevauchent l'échelle microcristalline (Li *et al.* 2004).

Lorsque les gouttelettes arrivent sur la cible métallique, plusieurs réactions peuvent avoir lieu. La Figure 3.52 illustre la séquence des événements se produisant au cours de l'impact d'une gouttelette d'HA après pulvérisation plasma.

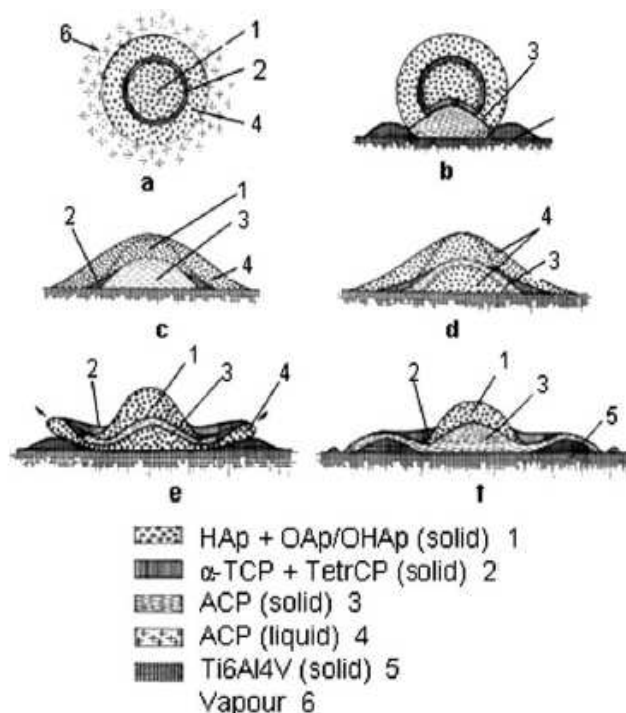


Figure 3.52 : Séquences des événements (a - f) se produisant après impact d'une particule partiellement fondue sur la cible, d'après (Heimann 2006)

Tout d'abord, la trempe brutale de la surface liquide des grains en phase amorphe. Mais, il n'est pas exclu que les constituants de la couche superficielle des particules réagissent avec le TiO_2 présent à la surface du substrat de titane. La formation de perovskite par exemple, pourrait se produire par double décomposition (Lacout *et al.* 1984) ou bien une réaction entre TiO_2 et l'ion phosphate donnant un composé de type Ti-PO_4^{3-} . Cette dernière réaction souvent mentionnée n'a cependant pas été clairement mise en évidence. La partie supérieure du grain est soumise à une trempe moins brutale et une recombinaison partielle des phases présentes pourrait s'effectuer. Ce phénomène expliquerait la formation d'apatite de cristallinité plus faible que celle de l'apatite de départ.

Bien que les conditions thermodynamiques du processus de pulvérisation sont loin des conditions d'équilibre du diagramme de phase, la plupart des études effectuées sur les dépôts d'hydroxyapatite par projection plasma ont mis en évidence la présence des phases présentes sur ce diagramme, suite à la décomposition de l'hydroxyapatite.

L'absence des phases (CaO, TCP et TTCP) et la faible proportion de la phase amorphe dans les dépôts réalisés à l'aide de la MTBE dans le cadre de nos travaux est plutôt surprenante. En effet, la présence de la phase amorphe dans les dépôts de la MTBE atteste que les particules ont atteint une température supérieure à 1600 °C. Ajoutons à cela, la présence d'oxyhydroxyapatite issue de la deshydroxylation de l'hydroxyapatite dans le domaine de température compris entre 1000 et 1300 °C. Par ailleurs, les phases originaires de la

Chapitre III. Revêtements d'HA et de CIA obtenus par mini-torche plasma à basse énergie

décomposition de l'oxy-hydroxyapatite dans le domaine 1300 – 1600 °C n'ont pas été détectées par la diffraction des rayons X.

Gross et Berndt ont rapporté qu'une vitesse de refroidissement rapide après la trempe empêche la formation de ces phases (Gross et Berndt 1997). Le refroidissement très rapide ne permet pas aux phénomènes de diffusion nécessaires à la formation du TCP et du TTCP de s'établir (Gross and Berndt 1998). Cette vitesse de refroidissement est difficilement mesurable, cependant, on peut penser qu'elle est plus élevée dans le cas des dépôts par MTBE que dans celui des dépôts par torche plasma conventionnelle. Cela est dû à la faible granulométrie des particules engagées (50 – 80 µm), à la courte distance parcourue par les particules (distance de tir = 40 mm) et à la basse énergie du nouveau système (15 kW). D'autre part, on constate qu'il y a une re-formation de l'oxy-hydroxyapatite à partir de la coulée (phase liquide) et on peut remarquer que cette re-formation implique l'établissement de phénomènes de diffusion durant le refroidissement rapide de la phase liquide. Une explication alternative et complémentaire à celle proposée par Gross et Berndt consiste à considérer les phénomènes de surfusion et de germination cristalline. Dans le système MTBE, la taille granulométrique des particules et la basse énergie appliquée à la mini-torche conduisent à un refroidissement rapide. En plus, l'absence, en proportions importantes, des germes de l' α - et/ou le β -TCP ainsi que de TTCP dans ces particules, peut empêcher la recristallisation de ces phases et on peut concevoir que la phase liquide reste en surfusion pendant la courte durée dans l'intervalle 1600 – 1300 °C. Cependant, le noyau apatitique resté à l'état solide au centre des particules et son écrasement au moment de l'impact fourni une surface de nucléation importante favorisant la formation et la croissance de germes d'apatites. Cette hypothèse pourrait donc expliquer le phénomène de re-formation des cristaux de l'oxy-hydroxyapatite au détriment de la phase amorphe et l'absence détectable des phases étrangères prévues par le diagramme de phase.

En revanche, la vitesse de refroidissement d'un système de projection plasma conventionnelle serait plus lente en raison de la plus grande taille des particules et de la puissance élevée du système. Le liquide formé, en état de surfusion, aura donc plus de temps pour permettre la germination et la croissance des phases minérales prévues dans le diagramme de phase dans l'étroit intervalle de températures entre la formation de la phase liquide et la décomposition de l'hydroxyapatite.

Les revêtements étudiés se distinguent par un nombre croissant de passages de la mini-torche. Le nombre de balayages par la mini-torche influence la cristallinité et la composition des dépôts. Il est intéressant de noter que les revêtements d'HA recouverts par un seul passage de la mini-torche, par exemple, montrent un taux de la phase amorphe plus élevé que ceux correspondant à plusieurs passages. La forte présence de cette phase est attribuée à une trempe rapide sur le métal, excellent conducteur thermique, lors de la pulvérisation. Par contre, le taux d'oxyapatite (mesurée sur la surface des revêtements) croît avec le nombre de passages

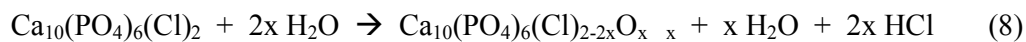
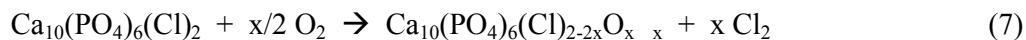
Chapitre III. Revêtements d'HA et de CIA obtenus par mini-torche plasma à basse énergie

de la MTBE. Cette augmentation pourrait être attribuée à une diminution de la vitesse de trempe après pulvérisation de la première couche d'HA, isolant thermique.

L'analyse par micro-spectroscopie Raman confirme la forte hétérogénéité de composition des dépôts et le déplacement de la sonde sur la surface d'un dépôt montre de grandes variations de la proportion de phases et d'oxy-hydroxyapatite à la surface. Il serait intéressant de quantifier cette hétérogénéité qui paraît être une caractéristique importante du dépôt, bien que cela soit relativement complexe.

L'étude menée par les différentes techniques de caractérisation physico-chimiques montre d'une manière générale que les dépôts à base de chlorapatite sont minéralogiquement purs et aucune impureté cristalline n'a été décelée. Afin d'évaluer la cristallinité de ces dépôts. Nous avons mis au point une méthode de calcul du rapport de cristallinité des dépôts de chlorapatite en se basant sur la méthode décrite par la norme couramment utilisée pour le calcul du rapport de cristallinité des hydroxyapatites (ISO 13779-3 :2008). Ainsi, une cristallinité supérieure a été obtenue pour les dépôts de CIA ; elle est très proche de celle de la poudre de référence. L'analyse par spectroscopie FTIR des revêtements de CIA a montré, à partir de l'intensité de la bande $\nu_2\text{PO}_4$, la présence d'une phase oxyapatite ou oxy-chlorapatite. Cependant, aucune présence de groupements hydroxyle n'a été observée dans les dépôts après pulvérisation plasma. Il est à noter qu'aucun travail dans la littérature, à notre connaissance, n'a mentionné la formation de la phase oxy-chlorapatite.

Les résultats de l'étude semi-quantitative menée par micro-spectroscopie Raman (décomposition de la bande $\nu_1\text{PO}_4$) confirment la présence d'une phase oxyapatite (ou oxy-chlorapatite) en plus d'une faible proportion de phase amorphe. La position du pic caractéristique de l'oxyapatite est déplacé de 951 cm^{-1} dans les dépôts d'HA à 957 cm^{-1} dans les dépôts de CIA. Cette translation conforte l'hypothèse d'une solution solide oxy-chlorapatite plutôt que d'une phase oxyapatite. Des observations similaires ont été notées pour des dépôts de fluorhydroxyapatite (Ranz 1996). Cependant, la chlorapatite employée est complètement chlorurée et ne contient pas de groupements hydroxyle susceptibles de générer une oxyapatite. Il paraît donc probable qu'il y ait eu une réaction parasite dans la projection. On peut imaginer un échange du chlore avec l'oxygène présent dans le plasma lors de la pulvérisation ou une hydroxylation de la chlorapatite avec la vapeur d'eau ambiante. Les réactions qui sont susceptibles de former l'oxy-chlorapatite pendant la projection sont citées ci-dessous :



Chapitre III. Revêtements d'HA et de CIA obtenus par mini-torche plasma à basse énergie

La pureté de la poudre de départ est également un paramètre à prendre en considération pour expliquer la présence de l'oxy-chlorapatite. Bien que la diffraction des rayons X ainsi que la spectroscopie FTIR et Raman attestent de la pureté minéralogique de la chlorapatite et de l'absence des groupements hydroxyle, la poudre de chlorapatite pourrait contenir une faible quantité de chlor-hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_{2-x}(\text{OH})_x$). Dans ce cas, les groupements hydroxyle pourraient se deshydrater en présence du plasma et engendrer la formation de l'oxy-chlorapatite.

D'après l'étude de l'inhomogénéité de la surface réalisée par micro-spectroscopie Raman, nous avons pu déceler une différence de morphologie significative entre les dépôts d'HA et de CIA. Les dépôts de CIA sont essentiellement composés de petites particules recristallisées et possèdent moins de "splats" identifiables tandis que les revêtements à base d'HA contiennent des particules frittées (non-fondues), des grains partiellement fondus et une grande proportion de "splats". Ces derniers correspondent à des grains complètement écrasés à la surface du substrat et dont l'analyse révèle une grande proportion de phase amorphe.

Dans la littérature, on relève plusieurs études de modélisation du comportement des particules à l'écrasement sur un substrat qui ont été réalisées (St Doltsinis *et al.* 1998). Cependant, plusieurs points restent mal connus et discutables notamment l'hypothèse que nous avons émise au début de cette discussion qui stipule la présence d'un coeur apatitique au sein des particules (Gross *et al.* 1998b; Heimann 2006). D'autres investigateurs affirment que les grains fondent complètement durant la projection et qu'une partie du liquide recristallise en plusieurs phases à base de phosphates de calcium (De Groot *et al.* 1987; Sun *et al.* 2001). En effet la décomposition des hydroxyapatites, représentée dans le diagramme de phase, est totalement réversible au refroidissement, ainsi CaO, les TCPs et le TTCP peuvent se recombinaison pour donner une oxyhydroxyapatite, qui peut se ré-hydrater en présence de vapeur d'eau atmosphérique pour donner de l'hydroxyapatite. Dans ce cas, la nature des phases présentes après refroidissement du liquide, ainsi que la cristallinité du dépôt dépendent essentiellement des conditions de refroidissement ainsi que de la température du substrat qui déterminent le développement des réactions de recombinaison et de germination et croissance cristalline. En toute rigueur il serait souhaitable d'avoir des informations cinétiques sur ces réactions pour pouvoir conclure, cependant la persistance d'une phase amorphe, de l'oxyapatite et l'absence d'autres phases cristallisées restent difficilement expliquables si l'on admet qu'il y a une fusion totale et une recristallisation. Par ailleurs, l'aspect de certains dépôts suggère un éclatement des particules solides, qui justifie l'hypothèse d'une fusion partielle.

Les cartographies réalisées par micro-spectroscopie Raman sur les interfaces des dépôts HA et CIA ont permis de noter deux informations importantes. Tout d'abord, le taux de cristallinité croît en s'éloignant de la jonction céramique/substrat. La deuxième information

Chapitre III. Revêtements d'HA et de CIA obtenus par mini-torche plasma à basse énergie

concerne la composition des coupes transverses des lamelles. Le taux de phase amorphe, d'HA ou de CIA) forment des grains de différents diamètres (Gross *et al.* 1998b; Heimann 2006).

On pourrait supposer qu'il s'agit de lamelles fondues qui se sont fragmentées en petites gouttelettes avant de s'écraser sur le substrat.

Cette étude nous permet de constater qu'il existe deux comportements différents des grains lors de la pulvérisation. Le premier décrit un grain qui reste entier pendant la pulvérisation ; de ce fait il fond partiellement en gardant un coeur apatitique. Ce phénomène a été décrit dans la littérature par une forme de disque ou *pancake* (Pawlowski 2003). Le deuxième cas par contre, concerne des grains qui se fragmentent complètement en petites gouttelettes (*forme fleur*) (Pawlowski 2003). De ce fait, elles fondent complètement et sont susceptibles de recristalliser au cours du refroidissement. Ces petites particules recristallisées ont été particulièrement observées dans les dépôts de chlorapatite. Montrant ainsi l'avantage de la phase liquide de chlorapatite à re-former un solide cristallisé pendant le refroidissement sans la présence d'un coeur apatitique.

Comme nous avons pu le noter, la grande inhomogénéité structurale des dépôts effectués par projection plasma provient en grande partie de la nature et des propriétés physiques de la poudre projetée. Ceux-ci déterminent sa stabilité thermique et son comportement vis-à-vis du plasma.

Cette inhomogénéité semble être la cause principale de la dissolution et de la désagrégation des revêtements. Cependant, d'autres paramètres interviennent dans ces phénomènes et il est très difficile de déterminer la contribution de chacun : cristallinité, composition chimique, surface spécifique, granulométrie, porosité, etc...

Enfin, en ce qui concerne la corrélation entre la microstructure des dépôts et l'activité biologique, il est parfois très délicat d'interpréter les résultats tant les mécanismes biologiques impliqués dans l'ostéoconduction apparaissent complexes et mal connus. Toutefois, il est très généralement admis que la bioactivité des revêtements de phosphates de calcium dépend de la capacité de leur surface à nucléer une apatite carbonatée mal cristallisée analogue au minéral osseux à partir des fluides biologiques sursaturés (Rey *et al.* 1991a; Al Kattan *et al.* 2010). La précipitation d'une telle phase est considérée comme une étape essentielle au mécanisme de l'ostéoconduction. Cette capacité est liée aux caractéristiques de surface de l'implant. Il est alors certain que la composition structurale de la surface des matériaux influe sur la bioactivité. La plus grande solubilité de la phase amorphe pourrait en outre jouer un rôle, en élevant localement la sursaturation des fluides au contact de l'implant, favorisant ainsi la nucléation d'une couche néoformée. Si on considère que c'est à partir de la couche néoformée

Chapitre III. Revêtements d'HA et de CIA obtenus par mini-torche plasma à basse énergie

que se développe la repousse osseuse, alors la formation d'une couche analogue sur la surface des revêtements avant implantation, constituerait un avantage pour l'ostéoconduction.

Les dépôts de chlorapatite, par exemple, présentent une solubilité beaucoup plus faible et contiennent souvent des quantités d'amorphe moins importantes que les revêtements d'hydroxyapatite. Cependant, ces revêtements ne montrent pas une plus mauvaise bioactivité, parfois même au contraire, comme le prouve notre étude.

IX. CONCLUSION

La mini-torche de projection plasma basse énergie a été parfaitement adaptée pour réaliser des revêtements fins sur des substrats de petites tailles. L'examen de la microstructure des dépôts révèle un rapport Ca/P égale à celui d'une apatite stoechiométrique, sans décomposition en phase étrangère (TCP, TTCP ou CaO) ; ainsi qu'un bon état de cristallinité. Ceci montre bien que les différents paramètres intervenant au cours de la projection ont pu être bien optimisés. Nous avons constaté d'une manière générale, les chlorapatites avaient un meilleur comportement thermique que l'hydroxyapatite : taux d'oxy et quantité de phase amorphe plus faibles. Parallèlement, les tests mécaniques ont montré que les dépôts à base de chlorapatite présentent une adhésion au substrat équivalente à celle des dépôts d'hydroxyapatite. En général, les revêtements fins effectués avec le nouveau système MTBE présentent une meilleure tenue mécanique comparés aux dépôts réalisés par les torches plasma conventionnelles.

Enfin, l'un des avantages de l'utilisation de la chlorapatite reste cependant de permettre une ostéointégration rapide de l'implant malgré la faible quantité de phase amorphe présente dans le dépôt.

Chapitre IV :

Transfert industriel de la torche basse énergie et évaluations biologiques

Les résultats concernant la composition et les propriétés des différents dépôts réalisés à l'aide de la mini-torche basse énergie qui ont été présentés au Chapitre 3 démontrent tout l'intérêt de travailler à plus basse énergie que celle mise en œuvre classiquement pour une torche plasma industrielle. Avant même d'envisager le remplacement d'une torche plasma classique par une mini-torche basse énergie développée par Inasmet (partenaire du projet Nanomed2), nous nous sommes tout d'abord intéressés aux potentialités d'une torche classique travaillant à basse énergie pour réaliser des dépôts d'apatites fins et de qualité si possible supérieure à celle des dépôts obtenus dans des conditions classiques (fonctionnement de la torche à haute énergie).

Ainsi afin, d'améliorer la qualité des dépôts d'apatites réalisés à l'aide des torches plasma classiques industrielles, dans un premier temps nous avons tenté d'optimiser les paramètres de projection de la torche classique pour travailler dans des conditions de basse énergie. Différents paramètres de fonctionnement de la torche plasma (intensité du courant, débit de gaz, puissance) ont été testés afin d'obtenir un dépôt d'apatite avec une meilleure cristallinité, sans phases étrangères. Une fois les paramètres optimaux déterminés, nous les avons dans un second temps mis en oeuvre pour l'élaboration de dépôts d'HA et de CIA. La biocompatibilité de ces échantillons a ensuite été évaluée d'abord *in vitro* (cytotoxicité, prolifération et attachement des cellules) puis *in vivo* grâce à une étude menée chez le gros animal (mouton).

PARTIE A

Optimisation des paramètres de projection à basse énergie d'une torche plasma conventionnelle

Dans cette partie, nous étudions les problèmes rencontrés lors de la projection de poudre fine à l'aide d'une torche plasma industrielle travaillant à basse énergie. L'accent est mis sur la variation des paramètres de projection et leur influence sur les propriétés microstructurales des dépôts.

Il s'agit de mettre en évidence l'incidence de certains paramètres opératoires sur les propriétés du jet et d'utiliser ensuite ces résultats pour définir les conditions optimales pour la réalisation des dépôts. Trois techniques de caractérisation ont été utilisées pour cette étude : la diffraction des rayons X, la spectroscopie infrarouge et la microspectroscopie Raman.

Les essais de projection ont été réalisés avec une torche classique disponible chez le partenaire industriel, *Projection Plasma System (2PS)*, du projet Nanomed2. Cette torche a été améliorée de manière à permettre son fonctionnement à basse énergie.

I. RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES EFFETS DES PARAMETRES DE PROJECTION PLASMA

Même si le procédé de projection plasma paraît simple sur le plan conceptuel. Il est cependant très complexe par le nombre important de paramètres liés et intervenant simultanément sur la microstructure du revêtement (Cheang and Khor 1996).

Pour obtenir un dépôt dense et adhérent, les particules doivent avoir une vitesse et une viscosité adéquate lors de l'impact afin de s'étaler et d'épouser les irrégularités du substrat : l'état de fusion des particules joue donc un rôle essentiel. Cet état est conditionné par les caractéristiques de l'écoulement plasma et les transferts thermiques avec les particules qui dépendent de nombreux paramètres : température du plasma, nature des gaz plasmagènes, puissance et distance de tir. L'efficacité du procédé de projection plasma et les caractéristiques des dépôts obtenus sont également fortement influencées par les propriétés de la poudre injectée. La taille et la distribution granulométrique, la morphologie des grains et la coulabilité sont les plus importantes.

Plusieurs études ont montré que la distance de tir influe considérablement sur la microstructure et la composition des revêtements d'hydroxyapatite. Gross et Berndt ont constaté que la proportion de phase amorphe croît avec la distance de tir (Gross and Berndt 1991) et que l'augmentation du niveau de puissance de la torche se traduit par un accroissement de la proportion de CaO et des phases TTCP et TCP (Gross and Berndt 1998). Par ailleurs, Li *et al.* ont montré que la cristallinité relative totale diminue lorsque la distance de tir augmente (Li *et al.* 2002).

II. PROCEDURE EXPERIMENTALE

Les dépôts obtenus par pulvérisation par torche plasma ont été réalisés sur des cylindres de 10 mm de diamètre en acier inoxydable 316L (Figure 4.1). L'installation utilisée est un appareil plasma (torche plasma GTS avec contrôle digital) disponible chez notre partenaire industriel : 2PS (Montbazens, France). Les paramètres de projection ont été choisis dans un premier temps, à partir des conditions utilisées habituellement par l'entreprise pour l'obtention de recouvrements d'hydroxyapatite de granulométrie supérieure à 80 μm . Ces paramètres influent sur le comportement des solides à haute température et sur la formation de différentes phases. De ce fait, ils ont été modifiés progressivement en s'inspirant des paramètres requis pour la mini-torche basse énergie (MTBE) développée par un autre partenaire du projet Nanomed2 : Inasmet (Espagne) et présentée au Chapitre 3. Après chaque changement de paramètres, nous avons examiné la microstructure des revêtements élaborés.



Figure 4.1 : Photographie des revêtements d'HA sur des substrats en acier réalisés par la société 2PS.

III. ESSAI 1 : INFLUENCE DES PARAMETRES DE PROJECTION EN CONDITION CONVENTIONNELLE (HAUTE ENERGIE)

Dans le but de réaliser des dépôts fins à partir de poudre fine (granulométrie 50-80 μm) via la torche plasma conventionnelle et de les comparer aux dépôts élaborés classiquement, nous avons tout d'abord préparé et caractérisé des dépôts de référence c'est-à-dire des dépôts d'HA obtenus avec les paramètres habituellement utilisés par l'entreprise pour l'élaboration des revêtements d'hydroxyapatite de granulométrie standard (supérieure à 80 μm). Nous ne pouvons cependant pas citer les conditions de projection retenues pour cet essai. Néanmoins, deux paramètres essentiels à notre étude nous ont été communiqués :

- la puissance de la torche est comprise entre 22 et 33 kW
- la distance de tir est de 80 ou 100 mm.

Huit dépôts ont été réalisés pendant l'essai 1. Ils sont référencés dans la suite par d1, d2, à d8.

Caractérisation des dépôts de l'essai 1

L'analyse par diffraction des rayons X des huit revêtements effectués durant l'essai 1 est présentée sur la Figure 4.2. Les diagrammes de RX des dépôts obtenus sont principalement composés de raies relatives à l'hydroxyapatite et dans une moindre mesure les raies correspondant à des phases étrangères de type CaO, α -TCP et TTCP (Annexe 2). On remarque aussi la présence d'un halo caractéristique d'une forte proportion de phase amorphe dans le dépôt. Le calcul du taux de cristallinité conduit à des pourcentages très faibles (entre 12 et 20 %). Ces valeurs reflètent la prédominance de la phase amorphe présente dans le dépôt (Tableau 4.1).

Tableau 4.1 : Rapports de cristallinité calculés selon la norme ISO 1379-3 :2008

	Dépôt d1	Dépôt d2	Dépôt d3	Dépôt d4	Dépôt d5	Dépôt d6	Dépôt d7	Dépôt d8
Rapport de cristallinité (%)	12.60	12.31	17.04	18.26	17.80	12.92	20.38	18.18

La Figure 4.3 présente un spectre d'absorption infrarouge relatif au dépôt d7. On remarque une forte présence d'oxyapatite (intensité de la bande $\nu_2\text{PO}_4$) ainsi qu'une diminution de l'intensité de la bande à 3572 cm^{-1} relative aux ions OH⁻ de l'hydroxyapatite.

Nous nous sommes intéressés par la suite à évaluer la distribution des phases à la surface de ces dépôts par micro-spectroscopie Raman. La procédure adoptée consiste à analyser trois zones à la surface de chaque dépôt (milieu, extrémité gauche et extrémité droite) comme indiqué sur la Figure 4.4. La Figure 4.5 révèle l'hétérogénéité de composition d'un dépôt d'HA élaboré selon les paramètres de l'essai 1 (dépôt d7) ; elle est clairement mise en

évidence si on examine en particulier la bande $\nu_1\text{PO}_4$. L'analyse des spectres obtenus dans les différentes zones du dépôt révèle une prédominance de la phase amorphe sur les extrémités du dépôt tandis que le centre du dépôt est composé de phases cristallines et d'amorphe. Cette étude a montré une grande inhomogénéité de l'ensemble des revêtements.

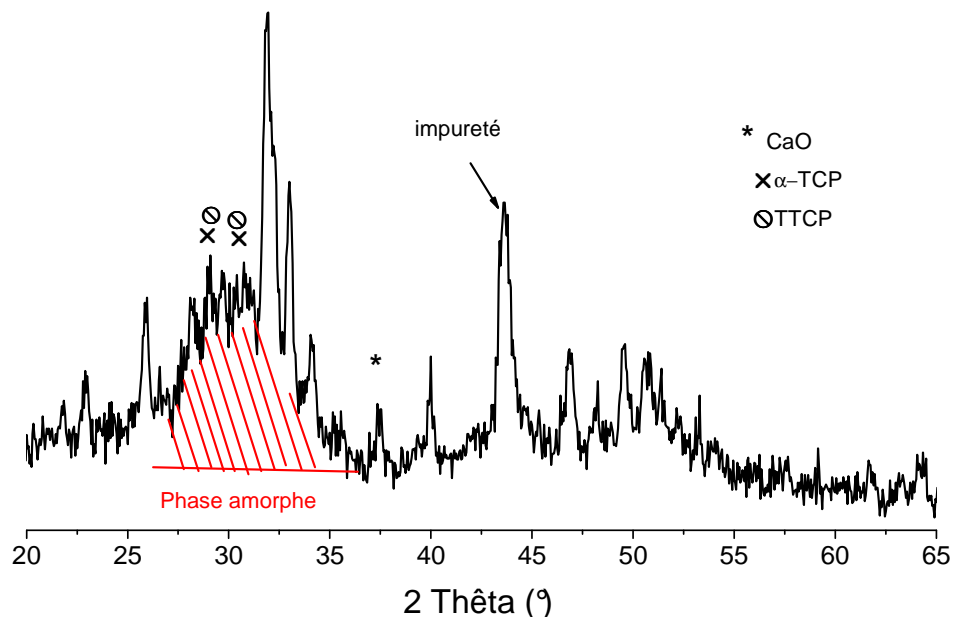


Figure 4.2: Diagramme de diffraction des rayons X d'un dépôt HA élaboré selon les paramètres de l'essai 1

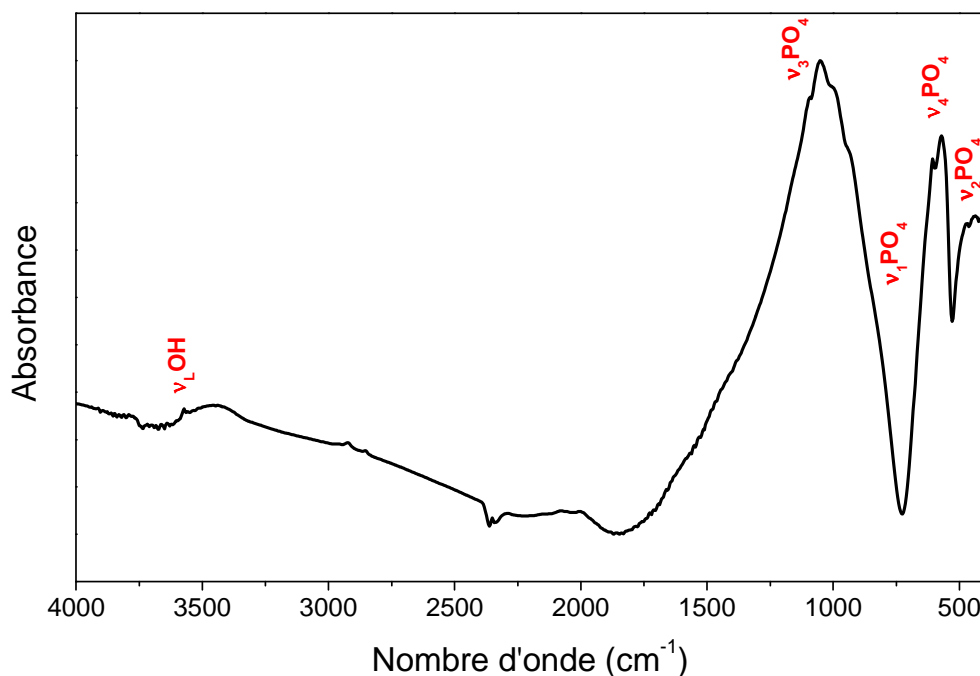


Figure 4.3: Spectre FTIR des dépôts d'hydroxyapatite élaboré selon les paramètres de l'essai 1

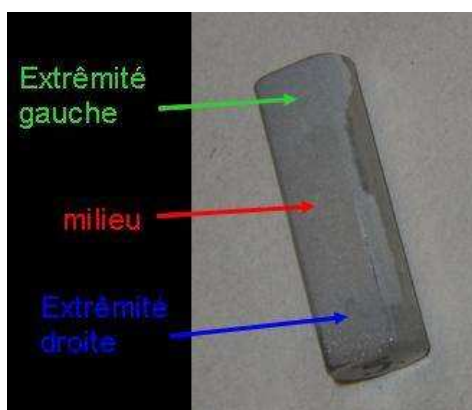


Figure 4.4: Zones d'un dépôt d'HA élaboré selon les paramètres de l'essai 1, analysées par micro-spectroscopie Raman

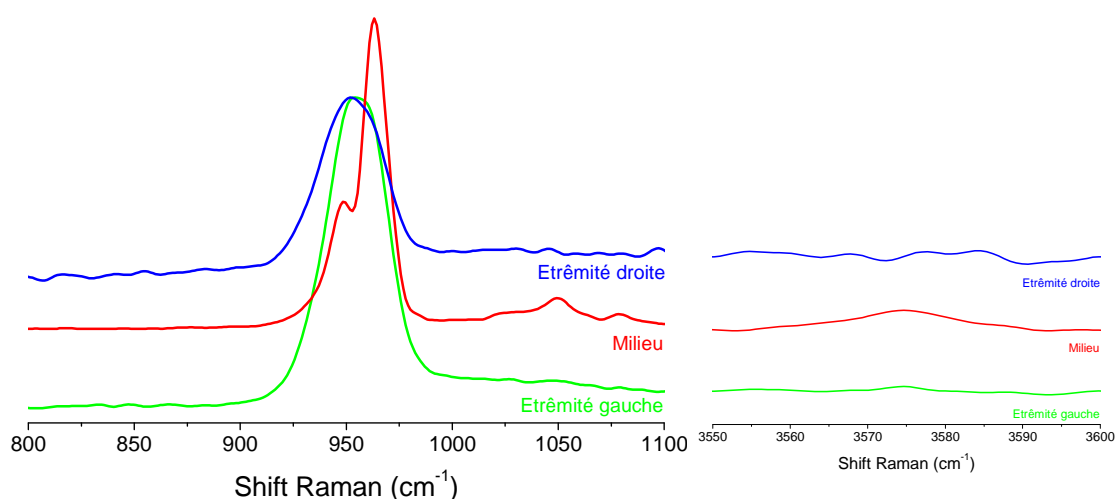


Figure 4.5 : Spectres Raman des 3 zones (Figure 4.4) sur la surface d'un dépôt d'HA élaboré selon les paramètres de l'essai 1

Cet essai a conduit à des dépôts contenant des phases étrangères cristallisées ainsi qu'une phase amorphe. Les rapports de cristallinité calculés témoignent du mauvais état de cristallinité des dépôts d'HA obtenus dans ces conditions. Nous constatons que les paramètres conventionnels de projection de la torche ne sont pas adaptés pour la projection d'une poudre de granulométrie fine. Nous avons donc décidé de faire varier progressivement certains paramètres de projection de la torche et de caractériser la composition et la microstructure des revêtements obtenus après chaque modification.

IV. ESSAI 2 : MODIFICATION DU GAZ PLASMAGENE ET INFLUENCE DE LA PUISSANCE DE LA TORCHE EN CONDITION BASSE ENERGIE

Afin de s'approcher le mieux possible des conditions de projection utilisées pour la mini-torche basse énergie, plusieurs paramètres ont été modifiés en même temps. La puissance (énergie) a été réduite à 13 ou 18 kW avec une tension de 400 A. L'argon est introduit comme gaz plasmagène principal et le débit d'hydrogène a été réduit ou éliminé. Deux conditions différentes ont été adoptées pour cet essai. Pour chaque condition, quatre échantillons d'épaisseur différente ont été élaborés. Le Tableau 4.2 regroupe les paramètres de projection choisis pour cet essai ainsi que les mesures de l'épaisseur des dépôts obtenus.

Tableau 4.2 : Paramètres de projection plasma relatifs à l'essai 2

Référence du dépôt	H ₂ (L/min)	Ar (L/min)	Puissance (kW)	Tension (A)	Epaisseur du dépôt (μm)
D1-T1	0.5	50	18	400	50
D2-T1	0.5	50	18	400	80
D3-T1	0.5	50	18	400	100
D4-T1	0.5	50	18	400	150
D5-T2	0	50	13	400	60
D6-T2	0	50	13	400	80
D7-T2	0	50	13	400	100
D8-T2	0	50	13	400	130

Caractérisation physico-chimique des dépôts

Le diagramme de diffraction des rayons X des dépôts réalisés est présenté sur la Figure 4.6. L'analyse des diffractogrammes indique la présence d'une phase apatitique correspondant à une hydroxyapatite. Cependant, on détecte des raies relatives aux phases cristallisées (CaO, TTCP, α et β-TCP, voir *Annexe 2*) et à une phase amorphe. L'analyse du Tableau 4.3 montre qu'on obtient des rapports de cristallinité compris entre 15 et 22 %. Ces valeurs, bien inférieures aux exigences de la norme ISO 13779-3, illustrent le faible état de cristallinité et la présence d'une grande quantité de phase amorphe dans ces dépôts.

Tableau 4.3 : Rapports de cristallinité calculés pour les dépôts obtenus dans les conditions de l'essai 2

	Dépôt D1-T1	Dépôt D2-T1	Dépôt D3-T1	Dépôt D4-T1	Dépôt D5-T2	Dépôt D6-T2	Dépôt D7-T2	Dépôt D8-T2
Rapport de cristallinité (%)	22.20	15.38	17.21	18.81	20.47	21.97	19.43	21.94

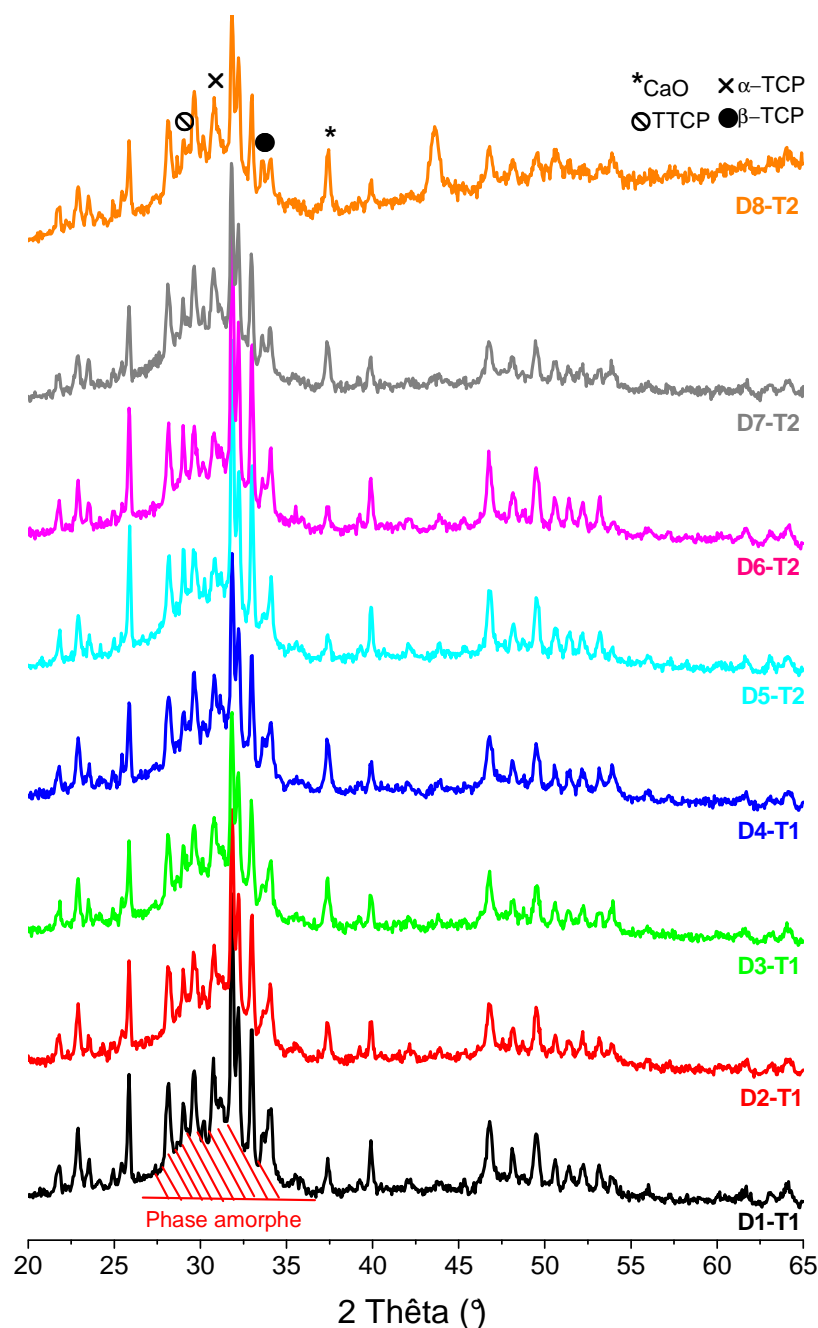


Figure 4.6 : Diagrammes de diffraction des rayons X des dépôts d’HA élaborés dans les conditions de l’essai 2

L’analyse par spectroscopie d’absorption infrarouge des dépôts dans le domaine spectral 4000-400 cm^{-1} (Figure 4.7) met en évidence les bandes caractéristiques des groupements phosphate et hydroxyle similaires à celles de l’HA. On peut remarquer l’intensité élevée de la bande $\nu_2\text{PO}_4$ attestant de la présence d’une solution solide oxy-hydroxyapatite. On remarque aussi l’affaiblissement de l’intensité de la bande à 3570 cm^{-1} relative aux OH de l’apatite. Par ailleurs, l’analyse des revêtements par micro-spectroscopie Raman confirme la haute teneur

en phase amorphe et l'hétérogénéité de composition du dépôt ainsi que la présence d'oxyapatite (Figure 4.8).

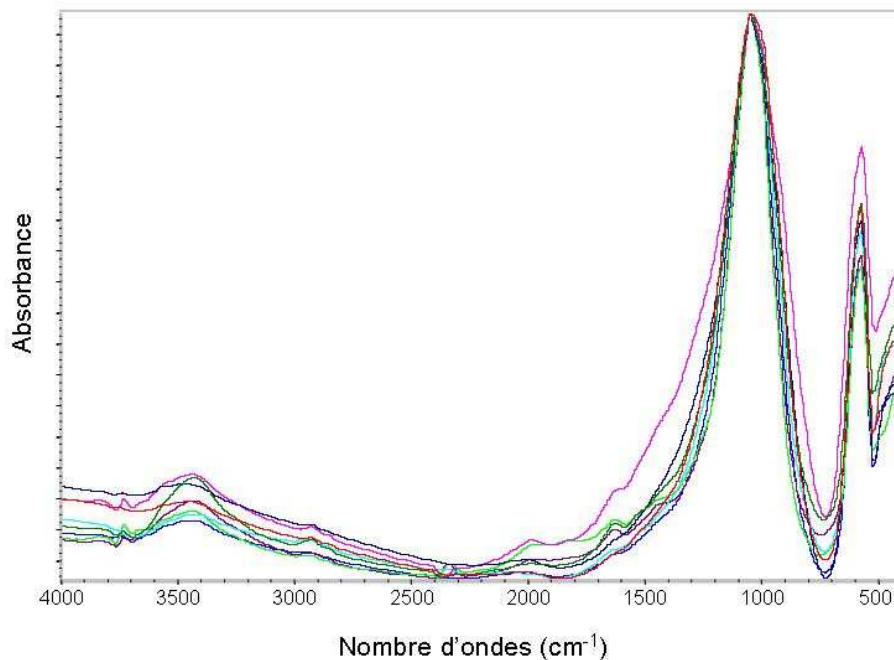


Figure 4.7 : Superposition des spectres FTIR des dépôts d'HA obtenus dans les conditions de l'essai 2

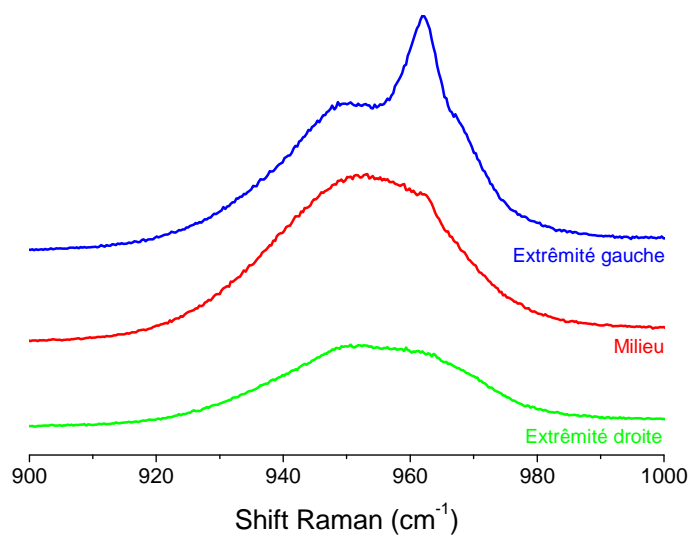


Figure 4.8 : Spectres Raman des 3 zones sur la surface d'un dépôt d'HA obtenu dans les conditions de l'essai 2

V. ESSAI 3 : INFLUENCE DU PRECHAUFFAGE DU SUBSTRAT ET DU TRAITEMENT THERMIQUE POST-PROJECTION EN CONDITION BASSE ENERGIE

Le préchauffage du substrat permet d'éviter une trempe rapide responsable de la formation de la phase amorphe dans le dépôt. Le préchauffage agit en diminuant le gradient thermique particule/substrat lors de l'impact (Wen *et al.* 2000). Parallèlement, plusieurs auteurs ont proposé un post-traitement thermique des dépôts à température modérée afin de favoriser la recristallisation de la phase amorphe (Garcia *et al.* 1998). Cet essai s'intéresse à l'introduction de ces deux étapes associées aux paramètres établis lors de l'essai précédent (essai 2) impliquant également des variations du débit d'argon et d'hydrogène (Tableau 4.4).

Tableau 4.4 : Paramètres de projection plasma de l'essai 3

<i>Référence du dépôt</i>	<i>Tension (A)</i>	<i>H₂ (L/min)</i>	<i>Ar (L/min)</i>	<i>conditions particulières</i>
D1-T3	400	0	50	-
D2-T3	400	0	70	-
D3-T3	400	0	50	préchauffage du substrat à 300°C
D4-T3	400	0	70	préchauffage du substrat à 300°C
D5-T3	400	0	50	préchauffage du substrat à 300°C + recuit à 400 °C
D6-T3	400	0	70	préchauffage à 300°C + recuit à 400 °C
D7-T4	400	0,5	70	traitement thermique post-projection à 400 °C
D8-T4	400	0,5	50	traitement thermique post-projection à 400 °C

Caractérisation physico-chimique des dépôts

Les diagrammes de diffraction de RX des dépôts sont présentés sur la Figure 4.9. Les raies de diffraction observées correspondent en majorité à celles de l'hydroxyapatite. Néanmoins on constate la présence des raies caractéristiques des phases cristallisées de type CaO, TTCP, α et β -TCP, ainsi que celle d'une phase amorphe. On remarque la présence d'une raie à 43° qui varie de façon aléatoire, Il s'agit probablement d'une impureté.

Le préchauffage du substrat diminue l'intensité du halo caractéristique de la phase amorphe (dépôts D3 et D4). Cependant, le traitement thermique post-projection des dépôts et dont les substrats ont été préchauffés, n'apporte aucune amélioration à la composition des phases et n'agit en aucun cas sur l'intensité du halo de la phase amorphe (D5 et D6). Par ailleurs, le traitement thermique seul des dépôts après projection améliore leur état cristallinité. En effet,

on peut noter que les rapports de cristallinité des dépôts D7 et D8 sont deux fois plus élevés que ceux des dépôts D1 et D2 (Tableau 4.5).

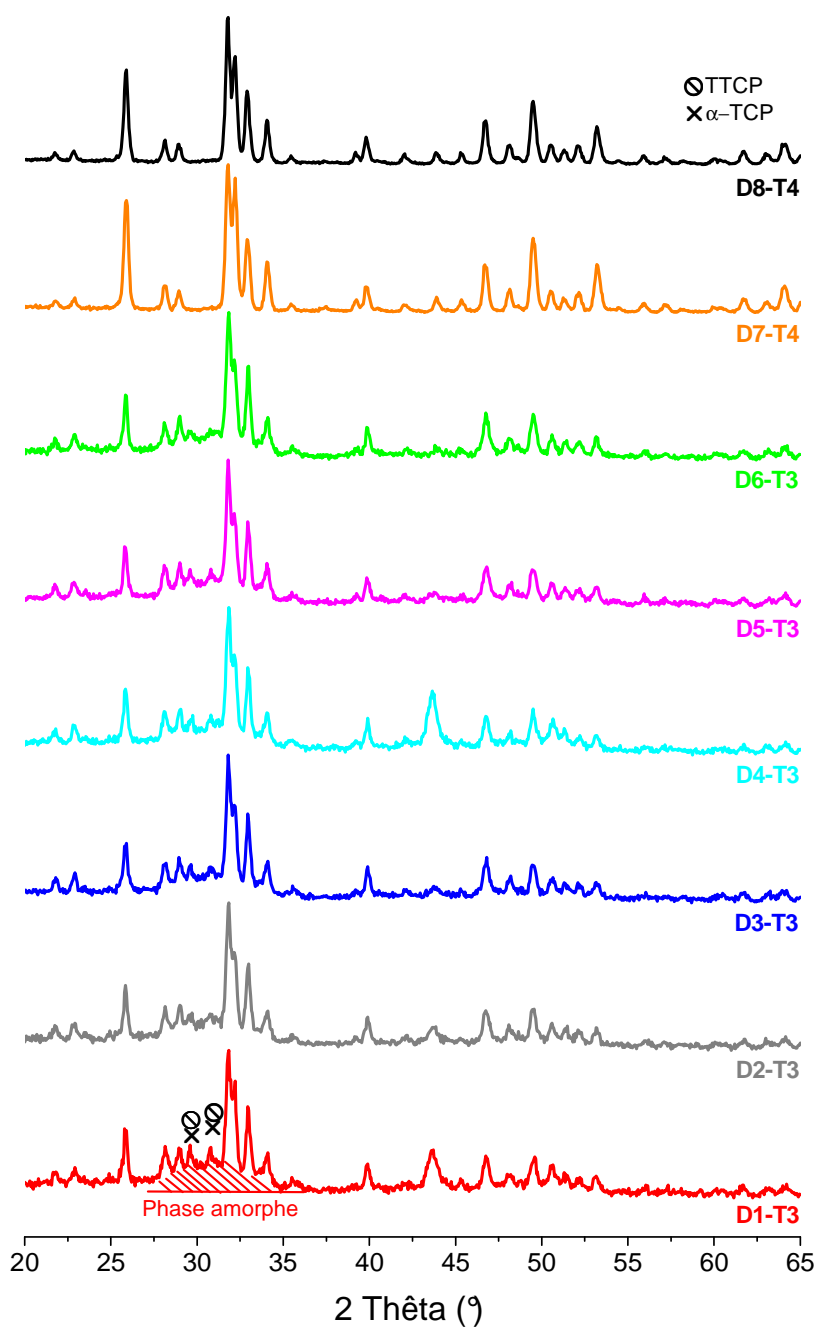


Figure 4.9 : Diagrammes de diffraction X des revêtements d’HA élaborés dans les conditions de l’essai 3 détaillées dans le Tableau 4.4

Tableau 4.5 : Rapports de cristallinité calculés pour l'ensemble des dépôts d'HA obtenus dans les conditions de l'essai 3

	Dépôt D1-T3	Dépôt D2-T3	Dépôt D3-T3	Dépôt D4-T3	Dépôt D5-T3	Dépôt D6-T3	Dépôt D7-T4	Dépôt D8-T4
<i>Rapport de cristallinité (%)</i>	13.33	13.01	17.09	12.71	13.83	14.62	25.96	29.73

Par spectroscopie infrarouge, nous constatons la présence d'une phase oxyapatite suite à l'intensité de la bande $\nu_2\text{PO}_4$ (Figure 4.10). Par ailleurs, l'étude par microspectroscopie Raman de l'inhomogénéité des dépôts de l'essai 3, ne révèle aucune différence significative entre les différentes zones de la surface. On s'est donc intéressé à la décomposition de la bande $\nu_1\text{PO}_4$. Après examen de la figure 4.11, la présence d'une phase oxy-hydroxyapatite est confirmée ainsi qu'une faible proportion de phase amorphe. Cette analyse confirme que le traitement thermique réduit la phase amorphe présente dans le dépôt.

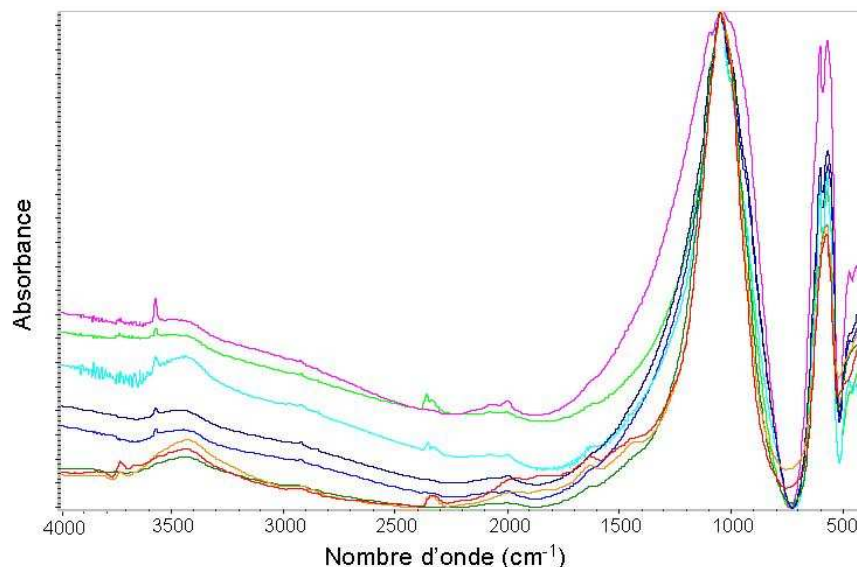


Figure 4.10 : Superposition des spectres d'absorption infrarouge des revêtements d'HA élaborés dans les conditions de l'essai 3

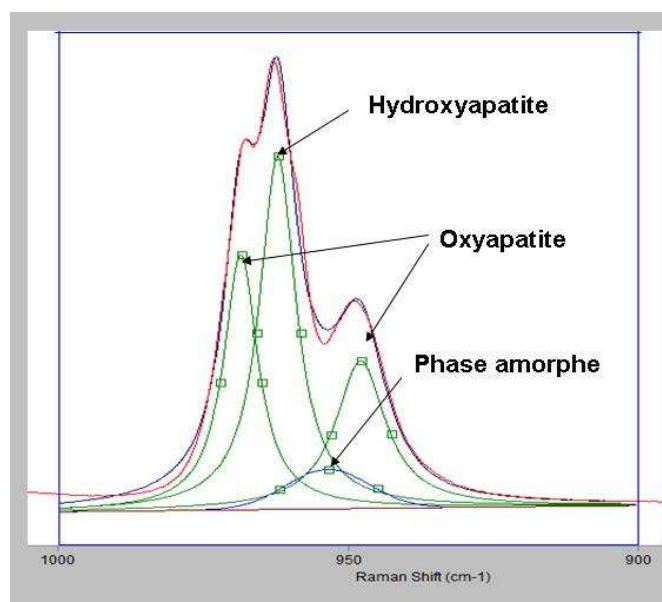


Figure 4.11 : Décomposition du spectre Raman de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ du dépôt d'HA D7-T4 obtenu dans les conditions détaillées dans le Tableau 4.4

Au vue de ces résultats, il semble que le traitement thermique post-projection améliore la cristallinité des dépôts et limiter la présence de phase amorphe.

VI. ESSAI 4 : INFLUENCE DE LA DISTANCE DE TIR EN CONDITION BASSE ENERGIE

Comme décrit précédemment, la microstructure ainsi que la composition du dépôt sont influencées par la distance de tir. En effet, le degré de fusion des particules croît avec la distance de tir (Lu *et al.* 2002). Au cours du quatrième essai, la distance de tir a été réduite à 40 mm par analogie avec la distance de projection utilisée avec la mini-torche basse énergie (*cf. Chapitre 3*). Deux conditions ont été choisies : la condition T5 où l'argon est le seul gaz plasmagène et la condition T6 où on rajoute l'hydrogène avec un débit de 0.5 L/min. Nous avons également employé deux poudres différentes d'HA : l'hydroxyapatite de référence (T87-5080) qui a été utilisée pour l'ensemble de ces travaux de thèse ainsi qu'une poudre commerciale de granulométrie supérieure, comprise entre 80 et 200 μm . Le Tableau 4.6 résume les différentes conditions et paramètres de projection utilisés pour cet essai 4.

Quatre séries de deux dépôts d'HA élaborés à l'aide d'une torche plasma conventionnelle ont été obtenues (Tableau 4.6).

Tableau 4.6 : Paramètres de projection plasma des dépôts d'HA de l'essai 4

	<i>Poudre HA de référence T87-5080</i>		<i>Poudre HA commerciale (80-200 μm)</i>	
	condition (T5)	condition (T6)	condition (T5)	condition (T6)
Argon (L/min)	70	70	70	70
Hydrogène (L/min)	0	0.5	0	0.5
Intensité (A)	420	420	420	420
Distance de tir (mm)	40	40	40	40
Référence des dépôts	D1-T5 D2-T5	D3-T6 D4-T6	D5-T5 D6-T5	D7-T6 D8-T6

Caractérisation physico-chimique des dépôts

Les diagrammes de diffraction des rayons X des huit revêtements réalisés sont présentés sur la Figure 4.12. L'ensemble des diffractogrammes montrent des raies bien fines et bien résolues caractéristiques d'une apatite stoechiométrique bien cristallisée. Néanmoins, on observe la présence des raies caractéristiques du TTCP sur les diagrammes des dépôts D1-T5 et D2-T5. Le Tableau 4.7 regroupe les rapports de cristallinité des dépôts effectués pendant l'essai 4. Les dépôts D3-T6 et D4-T6 présentent un très bon état de cristallinité. Les valeurs du taux de cristallinité calculées pour les dépôts D3-T6 et D4-T6 sont équivalentes à celles des dépôts effectués avec une poudre commerciale (D5-T5, D6-T5, D7-T6 et D8-T6) ou par la mini-torche plasma à basse énergie (*cf. Chapitre 3*).

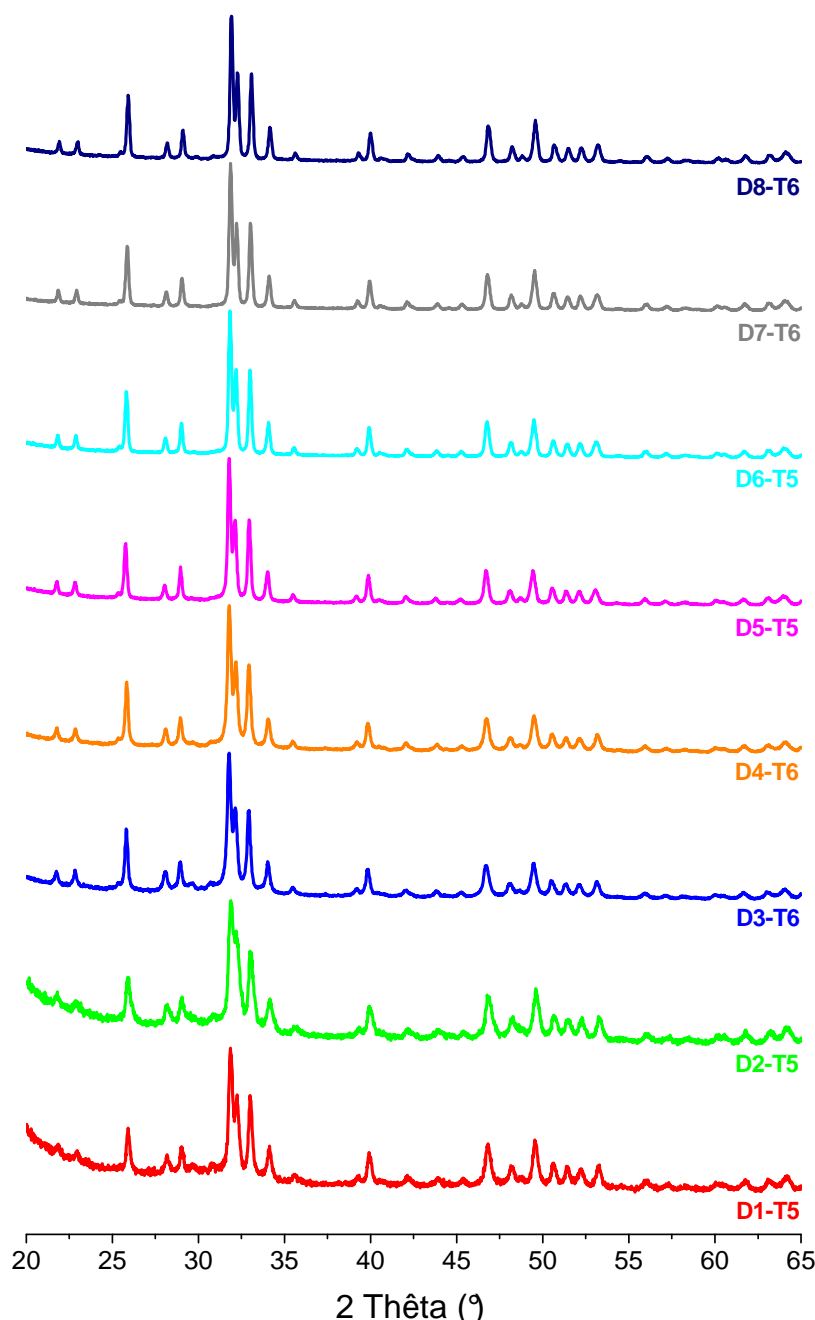


Figure 4.12 : Diagrammes de diffraction des RX des dépôts d’HA élaborés dans les conditions de l’essai 4 reportées dans le Tableau 4.6 (D1 à D4 avec la Poudre HA de référence, D5 à D8 avec Poudre HA commerciale)

Tableau 4.7 : Rapports de cristallinité des dépôts d’HA élaborés dans les conditions de l’essai 4

	Dépôt D1-T5	Dépôt D2-T5	Dépôt D3-T6	Dépôt D4-T6	Dépôt D5-T5	Dépôt D6-T5	Dépôt D7-T6	Dépôt D8-T6
<i>Rapport de cristallinité (%)</i>	45.13	46.10	91.83	99.80	98.05	98.58	98.20	98.81

La Figure 4.13 regroupe les spectres FTIR des échantillons d’HA obtenus dans les conditions de l’essai 4. On note la présence des bandes $\nu_1\text{PO}_4$, $\nu_3\text{PO}_4$, $\nu_2\text{PO}_4$ et $\nu_4\text{PO}_4$ attribuables aux

groupements phosphate dans l'apatite. L'intensité de la bande $\nu_2\text{PO}_4$ confirme la présence d'une phase oxyapatite. Cependant, on remarque une forte intensité de la bande à 3670 cm^{-1} caractéristique des OH.

La Figure 4.14 présente une décomposition d'un spectre Raman relatif au dépôt D4 réalisé dans les conditions T6. On note que la bande est composée en plus de la bande caractéristique des PO_4 dans l'hydroxyapatite, de pics caractéristiques des PO_4 dans l'oxyapatite ainsi qu'une bande caractéristique des PO_4 dans une phase amorphe.

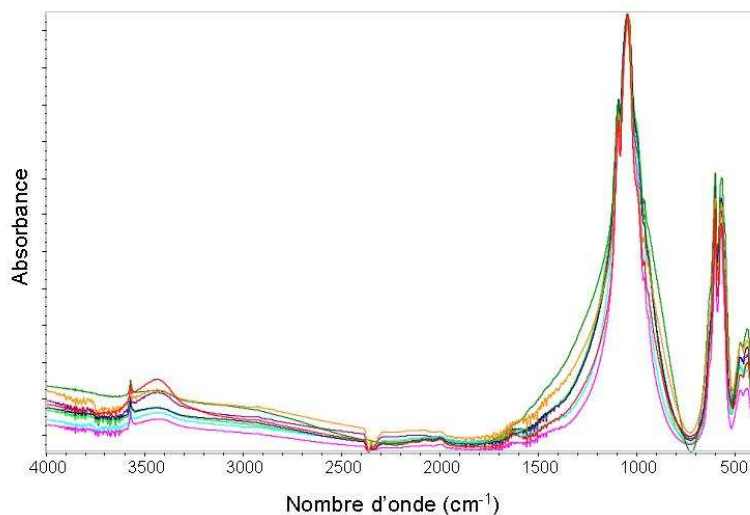


Figure 4.13 : Superpositions des spectres FTIR des revêtements d'HA élaborés dans les conditions de l'essai 4

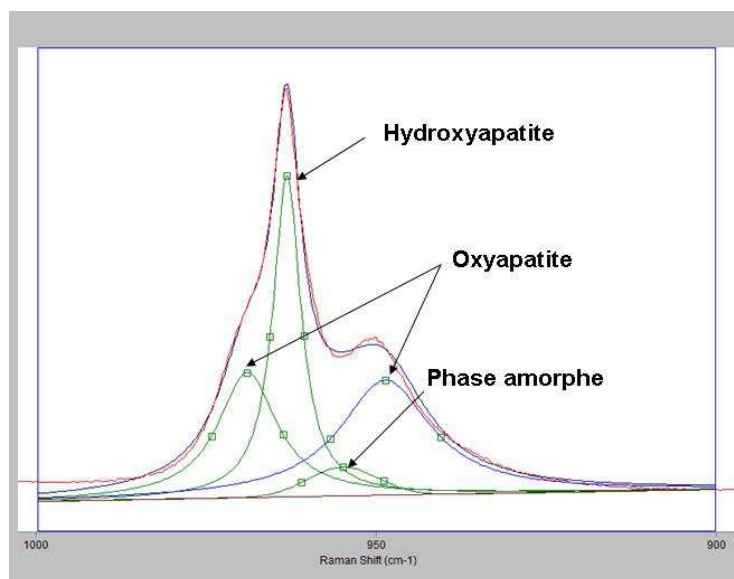


Figure 4.14 : Décomposition de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ du spectre Raman d'un dépôt d'HA (D4-T6) élaboré à partir d'une poudre commerciale et dans les conditions de l'essai 4 (cf. Tableau 4.6)

VII. Conclusion

Les paramètres opératoires relatifs à la projection plasma ont été modifiés pour appréhender leur incidence sur la microstructure et la composition des revêtements réalisés. Quatre séries de recouvrement d'HA par une torche plasma conventionnelle ont été élaborées avec succès en adaptant les paramètres de projection pour un fonctionnement à plus basse énergie. En conclusion, il apparaît que l'effet de distance de tir est significatif sur la cristallinité des dépôts. Les paramètres de la condition T6 de l'essai 4 semblent les plus adéquats pour réaliser des revêtements bien cristallisés exempts de phases étrangères. De ce fait, nous avons donc choisi les paramètres de l'essai 4 pour élaborer dans un premier temps, les revêtements destinés à l'étude de cytotoxicité des dépôts d'HA et de CIA puis dans un deuxième temps, nous avons réalisé des dépôts fins d'HA et de CIA destinés aux essais biologiques *in vivo* avec la torche de projection plasma conventionnelle (*cf. Chapitre 4, VI*).

PARTIE B

Etude de la biocompatibilité des revêtements d'apatites élaborés avec la torche classique dans les conditions basse énergie

Du point de vue expérimental, l'évaluation de la cytocompatibilité est basée sur les mesures quantitatives de trois propriétés biologiques impliquées à l'interface matériau-tissu et en particulier matériau-cellules : la cytotoxicité, l'adhésion et la prolifération cellulaire.

L'étude présentée dans cette partie s'intéresse à la mesure de ces trois propriétés biologiques sur les revêtements d'HA et de CIA élaborés avec la torche plasma classique dans les conditions basse énergie précédemment optimisées (cf. Chapitre 4 partie A).

L'objectif de cette étude est dans un premier temps, d'évaluer *in vitro* la cytocompatibilité de deux types de revêtements d'apatites élaborés à partir des nouveaux paramètres de projection (torche conventionnelle en conditions basse énergie) : les dépôts de chlorapatite, d'une part, et les dépôts fins d'hydroxyapatite, d'autre part, et ce en vue de leur évaluation *in vivo* dans un second temps. Une comparaison du comportement des cellules pré-ostéoblastes, en particulier l'attachement et la prolifération cellulaire, sur les deux types de dépôts testés (dépôts d'hydroxyapatite et de chlorapatite) sera effectuée. Ces études ont été menées en collaboration avec la Société ICELLTIS (Verniolle, 09, France) dirigée par le Docteur Véronique Santran.

I. MATERIAUX ET METHODES

I-1. Préparation des échantillons

Nous avons évalué la biocompatibilité de deux types de revêtements (HA et CIA). Ces revêtements ont été élaborés par projection plasma au sein de la société 2PS (Montbazens, France) à l'aide d'une torche classique mais avec les paramètres de projection déterminés après l'essai 4 en condition basse énergie (cf. partie A, Chapitre 4). Deux types de disques ont été utilisés : des pastilles de 12 mm de diamètre et de 1 mm d'épaisseur, ainsi que des cylindres de 5 x 5 mm.

I-2. Modèle cellulaire

Différents modèles cellulaires d'ostéoblastes peuvent être utilisés dans l'étude de l'interaction cellules/matériaux. Ces cellules peuvent être plus ou moins différenciées et issues d'espèces animales ou humaines différentes. Leur comportement vis-à-vis d'un matériau peut s'avérer cependant différent et il est donc important de déterminer quel type cellulaire utiliser par rapport à l'information recherchée.

Le choix du modèle cellulaire a été porté sur des pré-ostéoblastes d'origine humaine (hOB). Ces pré-ostéoblastes peuvent être obtenus à partir d'explants osseux. Après culture des explants d'os spongieux, l'échantillon cellulaire isolé est composé d'un mélange de cellules plus ou moins engagées vers la voie ostéoblastique, ce qui correspond globalement à la population cellulaire rencontrée lors d'une implantation en site osseux (Oreffo and Triffitt 1999). Ces cellules humaines sont donc prélevées puis cultivées au contact des matériaux à tester. Le milieu nutritif complet est composé de milieu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) de chez Gibco enrichi de sérum de veau fœtal à 20%. Après la culture, les échantillons sont colorés à l'aide d'une solution de rouge neutre puis les voiles cellulaires sont examinés sous une loupe binoculaire et évalués à l'aide d'un système d'analyse d'image.

I-3. Analyse de la cytotoxicité des échantillons

Le potentiel de cytotoxicité directe des échantillons d'HA et de CIA correspond au taux de déshydrogénase lactatique (DHL) libérée par les ostéoblastes dans le milieu de culture pendant les premières 24 heures et 48 heures de contact des cellules avec le dépôt. En effet, la quantité de ces enzymes dans le milieu reflète le niveau de cytotoxicité des échantillons et est exprimée par le pourcentage de l'activité mesurée sur celle de la DHL totale. La mesure est réalisée par dosage spectrophotométrique UV-visible à 490 nm.

I-4. Etude quantitative de l'attachement et de la prolifération des cellules

La prolifération des ostéoblastes est déterminée à l'aide d'une solution de rouge neutre qui permet de colorer les vacuoles. La solution aqueuse est utilisée à 0,5% (p/v) dans du milieu sans rouge phénol.

Ce colorant se fixe sur les sites anioniques de la matrice lysosomiale. Toute diminution de l'incorporation de ce colorant traduit une altération de l'intégrité membranaire et donc une altération de la viabilité des cellules au contact du biomatériau. En plaque de 96 puits, les cellules sontensemencées à haute densité $2 \cdot 10^4$ par cm^2 et amenées à confluence. Puis les cellules sont incubées pendant 3 h à 37°C avec la solution de rouge neutre 0,5 % seule. On

rince avec un tampon phosphate (PBS), puis les cellules sont lysées par addition de 100 µl d'une solution d'acide acétique 1% (v/v) dans l'éthanol à 50% (v/v).

La lecture de la réaction colorimétrique se fait à 540 nm, contre une référence de 630 nm. Tandis que l'adhésion cellulaire est évaluée en mesurant l'activité de l'enzyme N-acetyl β-D hexosaminidase pendant 1, 3 et 7 jours. Les ostéoblastes sont ensemencées en plaque de 24 puits et suivies pour l'adhésion pendant 24, 48 et 72 h. A la fin de chaque période 300 µl de substrat chromogène* est ajouté à chaque puits et incubé pendant 2 h à 37°C. Puis la solution d'arrêt (EDTA 5 mM + glycine 50 mM ; pH 10,4) est ajoutée. La densité optique de la solution est lue en microplaque à la longueur d'onde de 405 nm. La moyenne des valeurs des absorbances lues à partir du test colorimétrique et leurs écart-types sont calculés.

* un substrat chromogène est composé de 7,5 mM de p-nitrophényl N-acétyl b-D hexosaminide + 0,1 M citrate de Na pH 5 + 5% Triton X100.

II. RESULTATS

II-1. Cytotoxicité

Les mesures de cytotoxicité directe ont été effectuées après 24 et 48 heures d'exposition des cellules au contact des disques d'HA et de CIA. La Figure 4.15 présente les résultats des dosages de la DHL. La quantité de DHL libérée est un indicateur de l'endommagement de la membrane cellulaire. L'examen de la Figure 4.15 montre que les deux types de dépôts ne présentent aucune cytotoxicité significative comparée au témoin (plastique de la plaque de culture). Il n'y a pas de différences significatives entre les dépôts testés : la chloruration de l'hydroxyapatite ne semble pas avoir une grande influence sur la biocompatibilité des dépôts.

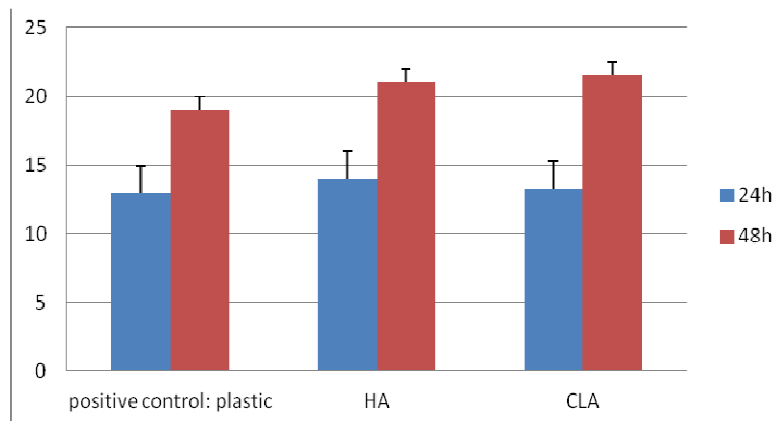


Figure 4.15 : Cytotoxicité des disques d'HA et de CIA

II-2. Détermination de l'attachement et de la prolifération des cellules

Les Figures 4.16 et 4.17 présentent respectivement les résultats de l'étude de l'attachement et de la prolifération des cellules pré-ostéoblastes après l'ensemencement de cellules sur les deux matériaux. La Figure 4.16 présente les résultats du dosage par la solution de rouge neutre et la Figure 4.17 ceux du dosage par le N-acétyl β -D hexosaminidase. Les cellules ont été capables d'adhérer, de se propager et de proliférer sur les disques.

On remarque moins de prolifération sur les échantillons revêtus que sur le témoin (plastique de la boîte de culture), ce qui est généralement observé. Cependant, les valeurs pour les dépôts de chlorapatite et d'hydroxyapatite sont très proches et aucune différence significative n'a été notée.

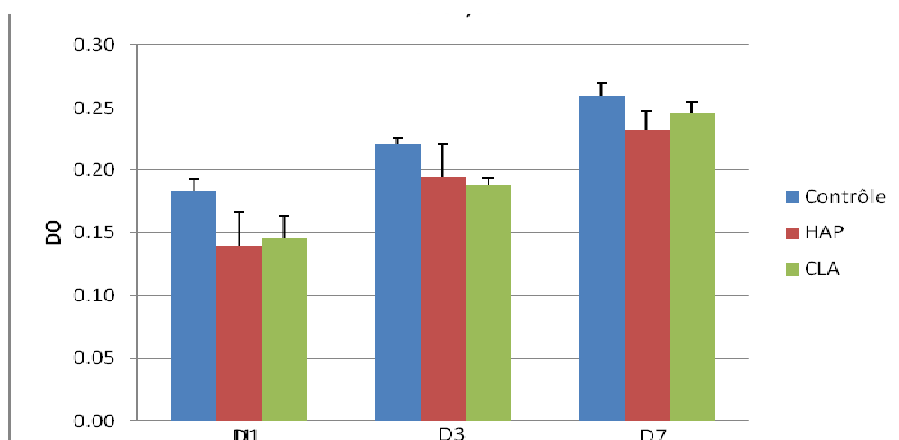


Figure 4.16 : Attachement des hOB sur les revêtements d'HA et de CLA après le test au rouge neutre

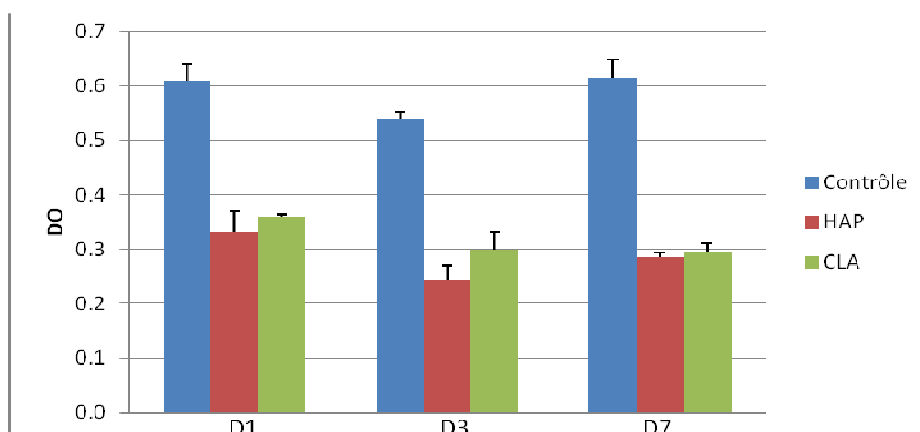


Figure 4.17 : Prolifération des hOB sur les revêtements d'HA et de CLA après le test à la N-acétyl β -D hexosaminidase

III. CONCLUSION

Un revêtement destiné à la régénération osseuse doit être biocompatible pour permettre l'adhésion et la prolifération des cellules. De nombreuses études antérieures ont montré que les biomatériaux à base de phosphates de calcium présentent une bonne bioactivité et une bonne ostéoconductivité (Xu *et al.* 2007; Tamimi *et al.* 2011). Les mesures de libération de DHL par les cellules pré-ostéoblastiques au contact des disques d'HA et de CIA déposées sur un substrat métallique par projection plasma à basse énergie a révélé que les deux types de biomatériaux ne sont pas cytotoxiques par rapport au témoin (plaques de culture).

L'étude de l'adhésion et de la prolifération des cellules sur les biomatériaux étudiés nous renseigne non seulement sur l'interaction cellule/matériau, mais aussi sur le potentiel de la formation subséquente d'une interface mécaniquement stable entre l'implant et le tissu osseux environnant. Suite à l'adhésion initiale des cellules sur les matériaux, un processus séquentiel de prolifération, différenciation, dépôt de matrice et de maturation succède. Ainsi, il est essentiel d'évaluer ces réponses cellulaires surtout pour valider la biocompatibilité d'un matériau tel que la chlorapatite qui n'a jamais été utilisé comme biomatériau de substitution osseuse. Les résultats de ces premiers tests *in vitro* notamment des dépôts de CIA sont prometteurs.

PARTIE C

CONCLUSION ET DESCRIPTION DE L'ETUDE *IN-VIVO*

I. Discussion - conclusion

La microstructure des dépôts est particulièrement sensible aux variables de projection comme nous l'avons vu dans la partie A du présent chapitre. On constate par ailleurs que l'interaction des effets de la basse énergie, de la distance de tir et de l'utilisation de l'argon comme gaz plasmagène agit sur le comportement des poudres pendant la pulvérisation et par conséquent sur la composition finale du dépôt. Ces paramètres paraissent être les plus importants pour obtenir des dépôts minces bien cristallisés avec des poudres fines.

Ces optimisations ont été réalisées dans le cadre du transfert industriel vers l'utilisation d'une torche plasma basse énergie pour réaliser des revêtements minces sur des implants de petites tailles (type implants dentaires). D'autre part, le procédé de revêtement est simple et peu coûteux. Une étude menée par la société 2PS en parallèle à nos essais, a conclu que ce nouveau système de projection basse énergie permet de doubler le rendement en poudres. Ce rendement est basé sur le rapport massique entre la poudre qui a formé le dépôt et la poudre totale projetée. Le rendement de projection plasma est souvent très faible (autour de 20 %), or avec l'optimisation de la torche plasma basse énergie, il passe à plus de 50 %.

Le procédé de recouvrement par projection plasma à basse énergie paraît donc utilisable industriellement et présente un intérêt. Afin de confirmer la biocompatibilité et d'évaluer le potentiel ostéoconducteur des biomatériaux réalisés et caractérisés au cours de ce travail, nous avons lancé une étude *in vivo* chez le mouton (brebis) en collaboration avec deux autres partenaires du projet Nanomed2 : le Laboratoire de Chirurgie Expérimentale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (Dr. Didier MATHON ; Implantations *in vivo*) et le Laboratoire d'Anatomie Pathologique et Histologie-Cytologie du CHU de Rangueil à Toulouse (Dr Anne BROUCHET-GOMEZ ; Etude histologique).

Etant donné que le traitement des données est en cours, il est trop tôt pour exposer les résultats de cette étude *in vivo* chez le gros animal dans ce mémoire. Cependant, nous nous proposons de donner un résumé de la démarche suivie ainsi que les premières observations visuelles après explantation.

II. Description de l'étude *in vivo* chez le mouton

II-1. Préparation des implants

Nous avons réalisé des revêtements d'HA et de CIA sur des implants en titane (T40) préalablement sablés et nettoyés. Les implants sont des cylindres de 6 mm de diamètre et 10 mm de long avec un filetage compris entre 3 et 5 mm (Figure 4.18) pour faciliter leur manipulation. Trois types d'échantillons ont été implantés : des cylindres revêtus de chlorapatite, d'hydroxyapatite ainsi que des implants sablés sans revêtement (témoins). Les implants ont ensuite été stérilisés par rayonnement gamma avant utilisation.



Figure 4.18 : Photographie des implants placés dans le fémur et l'humérus des brebis lors des implantations

II-2. Procédure d'implantation

Nos échantillons ont été implantés en sites intra-osseux (les deux fémurs et les deux humérus) à raison de deux implants par site osseux et cinq animaux par implantation, soit 8 implants par brebis et 80 implants au total. Les opérations chirurgicales ont été effectuées par le Dr. Didier MATHON du Laboratoire de Chirurgie Expérimentale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse partenaire du projet Nanomed2.

Les brebis ont été anesthésiées par voie veineuse puis l'animal est connecté à une machine d'anesthésie qui assure l'entretien de l'anesthésie par inhalation. Les zones chirurgicales sont par la suite préparées et désinfectées (Figure 4.19). Un seul témoin est implanté par mouton. De ce fait, on a implanté sur la moitié des brebis : 4 implants revêtus d'HA et 3 implants revêtus de CIA puis 4 implants revêtus de CIA et 3 implants revêtus d'HA sur la deuxième moitié. Les étapes du déroulement de la procédure chirurgicale d'implantation sont illustrées par les photographies présentées sur la Figure 4.20. Deux temps d'implantation ont été choisis : 2 et 6 mois.



Figure 4.19 : Photographie d'un site d'implantation des matériaux revêtus d'HA et de CIA

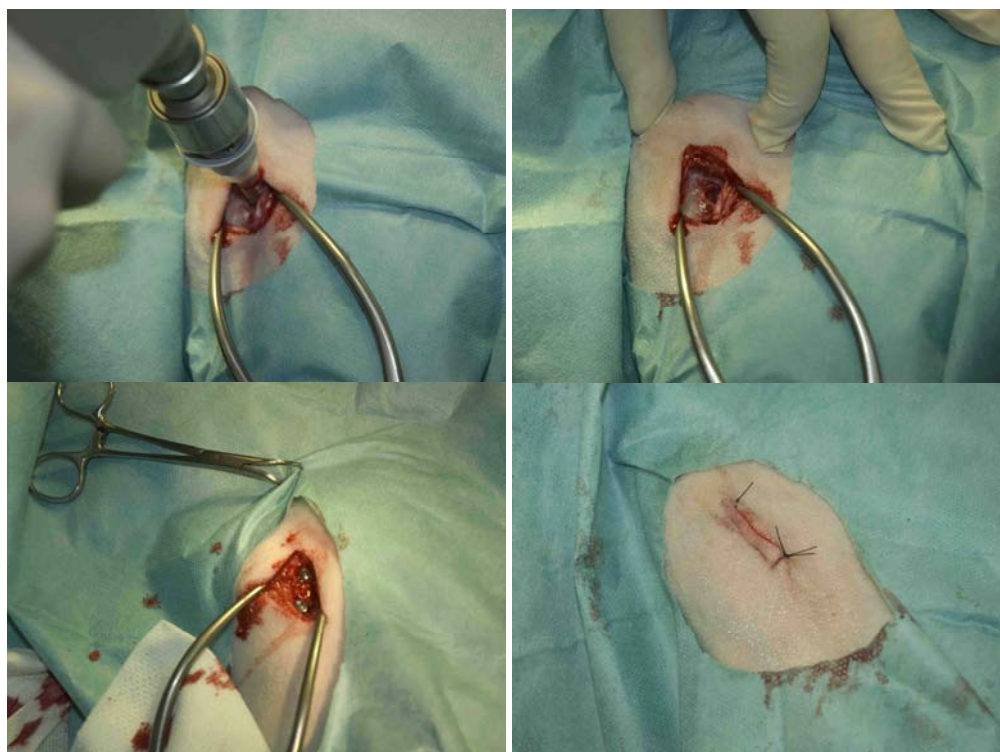


Figure 4.20 : Etapes de l'implantation chirurgicale

II-3. Observations générales

Après l'achèvement du temps d'implantation prévu (2 mois et 6 mois), les brebis ont été euthanasiées par overdose de thiopental et les échantillons ont été extraits immédiatement puis conservés dans une solution d'éthanol avant l'étude histologique (Figure 4.21).

Les explants ont été par la suite transférés au Laboratoire d'Anatomie Pathologique et Histologie-Cytologie de l'Hôpital de Ranguel pour inclusion en résine et étude histologique.



Figure 4.21 : Extraction et conservation des explants

Etant donné la faible quantité des données traitées à l'heure actuelle, nous ne pouvons pas conclure sur le potentiel ostéoconducteur de la chlorapatite vis-à-vis de l'hydroxyapatite. Cependant, on peut noter qu'aucun problème majeur n'est survenu ni au cours de l'opération ni durant les périodes d'implantation. On remarque également que les implants semblent parfaitement intégrés dans l'os du site (Figure 4.21).

Conclusion générale

Ce travail de thèse est basé sur une problématique industrielle, portant sur l'amélioration de la projection plasma d'apatites pour le revêtement de prothèses osseuses. Cette technique est maintenant vieille d'une trentaine d'années et elle a subi peu de modifications depuis les premières réalisations. Notre objectif était, d'une part, d'accroître la précision et la mise en œuvre du procédé tout en diminuant les coûts d'investissement et de fonctionnement et, d'autre part, d'explorer l'utilisation d'autres compositions chimiques de dépôts susceptibles de présenter de meilleures propriétés biologiques. Dans le cadre du projet Nanomed2, nos travaux de recherche ont porté sur l'amélioration des différents paramètres pouvant affecter la microstructure ainsi que la stabilité chimique et mécanique des revêtements plasma. En parallèle, le développement du nouveau système de projection plasma à basse énergie par nos partenaires industriels a permis de réaliser des dépôts minces sur des implants de petites tailles et qui peuvent avoir des géométries complexes. Les paramètres de projection plasma de ce nouveau procédé ont été optimisés afin de limiter la décomposition de la poudre d'apatite pendant la projection.

Dans la première partie de ce travail, nous avons synthétisé des apatites phosphocalciques présentant une meilleure stabilité thermique par rapport à l'hydroxyapatite. L'élaboration de ces apatites avait pour objectif une application potentielle comme matériaux bioactifs de recouvrement pour prothèses orthopédiques et dentaires par projection plasma à basse énergie. Nous avons tout d'abord effectué des synthèses d'apatites par réactions gaz-solide (fluorapatite et chlorapatite), par co-précipitation en solution (fluorhydroxyapatite-50) et par réaction solide-solide (chlorapatites calcostrontiques). Les apatites obtenues sont stoechiométriques et minéralogiquement pures..

Dans un deuxième temps, nous avons évalué le comportement des apatites synthétisées à haute température par analyse thermogravimétrique couplée à la spectroscopie d'absorption infrarouge. Cette étude a confirmé la stabilité thermique de la chlorapatite, de la fluorhydroxyapatite ainsi que de chlorapatites calcostrontiques..Des contraintes financières nous ont conduit à choisir parmi ces compositions la chlorapatite pour la réalisation de revêtements minces par la MTBE. Parmi les critères qui ont guidé notre choix, outre le comportement thermique intéressant de cette apatite, nous avons retenu la facilité de préparation à partir de produits déjà industrialisés, l'absence de pollution et de toxicité liée à sa préparation, l'originalité et les caractéristiques du dépôt obtenu.

Dans la seconde partie de ce manuscrit, nous nous sommes intéressés à la caractérisation physico-chimique et mécanique des revêtements d'HA et de CIA élaborés à l'aide du nouveau système de projection par mini-torche à basse énergie (MTBE). Le bilan de l'ensemble de ces résultats montre que les dépôts possèdent un rapport Ca/P égal à 1.67 et ne contiennent pas de

Conclusion générale

phases étrangères (TCP, TTCP et CaO) qui sont en général rencontrées dans les dépôts d'HA obtenus par projection plasma classique.

Par ailleurs, nous avons constaté que les dépôts à base de chlorapatite se distinguent par une cristallinité très proche de celle de la poudre initiale, ce qui reflète la faible quantité de phase amorphe présente dans le dépôt. La présence d'une phase oxyapatite a été signalée par spectroscopie FTIR. Cependant, l'étude menée par micro-spectroscopie Raman a confirmé la présence d'une phase amorphe et d'une phase oxy-chlorapatite. Nous nous sommes particulièrement intéressés à cette technique qui pourrait potentiellement permettre de caractériser individuellement chaque prothèse en raison de sa sensibilité et de sa rapidité de mise en œuvre. Les régulations de plus en plus contraignantes tendent en effet à favoriser la caractérisation individuelle des dispositifs médicaux plutôt que les caractérisations par échantillonnage de lots. Nous avons défini une méthode de décomposition semi-quantitative des spectres Raman qui permet de déterminer notamment le taux des phases oxyapatite et amorphe présentes dans le revêtement : ces paramètres sont actuellement ignorés par les procédures normalisées de caractérisation. Les résultats montrent que le taux de phase amorphe dans les dépôts de CIA est négligeable tandis qu'il décroît avec l'épaisseur des dépôts d'HA.

Parallèlement, notre travail a contribué à l'étude structurale de l'interface dépôt/implant par le biais de la cartographie Raman. Cette analyse nous a permis de déceler l'état de cristallinité des grains formés lors de la pulvérisation plasma. De plus, les essais de dissolution et les tests d'adhérence mécanique ont montré que les dépôts réalisés à basse énergie résistaient efficacement à la dégradation en solution et à l'arrachement. Les dépôts à base de chlorapatite ont été capables de former *in vitro* une couche d'apatite carbonatée mal cristallisée lors de leur immersion dans une SBF durant 4 semaines à 37°C ; il est à noter que ce test normalisé est souvent considéré comme indicatif de l'activité biologique d'un biomatériau à visée orthopédique.

Enfin, les résultats prometteurs obtenus pour la chlorapatite nous ont amené à proposer un transfert industriel de ce type de revêtement en collaboration avec la société 2PS (Montbazens, France). Celle-ci a décidé d'adapter sa torche plasma conventionnelle aux conditions de projection à basse énergie requises pour le fonctionnement de la mini-torche (MTBE). Une optimisation des paramètres a été effectuée en se basant sur la réduction de l'énergie de la torche, la diminution de la distance de tir et la composition du gaz plasmagène. Ces paramètres ont permis de réaliser des dépôts fins ayant une cristallinité équivalente à celle des dépôts obtenus par MTBE et sans présence de phase étrangère. Les études biologiques menées *in vitro* sur ces implants au contact de cellules pré-ostéoblastes n'a révélé aucune

Conclusion générale

cytotoxicité de ces implants. Les résultats de l'adhésion et de la prolifération des cellules sur les dépôts de CIA sont comparables à ceux obtenus pour les dépôts d'hydroxyapatite. Les études *in vivo* sont en cours de traitement, néanmoins les premières observations montrent l'absence d'effets délétères.

Enfin le procédé de projection plasma à basse énergie utilisé dans ce travail présente l'avantage de permettre la réalisation de revêtements fins adhérents et sur des implants de petites tailles.

Parmi les perspectives à l'issue de ces travaux de thèse, il serait intéressant d'évaluer le potentiel ostéoinducteur de la chlorapatite.

Un autre développement intéressant concernerait l'étude de chlorapatites strontiées. Le strontium présente en effet une activité biologique avérée sur les cellules osseuses et ces dépôts pourraient éventuellement élargir le domaine d'utilisation des prothèses revêtues à des patients ostéoporotiques. Toutefois le développement de ce type de dépôts, revendiquant une activité thérapeutique, nécessiterait des études cliniques fouillées et une enveloppe budgétaire de quelques millions d'euros.

Liste des publications et communications issues de ce projet

Publications :

Hydroxyapatite coating on titanium by a low energy plasma spraying mini-gun

I. Demnati, M. Parco, D. Grossin, I. Fagoaga, C. Drouet, G. Barykin, C. Combes, I. Braceras, S. Gonçalves, C. Rey ; **Journal of Surface and coatings technology**
(doi: 10.1016/j.surfcoat.2011.10.025)

Plasma sprayed apatite coatings: review of physical-chemical aspects and their biological consequences (publication soumise)

I. Demnati, D. Grossin, C. Combes, C. Rey ; **Journal of medical and biological engineering**

2 publications en cours de rédaction

Communications orales avec textes étendus :

Bioactive plasma-sprayed chlorapatite coatings for dental implant applications

I. DEMNATI, D. GROSSIN, C. COMBES, C. REY.

EUROMAT 2011 Montpellier, France (Septembre 2011) **Présentation sélectionnée pour soumettre une publication au journal *Biomedical Materials***

Chlorapatite coated titanium dental implants: an alternative to Hydroxyapatite

I. DEMNATI, D. GROSSIN, V. SANTRAN, G. COLONGES, C. COMBES, C. REY.

SFBD 2011 Toulouse, France (Juin 2011)

Phase and structural investigations on plasma mini-torch thin coatings

I. DEMNATI, M. PARCO, D. GROSSIN, I. FAGOAGA, C. DROUET, G. BARYKIN, C. COMBES, I. BRACERAS, S. GONCALVES, C. REY.

Matériaux 2010 Nantes, France (Octobre 2010)

Hydroxyapatite and Chlorapatite thin coatings obtained by a novel plasma mini torch process

I. DEMNATI, M. PARCO, D. GROSSIN, I. FAGOAGA, C. DROUET, G. BARYKIN, C. COMBES, I. BRACERAS, S. GONCALVES, C. REY.

CIMTEC – Montecatini Terme – Italie (Juin 2010)

Characterization of Hydroxyapatite and Chlorapatite plasma-sprayed coatings obtained by a new low energy mini torch

I. DEMNATI, M. PARCO, D. GROSSIN, I. FAGOAGA, C. DROUET, G. BARYKIN, C. COMBES, I. BRACERAS, S. GONCALVES, C. REY.

Journées Annuelles de la SF2M - Rennes - France (Juin 2009)

Communications par affiches :

Thermal analysis assesses the hydroxyl concentration in Hydroxyapatite

K. GROSS, L. PLUDUMA, **I. DEMNATI**, D. GROSSIN, L. BERZINA-CIMDINA, C. REY
23rd European Conference on Biomaterials, Tampere - Finland (Septembre 2010)

Références bibliographique

Elaborations et caractérisations de matériaux pour la santé

A. AL-KATTAN, S. TADIER, **I. DEMNATI**, D. GROSSIN, C. COMBES, C. REY, S. SARDA, C. DROUET

1^{ère} rencontre de la plateforme de Galénique Avancée GALA, Castres - France (*Décembre 2009*).

Références bibliographiques

- Al Kattan, A., F. Errassifi, A. M. Sautereau, S. Sarda, P. Dufour, A. Barroug, I. Dos Santos, C. Combes, D. Grossin and C. Rey (2010). "Medical Potentialities of Biomimetic Apatites through Adsorption, Ionic Substitution, and Mineral/Organic Associations: Three Illustrative Examples." *Advanced Engineering Materials* 12(7): B224-B233.
- Albrektsson, T., P. I. Brånemark, H. A. Hansson and J. Lindström (1981). "Osseointegrated titanium implants: Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man." *Acta Orthopaedica* 52(2): 155-170.
- Albrektsson, T., G. Zarb, P. Worthington and A. Eriksson (1986). "The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success." *Int J Oral Maxillofac Implants* 1(1): 11-25.
- Allen, G., E. Ciliberto, I. Fragal and G. Spoto (1996). "Surface and bulk study of calcium phosphate bioceramics obtained by Metal Organic Chemical Vapor Deposition." *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 116(1-4): 457-460.
- Amrah-Bouali, S. (1993). "Etude de la fluoruration gazeuse et aqueuse de l'hydroxyapatite."
- Amstutz, H. C. and P. Grigoris (1996). "Metal on metal bearings in hip arthroplasty." *Clinical orthopaedics and related research* 329: S11.
- Andreas, G. N., Z. Albert, S. Ulrike and G. H. Hjalmar (2000). "Ancient Egyptian prosthesis of the big toe." *The Lancet* 356(9248): 2176-2179.
- Autefage, H., F. Briand-Mesange, S. Cazalbou, C. Drouet, D. Fourmy, S. Goncalves, J. P. Salles, C. Combes, P. Swider and C. Rey (2009). "Adsorption and release of BMP-2 on nanocrystalline apatite-coated and uncoated hydroxyapatite/beta-tricalcium phosphate porous ceramics." *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 91(2): 706-715.
- Baeri, P., L. Torrisi, N. Marino and G. Foti (1992). "Ablation of hydroxyapatite by pulsed laser irradiation." *Applied Surface Science* 54: 210-214.
- Barabás, R., E. Sára Bogya, V. Roxana Dejeu, L. Bizo, C. G. Aneziris, T. Kratschmer and P. Schmutz "Fluorhydroxyapatite Coatings Obtained by Flame Spraying Deposition." *International Journal of Applied Ceramic Technology*.
- Barabás, R., E. Sára Bogya, V. Roxana Dejeu, L. Bizo, C. G. Aneziris, T. Kratschmer and P. Schmutz (2011). "Fluorhydroxyapatite Coatings Obtained by Flame-Spraying Deposition." *International Journal of Applied Ceramic Technology* 8(3): 566-571.
- Barykin, G. (2008). (EN) THERMAL SPRAYING METHOD AND DEVICE, WO Patent WO/2008/000,851.
- Benhayoune, H., P. Laquerriere, E. Jallot, A. Perchet, L. Kilian, G. Balossier, J. Bubendorff and G. Sockalingum (2002). "Micrometer level structural and chemical evaluation of electrodeposited calcium phosphate coatings on TA6V substrate by STEM-EDXS." *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 13(11): 1057-1063.
- Betts, F. and A. Posner (1974). "A structural model for amorphous calcium phosphate." *Trans Am Cryst Assoc* 10: 73-84.
- Betts, F. and A. Posner (1974). "An x-ray radial distribution study of amorphous calcium phosphate." *Materials Research Bulletin* 9(3): 353-360.
- Bhadang, K. and K. Gross (2004). "Influence of fluorapatite on the properties of thermally sprayed hydroxyapatite coatings." *Biomaterials* 25(20): 4935-4945.

Références bibliographique

- Bhadang, K. A. and K. A. Gross (2004). "Influence of fluorapatite on the properties of thermally sprayed hydroxyapatite coatings." *Biomaterials* 25(20): 4935-4945.
- Bohner, M., U. Gbureck and J. Barralet (2005). "Technological issues for the development of more efficient calcium phosphate bone cements: a critical assessment." *Biomaterials* 26(33): 6423-6429.
- Borsa, R. N. (2008). "Elaboration de poudres et de dépôts de phosphates de calcium silicatés à usage de biomatériaux."
- Brånemark, P. I., U. Breine, R. Adell, B. Hansson, J. Lindström and Å. Ohlsson (1969). "Intra-osseous anchorage of dental prostheses: I. Experimental studies." *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery* 3(2): 81-100.
- Bres, E., J. Voegel and R. Frank (1990). "High-resolution electron microscopy of human enamel crystals." *Journal of microscopy* 160(Pt 2): 183.
- Bull, S. (2006). "An overview of the potential of quantitative coating adhesion measurement by scratch testing*." *Tribology and Interface Engineering Series* 51: 136-165.
- Bull, S. and D. Rickerby (1990). "New developments in the modelling of the hardness and scratch adhesion of thin films* 1." *Surface and Coatings Technology* 42(2): 149-164.
- Buser, D., R. Schenk, S. Steinemann, J. Fiorellini, C. Fox and H. Stich (1991). "Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs." *Journal of Biomedical Materials Research* 25(7): 889-902.
- Carayon, M. and J. Lacout (2003). "Study of the Ca/P atomic ratio of the amorphous phase in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings." *Journal of Solid State Chemistry* 172(2): 339-350.
- Carr, A. B., P. E. Larsen, E. Papazoglou and E. McGlumphy (1995). "Reverse torque failure of screw-shaped implants in baboons: baseline data for abutment torque application." *The International journal of oral & maxillofacial implants* 10(2): 167.
- Caulier, H., T. Hayakawa, I. Naert, J. P. C. M. VAN DER WAERDEN, J. G. C. WOLKE and J. Jansen (1997). "An animal study on the bone behaviour of Ca-P-coated implants: influence of implant location." *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 8(9): 531-536.
- Cazalbou, S., D. Eichert, C. Drouet, C. Combes and C. Rey (2004). "Minéralisations biologiques à base de phosphate de calcium." *Comptes Rendus Palevol* 3(6-7): 563-572.
- Cazalbou, S., D. Eichert, X. Ranz, C. Drouet, C. Combes, M. F. Harmand and C. Rey (2005). "Ion exchanges in apatites for biomedical application." *J Mater Sci Mater Med* 16(5): 405-409.
- Chai, C. and B. Ben-Nissan (1999). "Bioactive nanocrystalline sol-gel hydroxyapatite coatings." *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 10(8): 465-469.
- Chalker, P., S. Bull and D. Rickerby (1991). "A review of the methods for the evaluation of coating-substrate adhesion." *Materials Science and Engineering: A* 140: 583-592.
- Charlot, G. (1974). *Chimie analytique quantitative*, Masson Paris.
- Cheang, P. and K. Khor (1996). "Addressing processing problems associated with plasma spraying of hydroxyapatite coatings* 1." *Biomaterials* 17(5): 537-544.

- Christoffersen, M., J. Christoffersen and J. Arends (1984). "Kinetics of dissolution of calcium hydroxyapatite:: VII. The effect of fluoride ions." *Journal of crystal growth* 67(1): 107-114.
- Cleries, L., E. Martinez, J. Fernandez-Pradas, G. Sardin, J. Esteve and J. Morenza (2000). "Mechanical properties of calcium phosphate coatings deposited by laser ablation." *Biomaterials* 21(9): 967-971.
- Cochrane, H., K. Orsi and P. Reilly (2001). "Lower limb amputation Part 3: Prosthetics-a 10 year literature review." *Prosthetics and Orthotics International* 25(1): 21-28.
- Combes, C., R. Bareille and C. Rey (2006). "Calcium carbonate-calcium phosphate mixed cement compositions for bone reconstruction." *J Biomed Mater Res A* 79(2): 318-328.
- Cook, S. D., J. F. Kay, K. A. Thomas and M. Jarcho (1987). "Interface mechanics and histology of titanium and hydroxylapatite-coated titanium for dental implant applications." *Int J Oral Maxillofac Implants* 2(1): 15-22.
- Cotell, C. M., D. B. Chrisey, K. S. Grabowski, J. A. Sprague and C. R. Gossett (1992). "Pulsed laser deposition of hydroxylapatite thin films on Ti 6Al 4V." *Journal of Applied Biomaterials* 3(2): 87-93.
- Daculsi, G., P. Weiss, J. M. Bouler, O. Gauthier, F. Millot and E. Aguado (1999). "Biphasic calcium phosphate/hydrosoluble polymer composites: a new concept for bone and dental substitution biomaterials." *Bone* 25(2): 59S-61S.
- Darr, J., Z. Guo, V. Raman, M. Bououdina and I. Rehman (2004). "Metal organic chemical vapour deposition (MOCVD) of bone mineral like carbonated hydroxyapatite coatings." *Chemical communications* 2004(6): 696-697.
- De Groot, K., R. Geesink, C. Klein and P. Serekian (1987). "Plasma sprayed coatings of hydroxylapatite." *Journal of biomedical materials research* 21(12): 1375-1381.
- De Groot, K., C. Klein, J. Wolke and J. de Blicke-Hogervorst (1990). "CRC Handbook of Bioactive Ceramics." edited by T. Yamamure, LL Hench, and J. Wilson, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida 2: 3-16.
- Dean, C. (2006). "Tooth microstructure tracks the pace of human life-history evolution." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273(1603): 2799.
- Deram, V., C. Minichiello, R. N. Vannier, A. Le Maguer, L. Pawlowski and D. Murano (2003). "Microstructural characterizations of plasma sprayed hydroxyapatite coatings." *Surface and Coatings Technology* 166(2-3): 153-159.
- Dorozhkin, S. V. and M. Epple (2002). "Biological and medical significance of calcium phosphates." *Angewandte Chemie International Edition* 41(17): 3130-3146.
- Ducheyne, P., S. Radin, M. Heughebaert and J. Heughebaert (1990). "Calcium phosphate ceramic coatings on porous titanium: effect of structure and composition on electrophoretic deposition, vacuum sintering and in vitro dissolution." *Biomaterials* 11(4): 244-254.
- Ducheyne, P., W. Van Raemdonck, J. Heughebaert and M. Heughebaert (1986). "Structural analysis of hydroxyapatite coatings on titanium." *Biomaterials* 7(2): 97-103.
- Eanes, E., J. Termine and M. Nylen (1973). "An electron microscopic study of the formation of amorphous calcium phosphate and its transformation to crystalline apatite." *Calcified tissue international* 12(1): 143-158.

Références bibliographique

- Eichert, D., C. Drouet, H. Sfihi, C. Rey and C. Combes (2008). "Nanocrystalline apatite-based biomaterials: synthesis, processing and characterization." *Biomaterials Research Advances*: 93.
- Elliott, J. C. (1994). *Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates*, Elsevier.
- Emsley, J. (1993). *Les éléments chimiques*.
- Esposito, M., J. M. Hirsch, U. Lekholm and P. Thomsen (1998). "Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants,(II). Etiopathogenesis." *European Journal of Oral Sciences* 106(3): 721-764.
- Farley, J. R., J. E. Wergedal and D. J. Baylink (1983). "Fluoride directly stimulates proliferation and alkaline phosphatase activity of bone-forming cells." *Science* 222(4621): 330.
- Fernandez, E., F. Gil, M. Ginebra, F. Driessens, J. Planell and S. Best (1999). "Calcium phosphate bone cements for clinical applications. Part I: solution chemistry." *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 10(3): 169-176.
- Fernandez, E., F. Gil, M. Ginebra, F. Driessens, J. Planell and S. Best (1999). "Calcium phosphate bone cements for clinical applications. Part II: precipitate formation during setting reactions." *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 10(3): 177-183.
- Freund, F. and R. M. Knobel (1977). "Distribution of fluorine in hydroxyapatite studied by infrared spectroscopy." *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*(11): 1136-1140.
- Fujino, O. (1975). "The Coprecipitation of Strontium with Hydroxyapatite." *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 48(5): 1455-1458.
- Furlong, R. and J. Osborn (1991). "Fixation of hip prostheses by hydroxyapatite ceramic coatings." *Journal of Bone and Joint Surgery-British Volume* 73(5): 741.
- Garcia, F., J. Arias, B. Mayor, J. Pou, I. Rehman, J. Knowles, S. Best, B. Leon, M. Pérez Amor and W. Bonfield (1998). "Effect of heat treatment on pulsed laser deposited amorphous calcium phosphate coatings." *Journal of Biomedical Materials Research* 43(1): 69-76.
- Geesink, R. (1989). "Experimental and clinical experience with hydroxyapatite-coated hip implants." *Orthopedics* 12(9): 1239.
- Gineste, L., M. Gineste, X. Ranz, A. Ellefterion, A. Guilhem, N. Rouquet and P. Frayssinet (1999). "Degradation of hydroxylapatite, fluorapatite, and fluorhydroxyapatite coatings of dental implants in dogs." *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 48(3): 224-234.
- Glimcher, M. J. (1989). "Mechanism of calcification: Role of collagen fibrils and collagen phosphoprotein complexes in vitro and in vivo." *The Anatomical Record* 224(2): 139-153.
- Gross, K. and A. Kovalevskis (1996). "Mold manufacture with plasma spraying." *Journal of thermal spray technology* 5(4): 469-475.
- Gross, K. A. and C. Berndt (1991). "Optimization of spraying parameters for hydroxyapatite."

- Gross, K. A., C. Berndt and H. Herman (1998). "Amorphous phase formation in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings." *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 39(3): 407-414.
- Gross, K. A. and C. C. Berndt (1998). "Thermal processing of hydroxyapatite for coating production." *Journal of biomedical materials research* 39(4): 580-587.
- Gross, K. A., C. C. Berndt, P. Stephens and R. Dinnebier (1998). "Oxyapatite in hydroxyapatite coatings." *Journal of materials science* 33(15): 3985-3991.
- Grundschober, F., G. Kellner, J. Eschberger and H. Plenk Jr (1980). "Long term osseous anchorage of endosseous dental implants made of tantalum and titanium." *Biomaterials*: 365-370.
- Guida, A., M. Towler, J. Wall, R. Hill and S. Eramo (2003). "Preliminary work on the antibacterial effect of strontium in glass ionomer cements." *Journal of materials science letters* 22(20): 1401-1403.
- Hamad, M. (1980). Contribution à l'étude d'un mécanisme réactionnel d'une synthèse de la fluorapatite, chimie des matériaux: Toulouse.
- Heijligers, H. J. M., F. C. M. Driessens and R. M. H. Verbeeck (1979). "Lattice parameters and cation distribution of solid solutions of calcium and strontium hydroxyapatite." *Calcified tissue international* 29(1): 127-131.
- Heimann, R. B. (2006). "Thermal spraying of biomaterials." *Surface and Coatings Technology* 201(5): 2012-2019.
- Hench, L., C. Pantano Jr, P. Buscemi and D. Greenspan (1977). "Analysis of bioglass fixation of hip prostheses." *Journal of Biomedical Materials Research* 11(2): 267-282.
- Hench, L. L. (1998). "Bioactive materials: the potential for tissue regeneration." *J Biomed Mater Res* 41(4): 511-518.
- Heughebaert, J. C. (1977). Contribution à l'étude de l'évolution des orthophosphates de calcium précipités amorphes en orthophosphates apatitiques.
- Heughebaert, J. C. and G. Montel (1977). "Étude de l'évolution de l'orthophosphate tricalcique non cristallin en phosphate apatitique à la faveur d'une réaction chimique, à température ordinaire." *Revue de Physique Appliquée* 12(5): 691-694.
- Hitchman, M. L. and K. F. Jensen (1993). *Chemical Vapor Deposition: Principles and Applications*, Academic Pr.
- Hou, X., K.-L. Choy and S. E. Leach (2007). "Processing and in vitro behavior of hydroxyapatite coatings prepared by electrostatic spray assisted vapor deposition method." *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 83A(3): 683-691.
- Hsieh, M. F., L. H. Perng and T. S. Chin (2002). "Hydroxyapatite coating on Ti6Al4V alloy using a sol-gel derived precursor." *Materials Chemistry and Physics* 74(3): 245-250.
- Jacota Popescu, S. A. (2008). "Films minces de dioxyde de titane déposés sur titane par mocvd: microstructure et biocomptabilité."
- Jarcho, M. (1986). "Biomaterial aspects of calcium phosphates. Properties and applications." *Dental Clinics of North America* 30(1): 25.
- Kannan, S., A. Rebelo, A. Lemos, A. Barba and J. Ferreira (2007). "Synthesis and mechanical behaviour of chlorapatite and chlorapatite/[beta]-TCP composites." *Journal of the European Ceramic Society* 27(5): 2287-2294.

- Khairoun, I., M. Boltong, F. Driessens and J. Planell (1998). "Limited compliance of some apatitic calcium phosphate bone cements with clinical requirements." *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 9(11): 667-671.
- Khattech, I. and M. Jemal (1997). "Thermochemistry of phosphate products. Part I: Standard enthalpy of formation of tristrontium phosphate and strontium chlorapatite." *Thermochimica Acta* 298(1-2): 17-21.
- Khattech, I., J. Lacout and M. Jemal (1996). *Synthesis and thermochemistry of alkali earth phosphates. II. Enthalpy of formation and enthalpy of mixing in calcium and strontium hydroxyapatites*, Paris; New York: Masson, 1978-.
- Kim, H. W., H. E. Kim and J. C. Knowles (2004). "Fluor-hydroxyapatite sol-gel coating on titanium substrate for hard tissue implants." *Biomaterials* 25(17): 3351-3358.
- Kim, H. W., Y. H. Koh, L. H. Li, S. Lee and H. E. Kim (2004). "Hydroxyapatite coating on titanium substrate with titania buffer layer processed by sol-gel method." *Biomaterials* 25(13): 2533-2538.
- Kim, H. W., S. Y. Lee, C. J. Bae, Y. J. Noh, H. E. Kim, H. M. Kim and J. S. Ko (2003). "Porous ZrO₂ bone scaffold coated with hydroxyapatite with fluorapatite intermediate layer." *Biomaterials* 24(19): 3277-3284.
- Knaack, D., M. Goad, M. Aiolova, C. Rey, A. Tofighi, P. Chakravarthy and D. D. Lee (1998). "Resorbable calcium phosphate bone substitute." *Journal of Biomedical Materials Research* 43(4): 399-409.
- Kokubo, T. (1998). "Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment." *Acta Materialia* 46(7): 2519-2527.
- Kreidler, E. R. and F. A. Hummel (1967). "Phase relations in the system SrO-P₂O₅ and the influence of water vapor on the formation of Sr₄P₂O₉." *Inorganic Chemistry* 6(5): 884-891.
- Lacefield, W. (1988). "Hydroxyapatite coatings." *Annals of the New York Academy of Sciences* 523(1): 72-80.
- Lacout, J. L., J. Assarane and J. C. TROMBE (1984). "Sur la fixation du titane par les minerais phosphatés." *Comptes-rendus des séances de l'Académie des sciences. Série 2, Mécanique-physique, chimie, sciences de l'univers, sciences de la terre* 298(5): 173-175.
- Laugier, M. (1981). "The development of the scratch test technique for the determination of the adhesion of coatings." *Thin Solid Films* 76(3): 289-294.
- Le Guehennec, L., A. Soueidan, P. Layrolle and Y. Amouriq (2007). "Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration." *Dental Materials* 23(7): 844-854.
- Lee, J. J., L. Rouhfar and O. R. Beirne (2000). "Survival of hydroxyapatite-coated implants: a meta-analytic review." *Journal of oral and maxillofacial surgery* 58(12): 1372-1379.
- LeGeros, R. (2001). "Formation and transformation of calcium phosphates: relevance to vascular calcification." *Zeitschrift für Kardiologie* 90(15).
- LeGeros, R., P. Brown and B. Constantz (1994). *Hydroxyapatite and related materials*. CRC Press, Boca Raton: FL, 1994.
- LeGeros, R. Z., G. Bonel and R. Legros (1978). "Types of "H₂O" in human enamel and in precipitated apatites." *Calcified tissue international* 26(1): 111-118.

Références bibliographique

- LeGeros, Z. (1981). "Apatites in biological systems." *Progress in Crystal Growth and Characterization* 4(1-2): 1-45.
- Legros, R., N. Balmain and G. Bonel (1986). "Structure and composition of the mineral phase of periosteal bone." *Journal of chemical research. Synopses*(1): 8-9.
- Leroux, L. (2000). "Caractérisation et propriétés d'hydroxyapatites calcostrontiques préparées par la voie des ciments hydrauliques."
- Li, H., K. Khor and P. Cheang (2002). "Titanium dioxide reinforced hydroxyapatite coatings deposited by high velocity oxy-fuel (HVOF) spray." *Biomaterials* 23(1): 85-91.
- Li, H., K. Khor and P. Cheang (2004). "Thermal sprayed hydroxyapatite splats: nanostructures, pore formation mechanisms and TEM characterization." *Biomaterials* 25(17): 3463-3471.
- Li, X., J. Huang and M. Edirisinghe (2008). "Development of nano-hydroxyapatite coating by electrohydrodynamic atomization spraying." *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 19(4): 1545-1551.
- Li, Z., W. Lam, C. Yang, B. Xu, G. Ni, S. Abbah, K. Cheung, K. Luk and W. Lu (2007). "Chemical composition, crystal size and lattice structural changes after incorporation of strontium into biomimetic apatite." *Biomaterials* 28(7): 1452-1460.
- Lim, P. (1997). "Advances in prosthetics: a clinical perspective." *PHYSICAL MEDICINE AND REHABILITATION* 11: 13-38.
- Lima, R. and B. Marple (2007). "Thermal spray coatings engineered from nanostructured ceramic agglomerated powders for structural, thermal barrier and biomedical applications: a review." *Journal of thermal spray technology* 16(1): 40-63.
- Lind, M., S. Overgaard, C. Bünger and K. Søballe (1999). "Improved bone anchorage of hydroxyapatite coated implants compared with tricalcium-phosphate coated implants in trabecular bone in dogs." *Biomaterials* 20(9): 803-808.
- Lowenstam, H. A. and S. Weiner (1989). *On biomineralization*, Oxford University Press, USA.
- Lu, Y., S. Li, R. Zhu and M. Li (2002). "Further studies on the effect of stand-off distance on characteristics of plasma sprayed hydroxyapatite coating." *Surface and Coatings Technology* 157(2-3): 221-225.
- Mackie, P., J. Elliot and R. Young (1972). "Monoclinic structure of synthetic $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$, chlorapatite." *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry* 28(6): 1840-1848.
- Marie, P., P. Ammann, G. Boivin and C. Rey (2001). "Mechanisms of action and therapeutic potential of strontium in bone." *Calcified tissue international* 69(3): 121-129.
- Matsuno, H., A. Yokoyama, F. Watari, M. Uo and T. Kawasaki (2001). "Biocompatibility and osteogenesis of refractory metal implants, titanium, hafnium, niobium, tantalum and rhenium." *Biomaterials* 22(11): 1253-1262.
- Mavis, B. and A. C. Ta (2000). "Dip coating of calcium hydroxyapatite on Ti-6Al-4V substrates." *Journal of the American Ceramic Society* 83(4): 989-991.
- Mcintyre, J., J. Cheetham and M. Dalidjan (2006). "Ionic exchange between Riva Self Cure GIC and demineralized dentine."

- Mendonca, G., D. Mendonça, L. Simoes, A. L. Araujo, E. R. Leite, W. R. Duarte, L. F. Cooper and F. Aragao (2009). "Nanostructured alumina-coated implant surface: effect on osteoblast-related gene expression and bone-to-implant contact in vivo." *The International journal of oral & maxillofacial implants* 24(2): 205.
- Mirtchi, A. A., J. Lemaitre and E. Munting (1990). "Calcium phosphate cements: study of the [beta]-tricalcium phosphate--dicalcium phosphate--calcite cements." *Biomaterials* 11(2): 83-88.
- Mirtchi, A. A., J. Lemaitre and E. Hunting (1989). "Calcium phosphate cements: action of setting regulators on the properties of the [beta]-tricalcium phosphate-monocalcium phosphate cements." *Biomaterials* 10(9): 634-638.
- Mirtchi, A. A., J. Lemaitre and N. Terao (1989). "Calcium phosphate cements: study of the [beta]-tricalcium phosphate--monocalcium phosphate system." *Biomaterials* 10(7): 475-480.
- Montel, G. (1958). *Contribution à l'étude des mécanismes de synthèse de la fluorapatite*, Paris.
- Muster, D., J. Vouillot and J. Dubruille (1999). "Généralités sur les matériaux polymériques." *Biodégradation* 46(87): 143.
- Nakade, O., H. Koyama, J. Arai, H. Arijji, J. Takada and T. Kaku (1999). "Stimulation by low concentrations of fluoride of the proliferation and alkaline phosphatase activity of human dental pulp cells in vitro." *Archives of oral biology* 44(1): 89-92.
- Nery, E. B., R. Z. Legeros, K. Lynch and K. Lee (1992). "Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/beta TCP in periodontal osseous defects." *Journal of periodontology* 63(9): 729.
- O'Donnell, M., Y. Fredholm, A. De Rouffignac and R. Hill (2008). "Structural analysis of a series of strontium-substituted apatites." *Acta Biomaterialia* 4(5): 1455-1464.
- O'Roark, W. (1991). "Improving implant survival rates by using a new method of at risk analysis." *The International journal of oral implantology: implantologist* 8(1): 31.
- Onuma, K. and A. Ito (1998). "Cluster growth model for hydroxyapatite." *Chem. Mater* 10(11): 3346-3351.
- Oreffo, R. and J. Triffitt (1999). "In vitro and in vivo methods to determine the interactions of osteogenic cells with biomaterials." *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 10(10): 607-611.
- Pawlowski, L. (2003). *Dépôts physiques: techniques, microstructures et propriétés*, PPUR presses polytechniques.
- Penel, G. (1995). "Contribution à l'étude des apatites synthétiques et biologiques par microspectrométrie Raman." *Diplôme d'études approfondies*.
- Penel, G., G. Leroy, C. Rey, B. Sombret, J. Huvenne and E. Bres (1997). "Infrared and Raman microspectrometry study of fluor-fluor-hydroxy and hydroxy-apatite powders." *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 8(5): 271-276.
- Peters, F., K. Schwarz and M. Epple (2000). "The structure of bone studied with synchrotron X-ray diffraction, X-ray absorption spectroscopy and thermal analysis." *Thermochimica Acta* 361(1-2): 131-138.

- Piattelli, A., L. Manzon, A. Scarano, M. Paolantonio and M. Piattelli (1998). "Histologic and histomorphometric analysis of the bone response to machined and sandblasted titanium implants: an experimental study in rabbits." *The International journal of oral & maxillofacial implants* 13(6): 805.
- Prener, J. (1971). "Nonstoichiometry in calcium chlorapatite." *Journal of Solid State Chemistry* 3(1): 49-55.
- Pullen, L. and K. Gross (2005). "Dissolution and mineralization of sintered and thermally sprayed hydroxy-fluoroapatites." *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 16(5): 399-404.
- Ranz, X. (1996). "Développement et caractérisation de dépôts d'apatite obtenus par projection plasma sur prothèses orthopédiques." Thèse de Doctorat de l'Institut national polytechnique de toulouse.
- Ranz, X., C. Rey, N. Antolotti, M. Harmand, A. Moroni, L. Orienti, G. Viola, S. Bertini and A. Scrivani (1997). "Properties of plasma sprayed bioactive fluorohydroxyapatite coatings." *Bioceramics*. Paris: Elsevier Science Ltd.
- Rey, C. (1995). "Du minéral osseux aux biomatériaux, un biominéral particulier: l'apatite=" From bony mineral to biomaterials, a particular biomineral: apatite." *L'Actualité chimique*(7): 41-45.
- Rey, C. (1998). "Calcium phosphates for medical applications." *Calcium Phosphates in Biological and Industrial Systems*: 217-351.
- Rey, C., B. Collins, T. Goehl, I. Dickson and M. Glimcher (1989). "The carbonate environment in bone mineral: a resolution-enhanced Fourier transform infrared spectroscopy study." *Calcified tissue international* 45(3): 157-164.
- Rey, C., C. Combes, C. Drouet and M. J. Glimcher (2009). "Bone mineral: update on chemical composition and structure." *Osteoporos Int* 20(6): 1013-1021.
- Rey, C., V. Renugopalakrishnan, B. Collins and M. J. Glimcher (1991). "Fourier transform infrared spectroscopic study of the carbonate ions in bone mineral during aging." *Calcified tissue international* 49(4): 251-258.
- Rey, C., V. Renugopalakrishnan, M. Shimizu, B. Collins and M. J. Glimcher (1991). "A resolution-enhanced Fourier transform infrared spectroscopic study of the environment of the CO₃²⁻ ion in the mineral phase of enamel during its formation and maturation." *Calcified tissue international* 49(4): 259-268.
- Richard, D., N. Dumelié, H. Benhayoune, S. Bouthors, C. Guillaume, N. Lalun, G. Balossier and D. Laurent Maquin (2006). "Behavior of human osteoblast like cells in contact with electrodeposited calcium phosphate coatings." *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 79(1): 108-115.
- Roy, S. (2008). "Mesure de l'adhérence et des propriétés mécaniques de couches minces par des essais dérivés de la nanoindentation: application à la microélectronique et au biomédical."
- Schiller, C., M. Siedler, F. Peters and M. Epple (2001). "Functionally graded materials of biodegradable polyesters and bone-like calcium phosphates for bone replacement." *Ceramic Transactions(USA)* 114: 97-108.

Références bibliographique

- Schlesinger, P. H., H. C. Blair, S. L. Teitelbaum and J. C. Edwards (1997). "Characterization of the osteoclast ruffled border chloride channel and its role in bone resorption." *Journal of Biological Chemistry* 272(30): 18636.
- Schroeder, L. and R. Frank (1985). "High-resolution transmission electron microscopy of adult human peritubular dentine." *Cell and tissue research* 242(2): 449-451.
- Skrtic, D., J. M. Antonucci and E. D. Eanes (1996). "Improved properties of amorphous calcium phosphate fillers in remineralizing resin composites." *Dental Materials* 12(5-6): 295-301.
- Skrtic, D., A. Hailer, S. Takagi, J. Antonucci and E. Eanes (1996). "Quantitative assessment of the efficacy of amorphous calcium phosphate/methacrylate composites in remineralizing caries-like lesions artificially produced in bovine enamel." *Journal of Dental Research* 75(9): 1679.
- Spencer, J. T. (2007). *Chemical Vapor Deposition of Metal-Containing Thin-Film Materials from Organometallic Compounds*, John Wiley & Sons, Inc.
- St Doltsinis, I., J. Harding and M. Marchese (1998). "Modelling the production and performance analysis of plasma-sprayed ceramic thermal barrier coatings." *Archives of Computational Methods in Engineering*: 59-59.
- Stanford, C. M. (2010). "Surface Modification of Biomedical and Dental Implants and the Processes of Inflammation, Wound Healing and Bone Formation." *International Journal of Molecular Sciences* 11(1): 354-369.
- Sun, L., C. C. Berndt, K. A. Gross and A. Kucuk (2001). "Material fundamentals and clinical performance of plasma sprayed hydroxyapatite coatings: A review." *Journal of Biomedical Materials Research* 58(5): 570-592.
- Tadier, S. (2009). "Étude des propriétés physico-chimiques et biologiques de ciments biomédicaux à base de carbonate de calcium: apport du procédé de co-broyage."
- Tamimi, F., D. Le Nihouannen, D. C. Bassett, S. Ibasco, U. Gbureck, J. Knowles, A. Wright, A. Flynn, S. V. Komarova and J. E. Barralet (2011). "Biocompatibility of magnesium phosphate minerals and their stability under physiological conditions." *Acta Biomaterialia*.
- Taylor, M., K. Simkiss, J. Simmons, L. Wu and R. Wuthier (1998). "Structural studies of a phosphatidyl serine-amorphous calcium phosphate complex." *Cellular and Molecular Life Sciences* 54(2): 196-202.
- Termine, J. and E. Eanes (1972). "Comparative chemistry of amorphous and apatitic calcium phosphate preparations." *Calcified tissue international* 10(1): 171-197.
- Teshima, K., K. Yubuta, S. Ooi, T. Suzuki, T. Shishido and S. Oishi (2006). "Environmentally friendly growth of calcium chlorapatite whiskers from a sodium chloride flux." *Crystal growth & design* 6(11): 2538-2542.
- Torrise, L. and R. Setola (1993). "Thermally assisted hydroxyapatite obtained by pulsed-laser deposition on titanium substrates." *Thin Solid Films* 227(1): 32-36.
- Trombe, J. and G. Montel (1973). "Sur le spectre d'absorption infrarouge des apatites dont les tunnels contiennent des ions bivalents et des lacunes." *CR Acad Sci Paris Ser C* 276: 1271-1274.
- Trombe, J. C. (1967). *Contribution à l'étude de la carbonatation des apatites par voie sèche*, Institut Nationale Polytechnique de Toulouse.

- Trombe, J. C. (1972). Contribution a l'etude de la decomposition et de la reactivite de certaines apatites hydroxylees, carbonatees ou fluorees alcalino-terreuses, Sc. phys. Toulouse III. 1972. No 501.
- Tucker, B., C. Cottell, R. Auyeung, M. Spector and G. Nancollas (1996). "Pre-conditioning and dual constant composition dissolution kinetics of pulsed laser deposited hydroxyapatite thin films on silicon substrates." *Biomaterials* 17(6): 631-637.
- Wagner, H. and S. Weiner (1992). "On the relationship between the microstructure of bone and its mechanical stiffness." *Journal of biomechanics* 25(11): 1311-1320.
- Wallaeys, R. (1952). "Contribution l'étude des apatites phosphocalciques."
- Wallaeys, R. (1951). Thèse Paris.
- Wallaeys, R. (1952). *Ann. Chim.* 7(12ème Série): 808 - 848.
- Wang, J., P. Layrolle, M. Stigter and K. De Groot (2004). "Biomimetic and electrolytic calcium phosphate coatings on titanium alloy: physicochemical characteristics and cell attachment." *Biomaterials* 25(4): 583-592.
- Wang, X. and J. Ye (2008). "Variation of crystal structure of hydroxyapatite in calcium phosphate cement by the substitution of strontium ions." *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 19(3): 1183-1186.
- Wen, J., Y. Leng, J. Chen and C. Zhang (2000). "Chemical gradient in plasma-sprayed HA coatings." *Biomaterials* 21(13): 1339-1343.
- Wennerberg, A. and T. Albrektsson (2009). "Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review." *Clinical Oral Implants Research* 20: 172-184.
- Wennerberg, A., T. Albrektsson and B. Andersson (1993). "Design and surface characteristics of 13 commercially available oral implant systems." *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 8(6): 622-634.
- Wennerberg, A., A. Ektessabi, T. Albrektsson, C. Johansson and B. Andersson (1997). "A 1-year follow-up of implants of differing surface roughness placed in rabbit bone." *The International journal of oral & maxillofacial implants* 12(4): 486.
- Williams, R. A. D. and J. C. Elliott (1989). *Basic and applied dental biochemistry*, Elsevier Health Sciences.
- Wolke, J., W. Dhert and P. Vincenzini (1990). CHARACTERISATION OF PLASMA-SPRAYED FLUORAPATITE COATINGS FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS.
- Wuthier, R. E., G. S. Rice, J. E. B. Wallace, R. L. Weaver, R. Z. LeGeros and E. David Eanes (1985). "In vitro precipitation of calcium phosphate under intracellular conditions: formation of brushite from an amorphous precursor in the absence of ATP." *Calcified tissue international* 37(4): 401-410.
- Xu, H., M. Weir, L. Sun, S. Takagi and L. Chow (2007). "Effects of calcium phosphate nanoparticles on Ca-PO₄ composite." *Journal of Dental Research* 86(4): 378.
- Xue, W., H. L. Hosick, A. Bandyopadhyay, S. Bose, C. Ding, K. Luk, K. Cheung and W. Lu (2007). "Preparation and cell-materials interactions of plasma sprayed strontium-containing hydroxyapatite coating." *Surface and Coatings Technology* 201(8): 4685-4693.
- Xue, W., J. L. Moore, H. L. Hosick, S. Bose, A. Bandyopadhyay, W. W. Lu, K. M. C. Cheung and K. D. K. Luk (2006). "Osteoprecursor cell response to strontium-

Références bibliographique

- containing hydroxyapatite ceramics." *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 79A(4): 804-814.
- Yang, Y. C. and E. Chang (2001). "Influence of residual stress on bonding strength and fracture of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings on Ti-6Al-4V substrate." *Biomaterials* 22(13): 1827-1836.
- Young, A. (1973). *Colloques Internationaux CNRS No. 230: Physico-Chimie et Cristallographie des Apatites d'Intérêt Biologique* (Paris), CNRS, Paris.
- Young, E., A. Myers, E. L. Munson and N. M. Conklin (1969). "GEOLOGICAL SURVEY RESEARCH 1969." US Geological Survey professional paper: 84.
- Young, R. and J. Elliott (1966). "Atomic-scale bases for several properties of apatites." *Archives of oral biology* 11(7): 699-707.

Annexes

Annexe 1 :

Matériaux et méthodes

1.1. Diffraction de rayons X

L'analyse des différents échantillons a été effectuée par diffraction des rayons X (DRX) sur le domaine angulaire 20°-65° avec un pas de 0.02° et un temps de pose de 24 secondes conformément à la norme ISO 13779-3 :2008. Les diffractogrammes sont enregistrés avec la radiation CuK α sur un diffractogramme Seifert-3000.

Les dimensions apparentes des cristallites ont été déterminées à l'aide à la formule de Scherrer (1918) en utilisant les raies (002) et (310).

$$L_{(hkl)} = \frac{0,94\lambda}{\cos\theta\sqrt{\Delta_r^2 - \Delta_0^2}}$$

0,94: Constante de Scherrer

L : Taille des cristallites en Angstrom (Å)

λ : Longueur d'onde (1.78892 Å)

θ : Angle de diffraction correspondant à la raie hkl considérée

Δ_r : largeur d'une raie de diffraction de l'échantillon

Δ_0 : Largeur de la même raie de diffraction d'une hydroxyapatite calcinée à 900 °C.

Elle vaut 0.00128 rd pour la raie (002).

L'erreur absolue sur les dimensions des cristallites est estimée à environ 5 Å.

1.2. Spectroscopie infrarouge

La spectrométrie infrarouge fournit des renseignements précis sur la structure d'un composé. Lorsqu'une radiation infrarouge traverse une molécule on constate pour certaines longueurs d'onde une absorption sélective de la lumière aux fréquences de vibration caractéristiques des différentes liaisons.

Les analyses par spectrométrie infrarouge ont été réalisées avec un appareil Nicolet FTIR-ATR. Les spectres ont été obtenus entre 400 et 4000 cm⁻¹ après 64 scans et exploités avec le logiciel OMNIC®.

Le spectre infrarouge à transformée de Fourier de l'hydroxyapatite a été enregistré sur un spectrophotomètre Perkin Elmer Nicolet 5700 dans le domaine spectral 4000-400 cm⁻¹ avec une résolution de 4 cm⁻¹. La poudre a été bien broyée dans un mortier en agate puis mélangée au KBr (2 mg de poudre/ 300 mg de KBr). La pastille est obtenue en comprimant le mélange dans une matrice en acier.

1.3. Spectroscopie de diffusion RAMAN

La spectroscopie Raman est une technique complémentaire à l'infrarouge. La nature différente des deux processus d'interaction à l'origine de l'effet Raman et de l'infrarouge (absorption, réflexion ou émission) fait que certaines vibrations seront seulement actives en infrarouge et d'autres seulement actives en Raman (règle d'exclusion mutuelle), alors que d'autres le seront pour les deux ou pour aucune.

La spectroscopie Raman fournit en effet des informations de natures différentes. Elle permet de caractériser aussi bien l'ordre structural (à courte, moyenne ou grande distance) ainsi que le type de liaison d'un composé et sa structure cristalline. Il s'agit de la méthode spectroscopique dotée de la meilleure résolution (un micron) pour l'identification et la caractérisation de composés ou de phases. Sa capacité à identifier les systèmes amorphes est également inégalée.

En spectrométrie Raman, l'analyse se fait par excitation du matériau. Porté à un niveau énergétique virtuel par une puissante source lumineuse monochromatique de type laser, le matériau réémet ensuite une radiation qui est collectée puis analysée par un détecteur adéquat. Cette radiation comporte deux types de signaux. Le premier très majoritaire correspond à la diffusion Rayleigh : la radiation incidente étant diffusée élastiquement sans changement d'énergie. Le second correspond à des photons en nombre très limité pouvant interagir avec la matière. Celle-ci absorbe (ou cède) de l'énergie aux photons incidents produisant ainsi les radiations Stokes (ou anti-Stokes).

La variation d'énergie observée sur le photon nous renseigne alors sur les niveaux énergétiques de rotation et de vibration de la molécule concernée.

L'acquisition des spectres Raman a été réalisée à l'aide d'un spectromètre de type Jobin Yvon LabRam HR, équipé d'un objectif de 100X. Le spot à la surface de l'échantillon est focalisé sur un diamètre d'environ 2 μm , ce qui améliore le pouvoir de résolution. La source laser (Hélium/Néon) utilisée est à 632,8 nm. Les spectres sont acquis sur le domaine 200-1200 cm^{-1} et de 3400-3700 cm^{-1} avec une résolution 1800.

1.4. Microscopie électronique à balayage

La microscopie électronique à balayage (MEB) réalise l'imagerie d'un échantillon en balayant sur sa surface un fin faisceau d'électrons.

Le microscope à balayage se compose d'une colonne optique à électrons, d'un circuit de vide et de la partie électronique contenus dans un seul bloc. La colonne d'un microscope électronique à balayage est remarquablement courte est la chambre de l'échantillon est plus grande. Ainsi, il n'y a pas de limitation de format de l'échantillon.

Appareillage

La caractérisation morphologique et microstructurale des revêtements obtenus par pulvérisation par torche plasma a été réalisée par microscopie électronique en balayage, à l'aide d'un appareil LEO-435VP.

Le microscope électronique en balayage est équipé d'un analyseur IMIX-PC EDS (PGT) à diode de germanium. L'analyse EDS a été utilisée d'une part pour l'analyse élémentaire qualitative des revêtements.

1.5. Préparation de la solution SBF

La solution SBF est une solution sursaturée simulant le sérum physiologique du point de vue des concentrations en ions inorganiques excepté pour les ions carbonate. Cette solution est couramment utilisée mais nous lui avons apporté une simple amélioration permettant de préserver la stabilité de la solution avant de lancer les tests (on prépare les solutions anionique et cationique séparément puis on ajuste le pH et ensuite on les mélange juste avant de commencer les tests).

Solution SBF : V = 100 mL ; Température : 37 °C

Les expérimentations ont été conduites suivant la norme ISO 23317 édition 2007.

Compositions des solutions anioniques et cationiques qui permettent de préparer la solution SBF

Solution cationique		Solution anionique	
Réactifs	Masse (g)	Réactifs	Masse (g)
NaCl	8.035	NaCl	8.035
KCl	0.450	K ₂ HPO ₄ , 3 H ₂ O	0.462
MgCl ₂ , 6 H ₂ O	0.622	Na ₂ SO ₄	0.144
CaCl ₂	0.774	TRIS*	10
C(HCl) = 1M	39	NaHCO ₃	0.710

*Le TRIS est le trishydroxyméthylaminométhane.

1.6. Mesure de l'adhérence : Scratch test

L'appareil utilisé est un Revetest de CSM Instrument avec une pointe en diamant de type Rockwell et de rayon de 200 µm. La charge appliquée est linéairement croissante entre 1 N et 30N (ou 60 N) pour une vitesse de chargement de 30 N/min et une vitesse d'avance de 5 mm/min.

Le principe de l'essai de rayure consiste à déplacer une pointe dure parallèlement à la surface de l'échantillon, à vitesse constante et avec une force d'appui croissante. L'essai permet d'analyser, le plus souvent, des phénomènes d'endommagement tels que la fissuration du

matériau ou le délaminage d'un revêtement. La détection de l'endommagement peut se faire par détection acoustique ou par observation microscopique. On obtient alors une force normale critique, dénommée souvent «critical load L_c », matérialisant un point de discontinuité dans le comportement de l'échantillon. Certains revêtements céramiques, peuvent présenter différentes forces critiques qui apparaissent au cours d'un même essai : une première force critique L_{c1} liée à la fissuration du film, suivi d'une seconde force critique L_{c2} plus élevée, caractérisant l'ablation totale du revêtement. De part sa facilité de mise en œuvre, l'essai de rayure est fréquemment employé dans de nombreux domaines, allant des peintures automobiles aux revêtements pour outils de coupe.

Procédure expérimentale appliquée aux dépôts apatitiques



Il s'agit principalement d'un test comparatif, car il est difficile d'exprimer l'adhérence de manière quantitative car la charge critique, L_c , dépend de plusieurs paramètres qui sont affectés par les conditions du test et du système revêtement-substrat. Le scratch test ou test de la rayure fournit des informations quantitatives sur les modes de rupture des dépôts et la friction.

1.7. Mesure de surfaces spécifiques

Les mesures de surface spécifique des solides pulvérulents ont été effectuées par la méthode BET monopoint, à l'aide d'un appareil Quantachrom. La méthode de Brunauer, Emmet et Teller est la procédure la plus utilisée pour déterminer la surface spécifique des solides. Par définition, la surface spécifique représente la surface totale par unité de masse du produit

accessible aux atomes et aux molécules. Il s'agit donc de considérer toute la surface de chaque particule, porosité ouverte comprise. Le cycle d'adsorption-désorption est réalisé grâce à la circulation d'un mélange gazeux He/N₂. Dans un premier temps, l'échantillon est refroidi à l'aide d'azote liquide. L'hélium permet alors de calculer le volume non occupé par l'échantillon dans le tube hermétiquement fermé (volume mort) et l'azote s'adsorbe à la surface de la poudre. Dans un second temps, le bain réfrigérant se retire et le tube est chauffé, ce qui entraîne la désorption du gaz de la surface de la poudre. L'appareil, en fin de mesure, donne la valeur de la surface mesurée. La surface spécifique de l'échantillon est alors calculée selon l'équation suivante : Surface spécifique (m²/g) = surface mesurée (m²) / masse de l'échantillon introduite pesée (g)

1.8. Granulométrie Laser

La granulométrie est l'étude de la distribution de la taille des particules d'une poudre. L'appareil utilisé pour les mesures est un granulomètre de type MALVERN MATERSIZER 2000 équipé du Scirocco comme accessoire de dispersion en voie sèche.

La mesure est basée sur la théorie de la diffusion simple et de la diffraction laser. Un faisceau laser est obtenu en collimatant un faisceau issu d'un tube à gaz Hélium - Néon. Ce faisceau est envoyé sur une cellule de mesure dans laquelle les particules sont maintenues en constante circulation de façon à ce que chaque particule passe au moins une fois devant le rayon laser pendant la durée de la mesure.

Les particules passent à travers le Scirocco composé d'une trémie vibrante sur laquelle elles sont déposées. Une alimentation en air comprimé se fait à la sortie de la trémie et permet de créer la dépression entraînant les particules vers la cellule de mesure. Un aspirateur permet la récupération des particules en fin de circuit.

De manière générale, la granulométrie laser est sensible au volume des particules. Notons que la théorie mathématique interprétant la lumière dispersée par l'échantillon est modélisée pour des sphères opaques à la lumière.

1.9. Dosage du calcium

Le calcium a été dosé par volumétrie en retour (Charlot 1974). L'agent complexant est le sel disodique de l'éthylène diamine tétra acétique (EDTA) en présence d'ammoniaque. L'excès de l'EDTA est ensuite dosé par une solution titrée de chlorure de zinc. L'indicateur de virage est le noir d'ériochrome T (virage de la coloration bleu au rose). L'erreur relative sur la teneur en calcium est de l'ordre de 0,5 %.

1.10. Dosage des ions orthophosphate

Les ions orthophosphate ont été dosés par colorimétrie (Charlot 1974). Le principe de cette méthode consiste à mesurer la densité optique (absorbance) de la coloration jaune du complexe phosphovanadomolybdique $\text{VO}_3[\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4]$, en milieu acide, à une longueur d'onde $\lambda = 460 \text{ nm}$. Le réactif colorimétrique est préparé en mélangeant dans la proportion 50/50 % en volume, une solution de molybdate d'ammonium (80 g/l) et une solution de monovanadate d'ammonium (4 g/l). Les absorbances des différentes solutions ont été mesurées, dans des cuves en quartz, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible BECKMAN type 24 à double faisceau. La précision du dosage du phosphore est de l'ordre de 0,5 %.

1.11. Dosage du Fluor

- Les concentrations de fluor dans les solutions à doser doivent être comprises dans la gamme d'étalonnage (linéarité de 10^{-1} M à $2 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ soit de 1,9 g à 38 μg).
- Pour les poudres, Il faut dissoudre dans une fiole jaugée de 100 ml, une pesée exacte 100 à 120 mg avec 1 ml d'acide perchlorique HClO_4 6N (ou $\frac{1}{2}$) (si les concentrations sont trop fortes, il faut faire des dilutions).

Tampon d'ajustement de force ionique à pH 5,9

Dans une fiole de 1 litre, on dissout environ 294 g de Tri-sodium citrate 1 M avec 18 ml d'HCl concentré puis on complète le volume à 1 litre avec l'eau désionisée (si le pH est supérieur à 5,9 rajouter quelques gouttes d'acide chloridrique).

Solutions étalons de F⁻

Il existe un domaine non linéaire pour les faibles teneurs en fluor et un domaine linéaire dont la linéarité commence à partir de 38 μg .

Les solutions étalons A, B, C et D constitueront des étalons de base pour la préparation de nos solutions étalons du dosage de F⁻.

Sol. A de F⁻ à 100 μg de F⁻/ml (=100 mg/l = 0,1 g de F⁻/l).

A partir de NaF pureté 99 %, P.M.= 41,99 g/mol par pesée exacte et fiole jaugée
 $(41,99 \times 100 \times 0,1)/(99 \times 19) = 223,2 \text{ mg de NaF/litre}$

Sol. B de F⁻ à 10 μg de F⁻/ml (=10 mg/l = 0,01 g de F⁻/l).

Dilution au $1/10^{\circ}$ de la sol.A dans une fiole jaugée 50 ml/ 500 ml en utilisant une pipette à 2 traits.

Sol. C de F⁻ à 20 μg de F⁻/ml (=20 mg/l = 0,02 g de F⁻/l).

Dilution au $1/5^{\circ}$ de la sol.A dans une fiole jaugée 50 ml/ 250 ml et pipette à 2 traits.

Sol. D de F^- à 25 μg de F^-/ml (=25 mg/l = 0,025 g de F^-/l).

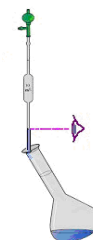
Dilution au $1/4^\circ$ de la sol.A dans une fiole jaugée 25 ml/ 100 ml et pipette à 2 traits.

Dosage du Fluor

- ✓ Mettre la solution tampon en quantité égale à la solution à doser.
- ✓ Passer d'abord les étalons (dans l'ordre croissant des concentrations).
- ✓ Passer les solutions inconnues (dans l'ordre croissant si possible).
- ✓ Noter les potentiels E (en mV)
- ✓ Rincer et essuyer doucement les électrodes après chaque mesure.

Domaine non-linéaire : Etalons de F^- pour les faibles teneurs, domaine non-linéaire de 5 à 50 μg

- | | | | |
|----|--|---------------|--------------------------------------|
| 1- | 20 ml \rightarrow 1 ml de sol.B
\rightarrow 19 ml d'eau
+ 20 ml de sol. tampon | \rightarrow | 10 μg de F^- (0,25 ppm) |
| 2- | 20 ml \rightarrow 2 ml de sol.B
\rightarrow 18 ml d'eau
+ 20 ml de sol. tampon | \rightarrow | 20 μg de F^- (0,50 ppm) |
| 3- | 20 ml \rightarrow 5 ml de sol.B
\rightarrow 15 ml d'eau
+ 20 ml de sol. tampon | \rightarrow | 50 μg de F^- (1,25 ppm) |

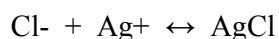


Domaine linéaire : Etalons de F^- dans le domaine linéaire : de 50 μg à 500 μg de Fluor.

- | | | | |
|----|---|---------------|--|
| 4- | 20 ml \rightarrow 10 ml de sol.B
\rightarrow 10 ml d'eau
+ 20 ml de sol. tampon | \rightarrow | 100 μg de F^- (2,50 ppm) |
| 5- | 20 ml \rightarrow 20 ml de sol.B
+ 20 ml de sol. tampon | \rightarrow | 200 μg de F^- (5 ppm) |
| 6- | 20 ml \rightarrow 20 ml de sol.C
+ 20 ml de sol. tampon | \rightarrow | 400 μg de F^- (10 ppm) |
| 7- | 20 ml \rightarrow 20 ml de sol.D
+ 20 ml de sol. tampon | \rightarrow | 500 μg de F^- (12,50 ppm) |
| 8- | 20 ml \rightarrow 20 ml de sol. inconnue
+ 20 ml de sol. tampon | \rightarrow | x μg de F^- |

1.12. Dosage des chlorure

Le principe de ce dosage consiste à acidifier à l'acide nitrique une solution aqueuse diluée d'ions chlorures afin d'éviter la précipitation des autres sels d'argent, tels que le phosphate et le carbonate, qui pourraient se former en milieu neutre, et aussi pour obtenir un précipité plus facilement filtrable. On ajoute un léger excès de la solution de nitrate d'argent, ce qui provoque la précipitation de chlorure d'argent selon la réaction :



Le Protocole expérimentale consiste à peser avec précision environ 0.2 g d'un chlorure solide dans un becher de 250 mL contenant un barreau aimanté et couvert d'un verre de montre. On ajoute environ 150 mL d'eau en agitant jusqu'à dissolution du solide puis on ajoute 0.5 mL d'acide nitrique concentré. A la solution froide, on rajoute lentement le nitrate d'argent à 0.1 mol/L sous agitation continue. Seul un faible excès doit être présent, cela pouvant facilement être obtenu en laissant le précipité se former et en ajoutant quelques gouttes de la solution de nitrate d'argent : on est en excès quand on n'observe plus de précipitation. Le dosage est à effectuer en demi-obscurité. Chauffer la suspension jusqu'à presque atteindre l'ébullition, en agitant constamment et en entretenant cette température jusqu'à coagulation du précipité et obtention d'un liquide surnageant clair (2-3 minutes). Il faudra s'assurer que la précipitation est finie en ajoutant quelques gouttes de solution de nitrate d'argent au liquide surnageant. S'il n'y a pas de précipitation, il faut mettre le becher à l'obscurité et laisser la solution reposer pendant environ 1 heure avant de filtrer. Entre-temps, on prépare un creuset filtrant à verre fritté ; celui-ci doit être séché à la même température que celle qui sera utilisée pour le chauffage du précipité (130 – 150 °C) et le laisser refroidir dans un dessiccateur. Filtrer dans le creuset filtrant préalablement pesé. Laver deux à trois fois le précipité décanté avec 10 mL d'acide nitrique froid et très dilué (0.5 mL d'acide concentré dans 200 mL d'eau) avant de verser le précipité dans le creuset. Par la suite, on détache les dernières petites particules de chlorure d'argent adhérant au bêcheur. On lave le précipité du creuset avec de l'acide nitrique dilué, ajouté peu à peu jusqu'à ce que 3 – 5 mL d'eaux de lavage, recueillis dans un tube à essai, ne donnent plus de trouble par ajout d'une ou deux gouttes d'acide chlorhydrique à 0.1 mol/L. Placer le creuset et son contenu à 130 – 150 °C dans une étuve pendant 1 heure, laisser refroidir dans un dessiccateur, puis peser. Répéter les opérations de chauffage et de refroidissement jusqu'à obtenir une masse constante. Calculer le pourcentage de chlore dans l'échantillon.

Annexe 2 :
Spectres μ Raman et FTIR, et
diagramme de rayons X de
quelques phosphates de calcium

