N° d'ordre :……

**R**épublique **A**lgérienne **D**émocratique et **P**opulaire
**M**inistère de l'**E**nseignement **S**upérieur et
de la **R**echerche **S**cientifique

**U**niversité de **M**'sila

**F**aculté des **S**ciences

**D**épartement de **P**hysique

**MEMOIRE**

Présenté pour l'obtention du diplôme de :

**MASTER**

Domaine : **Sciences de la matière**

Filière : **Physique**

Option : **SCIENCES DES MATÉRIAUX**

Par

**Hadj Laroussi Asma**

THEME

# Etude de la bioactivité de l'hydroxyapatite dopée par le $ZrO_2$ et $Al_2O_3$

Soutenue le : 24/06/2013

Devant le jury composé de :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ibrir Miloud | MCA | Univ. de M'sila | Président |
| Mezahi Fatima- Zohra | MCB | Univ. de M'sila | Rapporteur |
| Tellouche Gamra | MCB | Univ. de M'sila | Examinatrice |

Promotion Juin 2013

# REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

A mes parents pour m'avoir encouragé et permis d'entreprendre la formation .Sans eux, je n'en serais pas là.

Je voudrais présenter mes remerciements à mon encadreur «Dr: Fatima-Zohra MEZAHI», maitre de conférences à l'université de M'sila, je voudrais également lui témoigner mon gratitude pour sa patience et son soutien précieux afin de mener mon travail à bon port et son précieux conseil, son aide durant toute la période du travail.

Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner ce travail Et de l'enrichir par leurs propositions.

J'exprime ma profonde gratitude à Monsieur Ameur OUALI, maitre de conférences à l'Université de M'sila, d'avoir accepté la présidence du Jury de ce mémoire.

Que Monsieur Miloud IBRIR, maitre de conférences à l'Université de M'sila, et Madame Gamra TELLOUCHE, maitre de conférences à l'Université de M'sila, trouveront l'expression de ma profonde reconnaissance d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Je tiens à remercier vivement les membres de ma famille et Mes amis qui m'ont toujours encouragé et soutenue et plus particulièrement, Ma tante Latifa.

Enfin, je remercie, tous ceux qui ont contribué, de prés ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

# SOMMAIRE

**SOMMAIRE**

Introduction générale……..……...…….…...1

**PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

**CHAPITRE I : GENERALITES**……3

1. Introduction…….……..…….……3

2. Domaines d'application des biomatériaux…….…….……...3

3. Classification des biomatériaux……..6

4. Définitions…….…….…6

4.1. Biomatériau…….……...……6

4.2. Bioactivité…….…….……...…7

4.3. Ostéoinduction…….……..……..7

4.4. Ostéoconduction…….……..7

4.5. Ostéoformation…….7

5. Tissu osseux ……...…….……7

5. 1.Différents types d'os du point de vue macroscopique……..8

5. 2. Composition de l'os naturel……..…….…….....9

5. 3. Mécanisme de remodelage osseux……11

6. Les différents types de biomatériaux…….……..13

6. 1. Biomatériaux métalliques……...……...13

6. 2. Biomatériaux en céramiques…….....….13

6. 3. Biomatériaux à base de polymères de synthèse……...…15

6. 4. Biomatériaux d'origine naturelle……...…...16

**CHAPITRE II : HYDROXYAPATITE**…….. 18

1. Introduction……...18

2. L'hydroxyapatite ……..……..……..18

3. Hydroxyapatite stœchiométrique……..…….……19

4. Les différentes hydroxyapatites…….20

4. 1. HA d'origine animale…….……20

4. 2. HA synthétisée…….…….21

5. Décomposition de HA……...……24

6. Processus de formation de « bone like-apatite »…….…..24

7. Le phosphate tricalcique (β-TCP)……...…...26

8. Facteurs influençant la bioactivité de HA……..26

**PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE**

**CHAPITRE III : MATERIAUX, APPAREILS ET METHODES EXPERIMENTALES D'ANALYSES UTILISEES** ……. 28

1. Introduction ……. 28

2. Matériaux Etudiés ……..28

2. 1. Hydroxyapatite naturelle ……..28

3. Appareils et techniques de caractérisation……29

3. 1. Appareils utilisés……...……29

3. 2. Techniques de caractérisation……..…31

3. 2. a- Diffraction des rayons X (DRX)…… ……..…31

3.2. b- Microscopie électronique à balayage (MEB) et spectroscopie d'énergie dispersive (EDS)……..…….....33

3. 2. c- Spectroscopie infrarouge (IR)……35

**RESULTATS ET DISCUSSIONS**

**CHAPITRE IV: EFFET DES ADDITIONS SUR LA BIOACTIVITE DE N-HA** ...…...37

1. Introduction ……..….. 37

2. Caractérisation physico-chimiques de N-HA avant traitement thermique……....37

2. 1. Composition minérale…….…....37

2. 2. Etude structurale par DRX et l'analyse par IR……...…..38

3. Effet de la température sur la stabilité thermique du N-HA pure……..…40

3. 1. Résultat de diffraction RX…….41

3. 2. Analyse par la spectroscopie IR…….....42

4. Effet des additions $ZrO_2$ et $Al_2O_3$ sur la stabilité thermique du N-HA à 1250°C……...42

4. 1. Diagrammes de diffraction RX des échantillons traités ……..43

4. 2. Spectroscopie IR des échantillons traités……..45

5. Effet des additions sur la densité après traitement à 1250°C……46

5. 1. Morphologie par MEB et l'analyse par EDS de la surface des granules traités à 1250°C……...……46

6. Etude de la formation de l'hydroxyapatite carbonatée à la surface des granules immergés.50

6. 1. Variation de pH de la solution SBF en fonction du temps d'immersion…….50

6. 2. Morphologie par MEB de la surface des granules immergés……...……....51

6. 3. Analyse par IR des granules immergés……..……..….53

7. Bilan des résultats…….……54

Conclusion générale …….……55

Références……..…....5

# INTRODUCTION GENERALE

## Introduction générale

Les phosphates de calcium jouent un rôle considérable dans les processus biologiques notamment au sien du tissu osseux. Ce dernier est admis aujourd'hui que sa partie minérale est assimilable à une apatite phosphocalcique mal cristallisée et lacunaire. Pour permettre un meilleur remodelage d'un tissu endommagé, la chirurgie moderne fait fréquemment appel à des substituts osseux synthétiques. Parmi ces matériaux certains possèdent des propriétés de compatibilité biologique vis-à-vis des tissus environnants qui les rendent particulièrement attractifs. L'hydroxyapatite de formule $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ et le β-phosphate tricalcique de formule $Ca_3(PO_4)_2$ (β-TCP) sont largement utilisés pour ces propriétés, le premier pour son activité biologique de surface et le second pour son caractère résorbable.

Pour cela, le travail de ce mémoire concerne l'étude de la réactivité (ou la bioactivité) de l'hydroxyapatite naturelle. Ainsi que l'effet des additions inertes ($ZrO_2$ et $Al_2O_3$) sur la formation de l'apatite carbonatée à la surface de l'hydroxyapatite immergée dans une solution physiologique simulée (SBF).

On s'est intéressé à réaliser des tests *in vitro* car ils constituent une approche préliminaire du comportement d'un biomatériau en donnant une première évaluation de la bioactivité des matériaux. La capacité des matériaux étudiés de former une couche d'hydroxyapatite lors du contact avec des fluides biologiques synthétiques encouragent les tests *in vivo*.

Le mémoire englobe deux parties distinctes: la partie théorique et la partie expérimentale.

La partie théorique est constituée de deux chapitres:

- Le premier chapitre est consacré aux généralités sur les biomatériaux. On a cité les différents domaines d'application de ces matériaux selon leur réaction quand ils sont implantés dans le corps humain. En plus, on a décrit les différents biomatériaux utilisés pour le comblement osseux. Une description de la structure de l'os ainsi que le remodelage osseux ont été bien détaillés.
- le deuxième chapitre est consacré à décrire l'hydroxyapatite. Les différentes méthodes de synthèse de ce matériau, leur propriétés physico-chimiques ainsi que le processus de précipitation de « bone like-apatite » à la surface de ce matériau, quand il est immergé dans des solutions physiologiques ou implanté dans le corps humain, ont été décrites.

La partie expérimentale englobe les techniques expérimentales utilisées et les résultats expérimentaux; elle est repartie en deux chapitres:

- le troisième chapitre donne une description détaillée de l'hydroxyapatite étudiée et les additions utilisées. Ainsi, il décrit les différents matériels et techniques utilisés pour la synthèse et la caractérisation des matériaux étudiés.

- le quatrième chapitre traite les propriétés physico-chimiques de l'hydroxyapatite naturelle et l'hydroxyapatite dopée (hydroxyapatite + produits inertes); traitées à 1250°C; en fonction du temps d'immersion dans un liquide physiologique.

Enfin, une conclusion générale résume les résultats les plus importants de ce travail.

# CHAPITRE I : GENERALITS

# CHAPITRE I: GENERALITES

## 1. Introduction

Chez l'homme, les capacités naturelles de réparation de l'os sont limitées surtout pour le traitement de tumeurs, de kystes ou de foyers infectieux qui nécessitent l'utilisation de pièces osseuses de taille trop importante. Pour cela, il a essayé de remplacer les parties déficientes des tissus ou des organes depuis longtemps. Les substituts utilisés étaient de provenance diverse et les conséquences n'étaient pas toujours les plus heureuses pour les patients. L'utilisation des biomatériaux est devenue théoriquement possible depuis 1860 quand le Dr Lister a développé la technique de la chirurgie antiseptique [1]. Au cours du dernier siècle, la recherche dans ce domaine à beaucoup avancé d'où il est nécessaire d'enrichir le vocabulaire avec des termes comme biomatériaux, biocompatibilité, bioactivité, biorésorbabilité… etc.

## 2. Domaines d'applications des biomatériaux

Les biomatériaux ont plusieurs applications médicales ou paramédicales [2], dont :

- **Ophtalmologie**
  - Lentilles de contact (elles sont souvent exclues du domaine en raison de leur faible temps de contact avec les tissus organiques du corps).
  - Implants.
  - Coussinets de récupération.
  - Produits visqueux de chambre postérieure.
- **Odontologie - Stomatologie**
  - Matériaux de restauration et comblement dentaire et osseux.
  - Traitement prophylactiques.
  - Orthodontie.
  - Traitement du parodonte et de la pulpe.
  - Implants.
  - Reconstruction maxillo-faciale.
- **Chirurgie orthopédique**
  - Prothèses articulaires (hanche, coude, genou, poignet…)
  - Orthèses.
  - Ligaments et tendons artificiels.
  - Cartilage.
  - Remplacement osseux pour tumeur ou traumatisme.
  - Chirurgie de la colonne vertébrale.
  - Réparation de fractures (vis, plaques, clous, broches).
  - Matériaux de comblement osseux injectables.



**Figure I. 1: Une prothèse de genou [2].**

- **Cardiovasculaire**
  - Valves cardiaques.
  - Matériel pour circulation extracorporelle (oxygénateurs, tubulures, pompes…).
  - Cœur artificiel.
  - Assistance ventriculaire.
  - Stimulateur cardiaque.
  - vasculaires.

- **Urologie/ Néphrologie**
  - Dialyseurs.
  - Poches, cathéters et tubulures pour dialyse péritonéale.
  - Rein artificiel portable.

- **Endocrinologie-Chronothérapie**
  - Pancréas artificiel.
  - Pompes portables et implantables.
  - Systèmes de libération contrôlée de médicaments.
  - Biocapteurs.

- **Chirurgie esthétique**
  - Matériaux et implants.

- **Chirurgie générale - Divers**
    - Drains de chirurgie.
    - Colles tissulaires.
    - Peau artificielle.
    - Produits de contraste.
    - Produits pour embolisation.
    - Produits pour radiologie interventionnelle.



**Figure I. 2:Un implant [2].**

## 3. classification de biomatériaux

Les biomatériaux peuvent être classés en fonction de leur réactivité par rapport à l'organisme en biocompatibles, biotolérés, bioinertes, bioactifs, biorésorbables, non-résorbables, Ostéoconducteurs et ostéoinducteurs. Aujourd'hui les biomatériaux sont largement utilisés pour la réparation de tissus et des organes défectueux surtout avec le progrès de la biologie cellulaire et l'ingénierie tissulaire [1, 3, 4].

### 3. 1. Biomatériaux toxiques

Ils empoisonnent l'environnement biologique direct lorsqu'ils sont introduits dans le corps humain (ex: les aciers).

### 3. 2. Biomatériaux inertes

Aucune liaison ne se développe entre les tissus osseux et l'implant : le matériau est lié au tissu vivant par une capsule fibreuse d'épaisseur variante (ex: Ta, $TiO_2$, $Al_2O_3$ et $ZrO_2$).

### 3 .3. Biomatériaux bioactifs

Ils forment un lien biochimique direct avec la surface du matériau accompagné d'une croissance libre. Par exemple : l'hydroxyapatite (HA) dense, le phosphate tricalcique (TCP) et certains verres.

### 3. 4. Biomatériaux biorésorbables

Ce type de biomatériau, une fois implanté, se dégrade suite aux activités enzymatiques, cellulaires ou encore bactériennes.

## 4. Définitions

### 4. 1. Biomatériau:

On peut définir les biomatériaux comme étant des substances naturelles ou synthétiques, capables d'être tolérées par le corps humain. Ils présentent un intérêt croissant à cause de leur utilisation en chirurgie réparatrice. Ils présentent une alternative aux autogreffes (prélèvement de tissu sur l'individu lui-même), aux allogreffes (prélèvement de tissu sur un individu de la même espèce) et aux xénogreffes (prélèvement de tissu sur une espèce différente) [5].

En 1986, la Conférence de Chester de la Société Européenne des Biomatériaux, dite de consensus, a retenu pour les biomatériaux la définition suivante *: "matériaux non vivants utilisés dans un dispositif médical destiné à interagir avec les systèmes biologiques*" [1].

### 4. 2. Bioactivité

La bioactivité est liée à la modification de la surface du matériau avec la formation de l'hydroxyapatite carbonatée suite à la dissolution, précipitation et les réactions d'échanges avec l'environnement physiologique [6, 7]. Le lien formé entre le matériau et le tissu vivant permet la fixation et la stabilisation de l'implant ou la prothèse [7].

### 4. 3. Ostéoinduction

L'ostéoinduction est la capacité d'induire la formation osseuse en site extra osseux [5, 8].

### 4. 4. Ostéoconduction

L'ostéoconduction correspond à la « propriété passive d'un matériau à recevoir la repousse osseuse, par invasion vasculaire et cellulaire à partir du tissu osseux receveur au contact du matériau » [5, 9]. L'ostéoconduction est en partie dépendante de la taille des pores du biomatériau.

### 4. 5. Ostéoformation

L’ostéoformation qui correspond à la construction de la matrice osseuse par des cellules ostéoformatrices [9].

## 5. Tissu osseux

D’un point de vue biologique, l’os est un tissu vivant important qui peut servir à plusieurs fonctions dans le corps humain. Il fournit non seulement le soutien structurel, la protection des organes, mais il représente l’essentiel des réserves du métabolisme des minéraux tels que le calcium. Aussi, il est le site principal pour la synthèse des cellules sanguines. En outre, il est capable de maintenir une forme et une structure optimale tout au long de la vie par le biais d'un processus continue de renouvellement. Cela lui permet de répondre à l'évolution de l’environnement mécanique par "remodelage" en maintenir un équilibre optimal entre la forme et la fonction. Sur un niveau élémentaire, le tissu osseux est composé de la matrice osseuse « les os », de cellules, de la moelle osseuse et du réseau vasculaire [10].

### 5. 1. Différents types d’os du point de vue macroscopique

Le tissu osseux se présente sous deux aspects bien distincts: l'os trabéculaire et l'os cortical.

#### 5. 1. a- L'os spongieux ou trabéculaire

Si l'os cortical a une structure dense et microporeuse (avec des pores de 1 à 10 µm) [11], l'os trabéculaire, schématisé sur la figure (I. 3) possède en revanche une structure macroporeuse (pores de 200 à 400 µm). Cette structure lui confère des propriétés structurelles et fonctionnelles différentes, et lui offert en particulier une importante surface d'échange avec les fluides [11].

L'os trabéculaire prend donc plus particulièrement part aux fonctions métaboliques telles que l'homéostasie du calcium.

#### 5. 1. b- L'os cortical

L'os cortical possède une structure très hiérarchises a diverses échelles (figure I. 4). Il se compose de fibres de collagène sur lesquelles se développent les cristaux du minéral osseux. Ces fibres sont collées parallèlement les unes aux autres et forment ainsi des lamelles; l'enroulement concentrique de ces dernières constitue des ostéons, traversés en leur centre par un réseau de nerfs et de vaisseaux sanguins tridimensionnel.

L'empilement compact des ostéons permet à l'os cortical d'assumer la majeure partie du soutien mécanique et de la fonction protectrice du squelette.

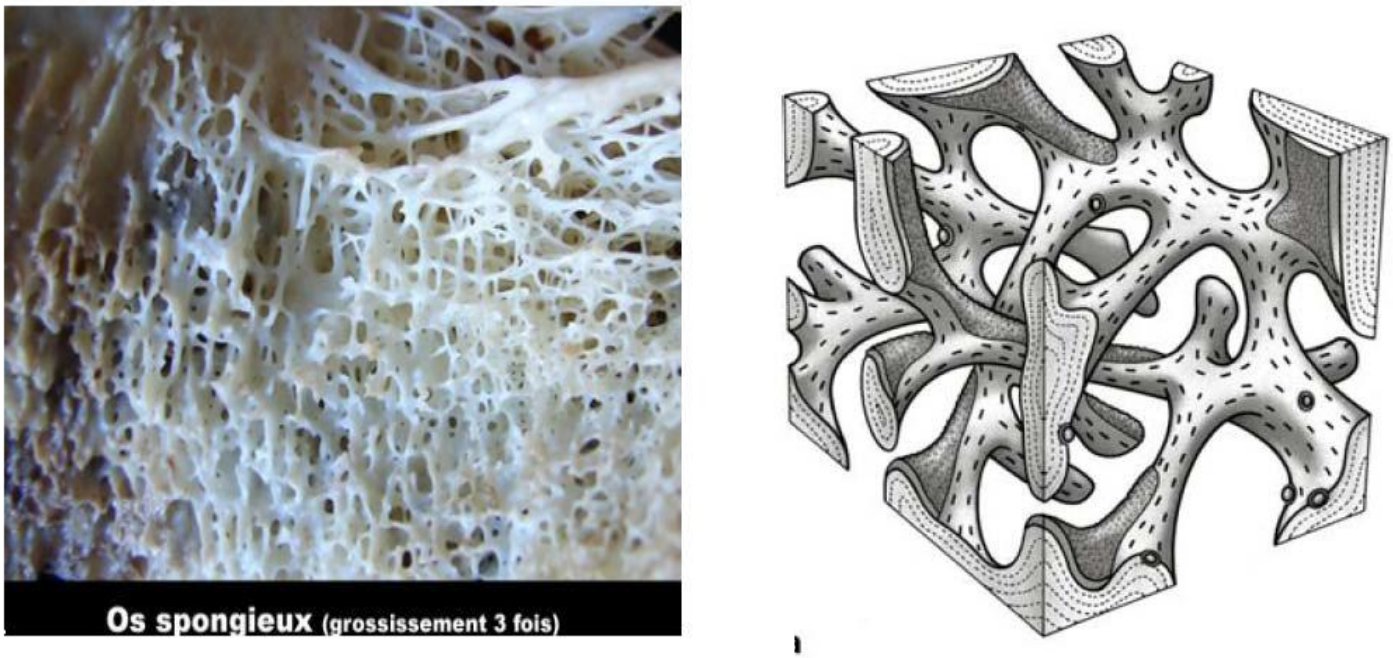



**Figure I. 3: la structure de l'os spongieux [12, 13].**

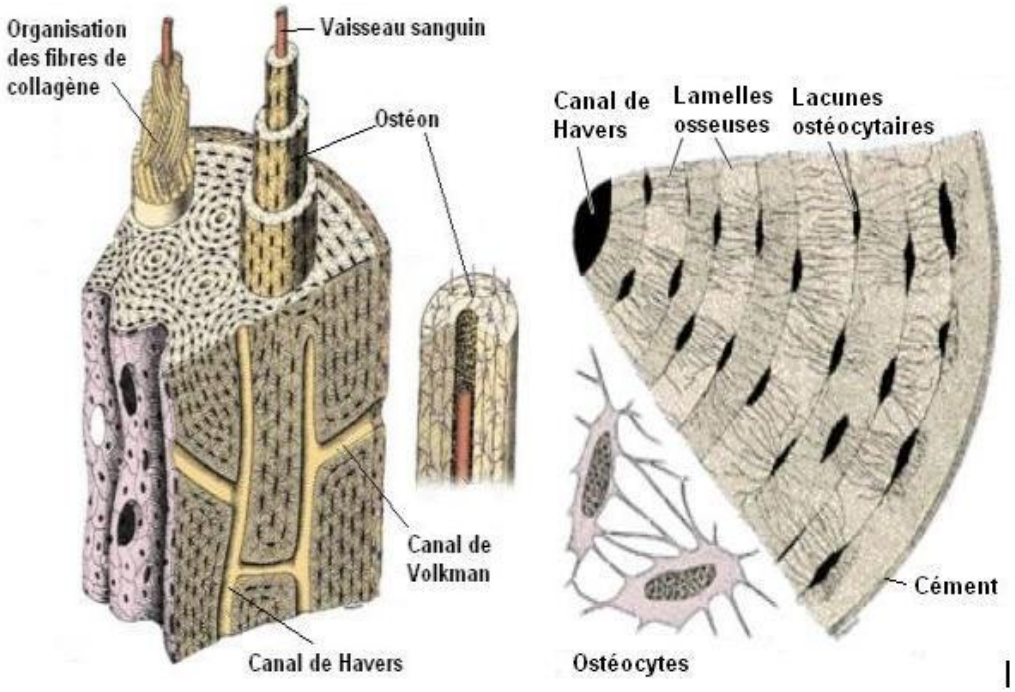



**Figure I .4: la structure de l'os cortical [13].**

## 5. 2. Composition de l'os naturel

L'os naturel est approximativement composé de 67% de phase minérale, 21% de phase organique et 12% d'eau [14].

### 5. 2. a- Phase organique

- **Les cellules:** Trois types de cellules caractérisent le tissu osseux: les ostéoblastes, les ostéocytes et les ostéoclastes. L'os est constitué d'une matrice extracellulaire synthétisée par les ostéoblastes (cellules ostéoformatrices) et résorbée par les ostéoclastes (cellules ostéorésorbantes).

- ✓ **Ostéoblastes:** ils sont situés côte à côte à la surface des os: le tissu ostéoïde. Ces cellules sont responsables de la synthèse et la calcification de composés organiques de la matrice osseuse. Quand ils sont actifs, leur taille varie de 15 à 80 μm [14, 15].
- ✓ **Ostéocytes:** Ces cellules occupent les lacunes dans la matrice osseuse. Ce sont des cellules longues et minces (30 μm sur 10 μm). Ils sont en fait des ostéoblastes transformés en cellules de base du tissu osseux après l'élaboration de la matrice minéralisée [16]. Ils participent au maintien de la matrice osseuse et à l'homéostasie de la calcémie, alors que leurs capacités de synthèse et de résorption sont limitées [17].

- ✓ **Ostéoclastes:** ils sont responsables du processus de résorption osseuse au niveau du tissu osseux vieilli. La fraction minérale se dissout par un abaissement local du pH au voisinage de 5, dû à la libération extracellulaire des protons sous l'action d'anhydrase carbonique. La dégradation de la matrice organique se réalise par clivage enzymatique [16, 18, 19].

- **matrice organique:** elle est composée de fibres de collagène et d'une substance fondamentale.

- ✓ **Les fibres collagènes**: Le collagène représente presque la totalité de la matière organique de l'os (90%) dépourvu de sa substance lipidique. L'unité de base du collagène est la molécule de tropcollagène. Les molécules s'ordonnent parallèlement entre elles selon une organisation précise. La nucléation des cristaux d'apatite débuterait au niveau des espaces entre les molécules de tropocollagène. La formation

des fibrilles de collagène, en se groupant en faisceaux épais, donne naissance aux fibres collagènes [15, 19].

- ✓ **La substance fondamentale:** elle est composée de lipides et de protéines non collagèniques, qui interviennent dans le processus de minéralisation. Ils interviennent dans le processus de minéralisation osseuse en se liant au calcium et en le fixant sur les cristaux d'hydroxyapatite [14, 19].

## 5. 2. b- Composition minérale

La phase inorganique dans l'os s'apparente à l'hydroxyapatite de formule chimique $Ca_{10}(PO4)_6(OH)_2$ [20]. L'apatite de l'os est un phosphate de calcium déficient dont le rapport molaire (Ca/P) varie de 1.37 à 1.87 [21, 22]. En plus, elle est caractérisée par un désordre intérieur du cristal et la substitution de différents d'ions en petites quantités comme le sodium, le magnésium et d'autres éléments traces [20, 23, 24]. Comme il est présenté dans le tableau I.1, l'os n'est pas vraiment analogue à l'hydroxyapatite mais plutôt à une apatite carbonatée de type

A-B [24, 25] qui contient des éléments majores (Ca et P) et d'autres éléments traces qui jouent un rôle important sur sa bioactivité [10].

La composition de l'os dépend du site, de l'âge, du régime alimentaire et de la présence des maladies. Dans certains états physiologiques, (la vieillesse, la grossesse), quand le métabolisme du calcium est impliqué, les éléments traces se libèrent très rapidement en se transportant par le sang vers d'autres sites [26].

**Tableau I .1: La composition minérale de l'os.**

| référence | [Ca] | [P] | [Na] | [Mg] | [K] | Sr,Zr,Cu | $CO_3$ | F | Cl | (Ca/P) (en mole) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| [21] | 26.7 | 12.5 | 0.73 | 0.44 | 0.06 | Sr=0.04 | 3.48 | 0.07 | 0.08 | 1.66 |
| [22] | 36.7 | 16.0 | 0.77 | 0.46 | -------- | -------- | 8.00 | 0.04 | ------ | 1.77 |
| [23] | 34.0 | 15.0 | 0.80 | 0.50 | 0.20 | -------- | 1.60 | 0.08 | 0.2 | 1.75 |
| [26] | 24.5 | 11.5 | 0.70 | 0.55 | 0.03 | Traces | 5.80 | 0.02 | 0.10 | 1.65 |

Les données présentées dans le tableau I.1 montrent les nombreux minéraux que contiennent les phases minérales des tissus osseux. Les quatre éléments qui y sont prépondérants sont le calcium, le phosphore ($PO_4^{2-}$, $HPO_4^{2-}$), le carbone ($CO_3^{2-}$) et l'oxygène ($O^{2-}$,$OH^-$, $PO_4^{2-}$, $HPO_4^{2-}$). Les teneurs en sodium, magnésium et chlore variant de manière importante suivant le tissu considéré. Les autres éléments, tells que le fluore, le strontium et le potassium, font office de traces.

## 5. 3. Mécanisme de remodelage osseux

L'os cortical ou spongieux peut être renouvelé d'une façon continue pour combler la perte des substances osseuse ou pour contrôler le taux de calcium relargué dans l'organisme par échange métabolique. Le remodelage osseux s'effectue par un processus cyclique lié à la résorption du tissue osseux, puis sa reformation, où l'équilibre entre destruction et formation est maintenue par les ostéoclastes et les ostéoblastes. D'autres facteurs influent sur le remodelage osseux comme les facteurs locaux du microenvironnement (cytokines), les facteurs de croissance, et des hormones [8,27]. L'os se renouvelle en cinq étapes [28, 29]:

- Phase de quiescence: au cours de cette phase l'os est en repos, sa surface est recouverte de cellules allongées et très fines « cellules bordantes » (figure I. 5:(a)).
- Phase d'activation: c'est la phase ou les cellules mononuclées coupent les cellules bordantes et se regroupent sur la surface minéralisée de tissu.
- Phase de résorption du tissu osseux (1 à 2 semaines): les ostéoclastes se repartissent le long du tissu osseux en résorbant un petit volume de l'os et formant une cavité de dimensions bien déterminées. Ensuite, les ostéoclastes sont remplacés par des cellules mononuclées d'origine macrophagique et/ ou précurseurs d'ostéoblastes (figure I. 5:(b)).
- Phase intermédiaire: les cellules mononuclées aplanissent la surface de la cavité et engendrent la formation d'un nouveau tissu jeune minéralisé (figure I. 5:(c)).
- Phase de production du tissu osseux (3 mois): le processus se poursuit jusqu'à que la lacune soit comblé par l'os jeune et les ostéoblastes synthétisent les fibres collagène et les protéines nécessaires à la minéralisation. L'os retourne à l'état inactif jusqu'au cycle suivant (figure I. 5:(d, e)).

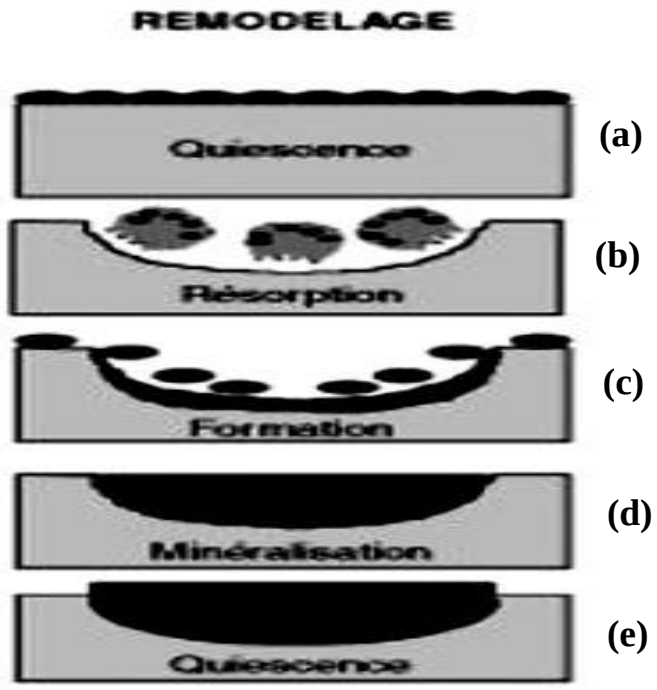



**Figure I. 5: Etapes de remodelage osseux [30].**

## 6. Les différents types de biomatériaux

La nature (métaux, greffes d'origine biologique, céramiques,…), les applications biomédicales (prothèses, revêtement prothétiques, comblement de défauts osseux,…), et les propriétés des biomatériaux (stabilité à long terme de l'implant, dégradation contrôlée,….) sont très diverses. Il existe donc une grande diversité de biomatériaux que l'on peut classer en quatre grandes catégories suivant leur nature.

### 6. 1. Biomatériaux métalliques

Même si les matériaux céramiques et l'os artificiel sont très utilisés en orthopédie, leurs faibles propriétés mécaniques ne permettent pas d'applications sans un support métallique. Les premières prothèses, implantées au début du siècle passé, ont été fabriquées en acier allié au vanadium et depuis, plusieurs matériaux métalliques ont été essayé [31].

- Composés intermétalliques,
- Métaux purs (Au, Pt, Ti, Ta, Co,…),
- Alliages métalliques (acier inoxydable,…).

Les principaux problèmes mal résolus avec les métaux et alliages métalliques sont les suivants:

- corrosion électrochimique et durabilité,

- mécanismes de dégradation non électrochimiques incluant les interactions protéine/métal,
- réactions immunitaires et d'hypersensibilité,
- adaptation des propriétés mécaniques,
- propriétés de frottements et problèmes de débris.

## 6. 2. Biomatériaux en céramiques

Une catégorie de matériaux très intéressante pour la médicine est celle des céramiques. Leur variété de structure, de propriété de surface et de porosité permettent une large gamme d'utilisation en dépit de leurs propriétés mécaniques souvent faibles [32]. Les matériaux céramiques présentent des réactivités différentes vis-à-vis du corps humain. Dans le domaine des biomatériaux, on rencontre principalement l'alumine et la zircone utilisées dans les têtes de prothèses de hanche, ainsi qu'en odontologie pour les implants dentaires. Il faut signaler tout particulièrement les utilisations et les développements de deux céramiques à base de phosphate de calcium : l'hydroxyapatite (HA) et le β- phosphate tricalcique (β-TCP).

En effet, ces matériaux présentent l'avantage d'être ostéoconducteurs, c'est-à-dire de favoriser la repousse osseuse au contact et la colonisation par l'os; 65 % de la matière constituant le tissu osseux est d'ailleurs une forme de phosphate tricalcique encore assez mal connue dont la formule chimique s'apparente à l'hydroxyapatite, mais dont l'agencement spatial en diffère notablement puisque des cristaux d'hydroxyapatite y sont accolés à des fibres de collagène. En outre, l'HA poreuse et les céramiques à base de TCP sont biorésorbables. Le principal problème avec l'HA est d'arriver à synthétiser une HA ayant juste la bonne taille de pores pour que la colonisation se fasse bien.

On trouve donc des utilisations de l'HA dans les implants et matériaux de comblement dentaires et dans la chirurgie orthopédique. Des vaisseaux artificiels à base d'HA frittées ont même été élaborés. On peut ajouter à cette catégorie de matériaux les verres au phosphate, ou bioverres de Hench, qui assurent un accrochage de type quasi chimique avec le tissu osseux [33].

Ainsi, on distingue trois types de biomatériaux céramiques [32]:

- Céramiques bioinertes (oxydes, carbures, carbone,...),
- Céramiques bioactives (hydroxyapatite, verres bioactifs, β-TCP, vitrocéramiques),
- Céramiques résorbables.

Les principaux problèmes mal résolus avec les céramiques sont :

- les mécanismes de dégradation,
- la durabilité,
- la résistance à la fracture,
- l'activité de surface,
- l'adhésion des protéines ou des cellules en surface.

Avec les céramiques biorésorbables, les problèmes sont :

- la mesure et le contrôle de la biorésorption et l'effet sur le tissu local,
- la calcification,
- la connaissance des effets des enzymes sur la dégradation,
- les effets de la stérilisation sur la biorésorbabilité,
- les effets sur la cicatrisation et la formation de l'os.

## 6. 3. Biomatériaux à base de polymères de synthèse

Grâce à leur usinage aisé sous diverses formes les matériaux polymériques sont largement utilisés en implantologie: fibres, profilés, bandes, feuilles, fils, etc. Certains polymères présentent une forte ressemblance avec les composants polymériques naturels du corps humain, comme le collagène. Ainsi, dans certaines situations la liaison entre un polymère synthétique et un polymère tissulaire (naturel) devient possible.

Grâce à leur biocompatibilité, les polymères adhésifs sont utilisés pour la suture ou la cicatrisation des blessures. Ils peuvent être également utilisés pour fixer les implants orthopédiques. Dans la recherche, on retrouve deux grandes tendances en fonction de l'usage des polymères [1].

- **La recherche de polymères fonctionnels** : dans ce cas les polymères sont susceptibles d'avoir une fonction chimique particulière à l'interface matériau-tissu vivant. Un exemple est la capacité d'interaction avec les ostéoblastes favorisant la croissance osseuse. La "fonctionnalité" peut notamment être obtenue par la modification de l'état de surface du polymère par implantation ionique ou par greffage de substances fonctionnelles.

  Ceci est envisagé par la fixation sur le polymère de groupements ionisés tels que les orthophosphates, les carbonates, les carboxylates, etc.
- **La recherche de polymères résorbables**: des exemples de polymères biorésorbables sont les copolymères d'acide lactique et d'acide glycolique qui sont utilisables en chirurgie orthopédique traumatologique, ou les polyanhydrides et/ou polyaminoacides qui sont utilisés dans les formes retard de médicaments [1].

Les utilisations des polymères dans le domaine des biomatériaux sont extrêmement nombreuses:

- Elastomères (silicones, polyuréthanes,…),
- Plastiques (thermodurcissables, thermoplastiques,…),
- Biorésorbables (acides polylactique et polyglycolique,…).

Les principaux problèmes mal résolus avec les polymères actuellement mis en œuvre ne concernent pas que la biocompatibilité à l'interface matériau- tissu. Pour les polymères non résorbables on peut citer [33] **:**

- instabilité au rayonnement gamma,
- réactivité à certains types de médicaments,
- variabilité de chaque "lot",
- stabilité hydrolytique,
- calcification,
- risques liés aux additifs, aux composants de bas poids moléculaire, aux produits de dégradation in vivo, aux produits résiduels de stérilisation,
- manque de base de données pour évaluer les propriétés de surface, les réactions de biocompatibilité, la mutagénicité/carcinogénicité, etc.

Pour les polymères biorésorbables on a de même :

- manque de mesures de dégradation et de biorésorption,
- effets biologiques des produits de dégradation,
- effets des enzymes sur la dégradabilité,
- érosion de surface ou érosion de la masse,
- effets de la stérilisation sur la biodégradabilité,
- effets de la stérilisation sur les agents pharmacologiques incorporés au polymère,
- effets sur la cicatrisation.

## 6. 4. Biomatériaux d'origine naturelle

Le souci de biocompatibilité des implants a orienté les chercheurs vers des matériaux logiquement biocompatibles puisque d'origine naturelle [33].

Outre les tissus biologiques retraités (valves porcines, carotide de bœuf, veine ombilicale, ..), le sulfate de chondroitine et l'acide hyaluronique, on trouve parmi ceux-ci:

- **les greffes,** en général (autogreffes, allogreffes, hétérogreffes). Les matériaux biologiques naturels sont appelés greffes et peuvent provenir soit du patient lui-même (autogreffe), soit d'un autre patient (allogreffe), soit d'un animal (hétérogreffe).

- **la chitine**, polysaccharide extrait des coquilles de crabe, qui est susceptible d'application pour les fils de suture, la chirurgie reconstructive et la peau artificielle ;
- les **fucanes**, polysaccharides extraits des algues marines (anticoagulants - anticomplémentaires, etc...) .
- **les dextranes** et autres polysaccharides fonctionnalisés (le dextrane est préparé par transformation de saccharose par des bactéries).
- **la cellulose**, traditionnellement utilisée pour les membranes de dialyse, mais dont

d'autres applications sont à l'étude, notamment comme ciment de prothèse de hanche.

- **le corail**, qui pourrait être utilisé en chirurgie orthopédique et/ou maxillo-faciale, grâce à la possibilité de recolonisation de ce matériau par les cellules osseuses.
- **le collagène**, d'origine animale (extrait de la peau) ou humaine (extrait du placenta humain) et dont les applications existantes ou envisageables sont très nombreuses
    - cosmétologie et chirurgie esthétique.
    - implants oculaires et pansements ophtalmologiques,
    - reconstitution de tissus mous et durs à l'aide de mélanges collagène-facteurs de croissance-hydroxyapatite,
    - peau artificielle (derme).

L'avantage du collagène réside dans le fait que :

- c'est un produit hémostatique,
- il a certaines propriétés mécaniques qui permettent de le manipuler,
- il est indispensable au développement cellulaire,
- il est biodégradable [33].

# CHAPITRE II : HYDROXYAPATITE

# CHAPITRE II: HYDROXYAPATITE

## 1. Introduction:

La phase minérale du tissu osseux s'apparente à une apatite phosphocalcique lacunaire mal cristallisée au sein de quelle de nombreuses substitutions ionique peuvent être recensées. Les processus naturels de restauration osseuse mis en jeu suite a l'apparition de lésions peuvent s'avérer insuffisants en raison de leur lenteur ou conduire à une fragilisation plus ou moins localisée du tissu. Pour favoriser le remodelage de ce dernier, la chirurgie moderne fait fréquemment appel à des substituts osseux synthétiques. Parmi l'ensemble des matériaux susceptibles de répondre à ce besoin, les phosphates de calcium, grâce a une composition chimique proche de celle de l'os, possèdent des propriétés de compatibilité biologique vis a vis des tissus environnants qui les rendent particulièrement attractifs [34]. Les apatites constituent une famille de composés minéraux décrite par la formule chimique $Me_{10}(XO_4)_6(Y)_2$ dans laquelle Me est un métal bivalent ($Ca^{2+}$, $Sr^{2+}$, $Ba^{2+}$, $Pb^{2+}$), $XO_4$ un anion trivalent ($PO_4^{3-}$,$AsO_4^{3-}$...) et Y un anion monovalent ($F^-$, $Cl^-$, $Br^-$, $I^-$, $OH^-$...) . Les apatites cristallisent généralement dans le système hexagonal. Une particularité de cette structure réside dans sa capacité de former des solutions solides et d'accepter un grand nombre des substituants. Ainsi, les cations bivalents ($Me^{2+}$) peuvent être remplacés par autres cations bivalents, mais également par des cations monovalents ($Na^+$, $K^+$) ou trivalents($La^{3+}$,$Eu^{3+}$, $Ga^{3+}$). Les groupement $XO_4^{3-}$ peuvent également être substitués par des anions bivalents ($CO_3^{2-}$, $SO_4^{2-}$, $HPO_4^{2-}$) ou tétravalents ($SO_4^{4-}$) . Enfin, les groupements Y, peuvent aussi être substitués par des ions bivalents ($CO_3^{2-}$, $O^{2-}$, $S^{2-}$) et/ ou par des lacunes [34].

## 2. Hydroxyapatite

L'hydroxyapatite (HA) est une espèce minérale de la famille des phosphates, de formule $Ca_5(PO_4)_3(OH)$, usuellement écrite $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ pour souligner le fait que la maille de la structure cristalline comprend deux molécules. L'hydroxyapatite est le membre hydroxylé du groupe apatite. L'ion $OH^-$ peut être remplacé par le fluor, le chlore ou le carbonate. L'hydroxyapatite cristallise dans le système hexagonal. Notant que la poudre d'hydroxyapatite pure est blanche. Celles que l'on trouve dans la nature peuvent cependant être de couleur marron, jaune ou verte. On peut rapprocher ceci de la décoloration observée dans la fluorose dentaire [35].

## 3. Hydroxyapatite stœchiométrique

Bien que l'hydroxyapatite stœchiométrique pure, de formule générale $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ et de rapport atomique Ca/P =1,67 n'intervienne jamais dans les systèmes biologiques, elle sert de modèle pour les minéraux osseux et dentaire. Elle est donc très utilisée pour l'élaboration de substituts osseux ou dentaires, sous formes de céramiques, de ciments ou de composites. Elle cristallise dans le groupe d'espace P63/m du système hexagonal [36]. Ses paramètres de maille sont les suivants :

a = 9, 418 Å  c = 6,881 Å  β = 120°

La structure cristallographique de l'hydroxyapatite est représentée sur la figure (II .1) L'HA est formée d'un empilement de tétraèdres d'ions phosphate qui constituent deux types de tunnels parallèles à l'axe c :

- le premier correspond à l'axe ternaire du cristal. Il est occupé par des ions calcium et son diamètre mesure environ 2 Å.
- le second correspond à l'axe sénaire hélicoïdal et est situé au sommet de la maille élémentaire. Les parois de ce tunnel sont constituées d'atomes d'oxygène ou de calcium et il est occupé par les ions hydroxyde. La taille de ce tunnel est de 3 Å pour l'HA. Les ions qui se trouvent dans les tunnels sont peu liés au reste du réseau qui constitue l'édifice stable, ce qui confère aux apatites des propriétés d'échangeur d'ions et d'accepter de petites molécules ($O_2$, $H_2O$,…).

La maille cristalline, représentée en traits pleins sur la figure (II. 1), contient deux motifs.

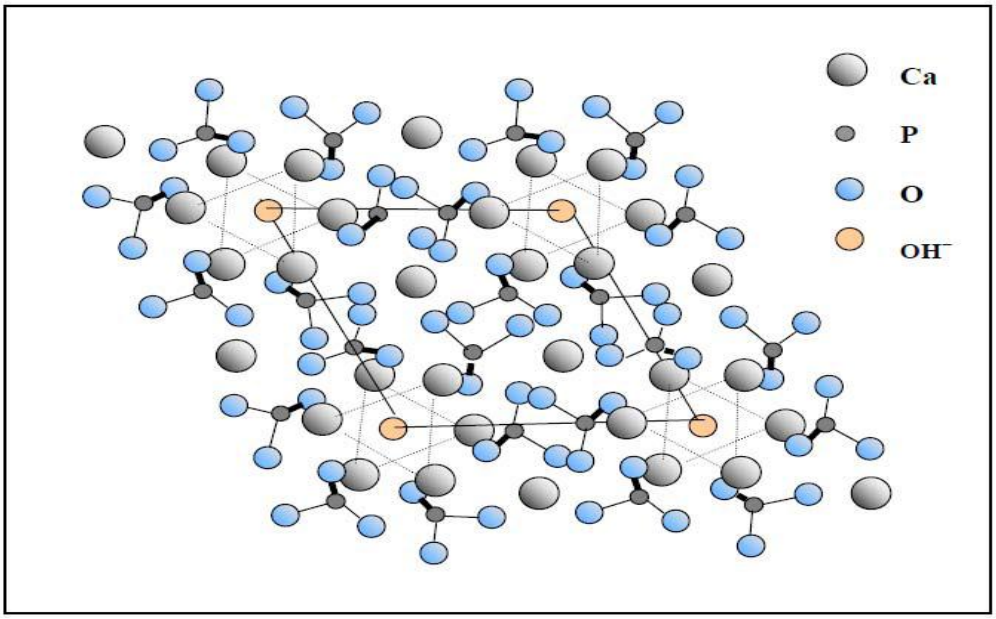



**Figure II. 1: Projection dans le plan de base (001) de la structure de l'hydroxyapatite [37].**

## 4. Les différentes hydroxyapatites

HA peut être d'origine animal ou synthétisée par plusieurs méthodes.

### 4. 1. HA d'origine animale

Le souci de biocompatibilité des implants a orienté les chercheurs vers des matériaux logiquement biocompatibles puisque d'origine naturelle. Ces substituts osseux sont du l'os d'origine animale (généralement bovin) débarrassé de leur moelle osseuse. Selon les différents traitements subits par ces substituts osseux d'origine animale, on peut les classer en fonction de la conservation ou non de la matrice protéinique, en particulier du collagène de type I.

Seuls les produits conservant en partie la matrice protéinique ou le collagène de type I sont considérés comme des substituts osseux d'origine animale. Parmi eux, on trouve les greffes en général (autogreffes, allogreffes, hétérogreffes), le collagène, d'origine animale (extrait de la peau) ou humaine (extrait du placenta humain) et dont les applications existantes ou envisageables sont très nombreuses [38, 39].

Les autres qui ne conservent pas leur matrice protéinique, sont assimilés à l'hydroxyapatite (HA) [38, 40, 41], ainsi on trouve les répliques de corail en HA, qui pourrait être utilisé en chirurgie orthopédique et/ou maxillo-faciale, grâce à la possibilité de recolonisation de ce matériau par les cellules osseuses [42, 43].

### 4. 2. HA synthétisée

Deux voies sont utilisées pour la synthèse de l'hydroxyapatite: la voie humide et la voie sèche (Synthèse à l'état solide). Plusieurs méthodes ont été suivie pour la préparation de l'HA par voie humide, on peut citer:

- Synthèse par voie hydrothermale.
- Synthèse par voie précipitation.
- Synthèse par voie sol-gel.

### 4. 2. a- Voie humide

#### 4. 2. a. 1- Synthèse par voie hydrothermale

Cette voie permet de synthétiser des ciments phosphocalciques grâce à des réactions acidobasiques entre des phosphates de calcium à caractère acide et des phosphates de calcium à caractère basique. Le ciment est constitué d'un mélange de trois phosphates de calcium: le phosphate monocalcique ($Ca(H_2PO_4)_2$, $H_2O$), le phosphate tricalcique ($\beta$-$Ca_3(PO_4)_2$) et le phosphate tétracalcique ($Ca_4(PO_4)_2O$) [44, 45]. Ils réagissent entre eux en présence d'eau selon la réaction suivante:

$$\mathbf{a\ (Ca(H_2PO_4)_2,\ H_2O) + b\ (\beta\text{-}Ca_3\ (PO_4)_2) + c\ Ca_3(PO_3)_2O \longrightarrow\ Ca_{10}\ (PO_4)_6(OH)_2}$$

Les coefficients stœchiométriques a, b et c sont reliés par les relations:

b =2-3a et c =1 +2 a.

La réaction entre les différents phosphates de calcium s'est produite en milieu hydrothermal (200°C; 1,56 MPa; 48 h); la mise en forme est effectuée préalablement par pastillage des réactifs. Ce procédé permet d'obtenir, à basse température, des céramiques possédant de bonnes propriétés mécaniques, tout en conservant les propriétés remarquables des minéraux de la famille des apatites phosphocalciques.

**4. 2. a. 2- Synthèse par précipitation**

Cette voie de synthèse est souvent utilisée. On ajoute des sels de calcium et un composé de phosphate à l'eau, ou on ajoute, goutte à goutte, le phosphate à une solution aqueuse de sel de calcium. Parmi les sels utilisés, on trouve les nitrates de calcium, l'hydroxyde de calcium, le chlorure de calcium ou l'acétate de calcium. Deux solutions sources de phosphore sont utilisées: hydrogénophosphate de diammonium ou l'acide phosphorique. Deux réactions ont été étudiées en détail:

- La réaction du nitrate de calcium ($Ca(NO_3)_2$) avec hydrogénophosphate de diammonium $(NH_4)_2HPO_4$.

**5 $Ca_2$ + (aq) + 3 HP$O_4^{2-}$(aq) + 4 NH3 (aq) + $H_2O$ _ $Ca_5(PO_4)_3OH$ (s) + 4 $NH_4$+ (aq)**

- L'ajout d'acide orthophosphorique à l'hydroxyde de calcium [46, 47].

La réaction est menée avec des réactifs purs à un pH supérieur à 9, notant que la température du réacteur (entre 25 et 90°C) et le débit d'ajout des réactifs sont bien contrôlé. Le réacteur est sous agitation permanente.

Un rendement de 87% à été obtenu après la réaction de l'acide phosphorique avec l'hydroxyde de calcium, avec une vitesse de 50g / heure. Pour les mêmes conditions de production, ils ont obtenu un rendement de 29% en utilisant les nitrates de calcium et l'hydrogénophosphate de diammonium. Le rapport molaire (Ca/P) est atteint en moins de 5 heures après l'achèvement de la réaction à 90°C. Pendant la maturation, la forme des cristaux est modifiée et les cristaux minces deviennent des "blocs" avec un ratio molaire (Ca / P) proche de 1,67 [48]. Après maturation, le précipité est lavé plusieurs fois avec l'eau bi-distillée. Une haute pureté de l'eau est indispensable à tout moment, car l'apatite incorpore facilement des éléments étrangers dans la structure. Le précipité est enfin séché et calciné pour éliminer les traces de nitrate d'ammonium.

**4. 2. a. 3- Synthèse par voie sol-gel**

L'avantage de cette méthode c'est qu'elle permet d'avoir un produit très pur à une température basse. En plus, elle permet une forte homogénéisation de la

composition. Cette voie a été utilisée par plusieurs chercheurs [49-52]. Seulement pour certains travaux, la synthèse de l'HA a été toujours accompagnée de la formation de l'oxyde de calcium [50,51]. Pour la synthèse de l'HA, on peut utiliser l'alkoxyde phosphorique et les nitrates de calcium comme précurseurs de P et Ca [49]. Dans un autre travail de recherche, ils ont utilisés l'éthanol comme solvant en milieu alcalin pour obtenir des nano cristaux d'HA stœchiométrique [52]. Ils ont ajouté 0,5 M de $Ca(NO_3)_2 4H_2O$ dans l'éthanol de pH 10,5 à 0,5 M $(NH_4)_2PO_4$ avec un débit d'ajout très faible de 5 ml/min. Ils ont maintenu le milieu réactionnel à une température de 85°C avec une forte agitation pendant 4h. Après avoir laissé le produit refroidir, ils l'ont gardé à l'intérieur du four à 40° C pendant la nuit. Le produit est traité pendant 2 h à 400°C ensuite à 750°C, enfin à 1200°C.

**4. 2. a. 4- Synthèse par précipitation de l'hydroxyapatite carbonatée.**

L'apatite carbonatée de type B a été préparée par précipitation continue et rapide en mélangeant une solution aqueuse de $(NH_4)_2HPO_2$ et $2CO_3(NH_4)$ avec une solution aqueuse de $Ca(NO_3)_2$, ajustée au préalable à un pH désiré avec la solution d'ammoniaque. Le précipité obtenu est rapidement filtré pour éviter la cristallisation et séché sous vide.

Les deux solutions sont mélangées dans un récipient de verre à une température définie (0°C à environ 70°C). La température et le pH sont contrôlés en permanence (figure II. 2) [53, 54].

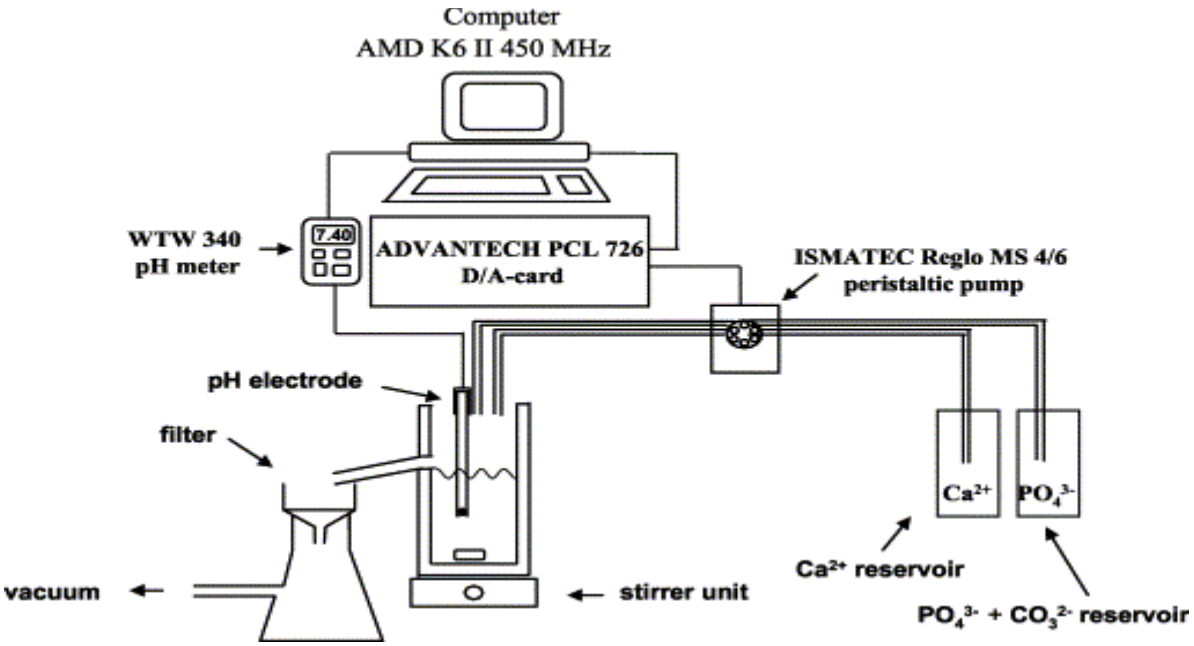



**Figure II. 2: Schéma réactionnel de la synthèse de l'HA par précipitation continue [54].**

## 4. 2. b- Voie sèche: synthèse par voie solide

Dans la littérature, on trouve peu de travaux qui ont choisi la réaction à l'état solide pour synthétiser l'HA. Cette méthode est relativement simple et elle permet de produire de grandes quantités de matériau ayant la structure et les propriétés désirées [55- 57]. Pour les travaux de Young et Thamaraiselvi [55, 56], les échantillons ont été soumis sous une pression isostatique à chaud pour faciliter la réaction à l'état solide. Mais ce processus est cher et complexe en raison de l'utilisation de pressage à chaud. Par contre dans les travaux de Pramanik [57], ils ont synthétisé l'HA comme suit:

- Mélange des produits inorganiques: CaO (50,52%), $P_2O_5$ (46,43%), $SiO_2$ (1,72 %) et des traces (<1%) d'autres additifs (% en masse).
- Compactage des poudres sous pression variable de 46 à 135 MPa pour former des pastilles.
- Frittage des pastilles à des températures différentes (500°C- 1250°C).

Les additifs ajoutés sont: l'alumine, l'acide fluorhydrique, la magnésie, l'oxyde de fer et le titane. Le frittage à haute température conduit à la formation des phases secondaires comme le phosphate tricalcique.

## 5. Décomposition de HA

Au court de traitement thermique, HA peut se décomposer selon deux modes:

**1-** Décomposition réversible: l'expulsion de l'eau produit l'oxyapatite ($Ca_{10}(PO_4)_6O$). Aucun effet significatif sur HA, ni altération des propriétés mécaniques.

**2-** Décomposition irréversible qui altère ses propriétés mécaniques [58, 59], sa réactivité chimique [60], sa stabilité dans l'organisme [61].

Pour le premier mode de décomposition, l'eau se libère graduellement de HA, ce qui conduit à la

diminution du volume du groupe « $OH^-$ » en formant $Ca_{10}(PO_4)O_x(OH)_{2(1-x)}$.

Pour le deuxième mode de décomposition, HA se décompose au phosphate tricalcique (TCP: $Ca_3(PO_4)_2$) et phosphate tétracalcique (TetCP: $Ca_4(PO_4)_2O$) en libérant l'eau [62, 63].

$$\mathbf{Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 \longrightarrow 2(Ca_3(PO_4)_2)+Ca_4P_2O_9+H_2O}$$

## 6. Processus de formation de « bone like-apatite »

La formation de l'apatite carbonatée à la surface de HA dépend de plusieurs facteurs tels que: la densité, la surface spécifique, la composition et la structure [64]. Les études ont montrées que

HA frittée s'intègre avec le tissu en formant ce qui est appelé « bone like-apatite » à sa surface surtout dans les défauts [65, 66]. En plus, des études ont montrée que l'augmentation de la température de frittage diminue la capacité de formation de « bone like-apatite » [67].

D’après Kim [64], trois changements structuraux se manifestent à la surface de HA immergée dans le liquide physiologique simulé (simulated body fluid: SBF) (figure II. 3):

- Le premier changement: la formation d’une couche phosphocalcique (ACP) riche en calcium (amorphe ou nano cristallisé). Cette couche formée est le résultat de l’interaction de la surface de l’HA avec les ions du calcium dans le SBF.
- Le deuxième changement: la formation du phosphocalcique pauvre en Ca, les ACP riches en calcium interagissent avec les ions de phosphate du SBF.
- Le troisième changement: la cristallisation progressive de l’ACP pauvre en calcium en « bone like-apatite »; ce qui conduit à la stabilisation de la surface de HA dans le SBF.

Après immersion dans le SBF, HA révèle une surface chargée négativement en exposant ses groupes hydroxyles et phosphates. Cette charge négative va interagir avec les ions du $Ca^{2+}$, ce qui explique la formation d’ACP riche en calcium. L’accumulation des ions positifs de $Ca^{2+}$ rend la surface de HA positive et qui va attirer les ions négatifs du phosphate existant dans le SBF pour former l’ACP pauvre en calcium.

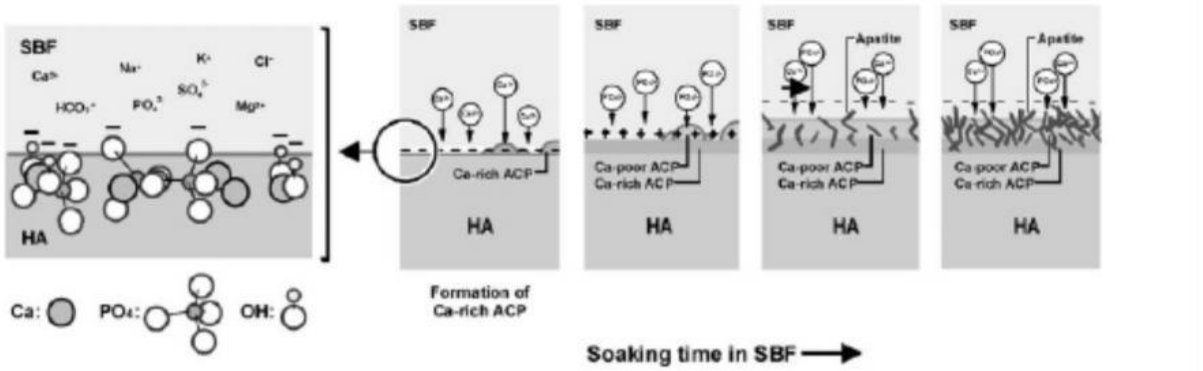



**Figure II. 3: Processus de formation de bone like-apatite dans SBF [64].**

L’apatite croit spontanément en consommant le calcium du SBF et incorporant d’autres ions tels que les ions de sodium, le magnésium et le carbonate, et donc en développant la phase minérale proche de celle de l’os « bone like-apatite » [64].

D’autres expliquent la formation de « bone like-apatite » par le processus « dissolution-précipitation » [68, 69]. En immergeant HA dans le SBF, la concentration en ions issus des éléments Ca et P augmente dans le SBF à cause de l’échange ionique qui se produit entre les ions

$Ca^{2+}$ de HA et les ions $H^{+}$ dans le SBF. Après que la dissolution ait atteint une valeur maximale, la concentration en éléments Ca et P diminue avec le temps d’immersion dans le SBF. Cette diminution est due à la précipitation de « bone like-apatite ». Les premiers cristaux de l’apatite se forment dans les défauts comme les pores et les microfissures. La dissolution de la surface de HA la rendre rigoureuse ce qui favorise l’ancrage des cristaux

formés de « bone like-apatite ». Le microenvironnement où la précipitation de l'apatite a lieu est sûrement où la concentration en éléments Ca et P est élevée [69].

## 7. Le phosphate tricalcique (α ou β-TCP)

Les TCP α et β sont des phosphates tricalciques anhydres. En effet, ils sont obtenus par calcination du PTCa ($Ca_9(HPO_4)(PO_4)_5(OH)$). Les formes α et β sont deux formes cristallines différentes dont la stabilité dépend de la température de chauffage.

Le β-TCP est généralement employé lors de la réalisation de céramiques qui constituent à l'heure actuelle un substitut osseux de choix [1].

Il est obtenu par chauffage à 900°C :

$$Ca_9(HPO_4)(PO_4)_5(OH) \longrightarrow 3\,\beta\,Ca_3(PO_4)_2 + H_2O$$

Il présente une structure rhomboédrique (groupe spatial R3c) et les paramètres cristallins suivants:

a = 10,429 Å ; c = 37,380 Å

## 8. Facteurs influençant la bioactivité de HA

Plusieurs facteurs peuvent influencer la bioactivité de HA, ainsi que la formation de « bone like-apatite » tels que:

- Le rapport phosphocalcique (Ca /P) [70]: plus le rapport (Ca/P) est loin de la valeur de HA stœchiométrique (soit on a l'HA déficiente ou l'HA plus d'autres phases secondaires comme le phosphate tricalcique ou tétracalcique), plus le produit est bioactif [70, 71].
- Les éléments traces (les carbonates, Na, Mg, Sr, Zn, Si, F, Cl...etc) [72, 74]. Il existe des éléments qui renforcent la stabilité thermique de HA comme le F et le Cl, ce qui conduit à la diminution de la vitesse de dissolution de HA et alors au ralentissement du processus de précipitation du « bone like-apatite » [74, 75]. Alors que d'autres éléments (Mg, Na, Si…) favorisent et accélèrent la précipitation de l'apatite carbonatée [73].
- La morphologie, la texture de l'échantillon et la procédure de calcination, des études ont confirmé que l'induction osseuse est plus active dans le cas d'utilisation de la céramique poreuse [75].

Dans Notre étude on va s'intéresser aux biomatériaux pour comblement osseux qui doivent être reproductibles, biocompatible et non toxiques. L'étude de l'efficacité de ces biomatériaux ne se base pas seulement sur l'étude de leurs bioactivité mais aussi sur leurs qualités d'ostéoinduction, d'ostéoconduction et d'ostéoformation. En plus, ils doivent avoir des

propriétés mécaniques proche de celles de l'os. On a choisie comme biomatériau l'hydroxyapatite dopée par des oxydes inertes.

# CHAPITRE III : MATERIAUX, APPAREILS ET METHODES EXPERIMENTALES D'ANALYSES UTILISEES

# CHAPITRE III: MATERIAUX, APPAREILS ET METHODES EXPERIMENTALES D'ANALYSES UTILISEES

## 1. Introduction

Dans ce travail, on a étudié l'hydroxyapatite pure et dopée. L'hydroxyapatite est un biomatériau très connue pour sa forte biocompatibilité ; alors que les oxydes choisis comme additions ($ZrO_2$ et $Al_2O_3$) sont des biomatériaux inertes connues par leurs propriétés mécaniques fortes.

Suite aux travaux précédents [76], on a voulu comprendre l'effet des additions inertes ($ZrO_2$ et $Al_2O_3$) sur la bioactivité de HA d'origine animale ; en variant le pourcentage de l'addition et en diminuant les conditions de traitement thermique par rapport à l'étude précédente [76].

## 2. Matériaux étudiés

### 2. 1. Hydroxyapatite naturelle

L'hydroxyapatite étudiée dans ce travail est du l'os d'origine bovine, débarrassé de sa moelle osseuse (noté N-HA). Cette étude sera réalisée avant et après traitement thermique, de même, après expérimentation *in vitro*. N-HA a été préparée à partir du l'os bovin débarrassé de sa moelle osseuse. Les os ont été brûlés à l'air à l'aide d'un chalumeau puis fracturés à des petits morceaux pour faciliter le départ du $CO_2$ au cours de la calcination. Les os brûlés ont été calcinés à 800°C pendant une heure avec une vitesse de chauffage de 6°C/min. Le produit calciné était tout à fait blanc car les carbonates ont été éliminés par le traitement thermique (figure III. 1). Enfin, le produit a été broyé en petites particules moins de 250 µm.

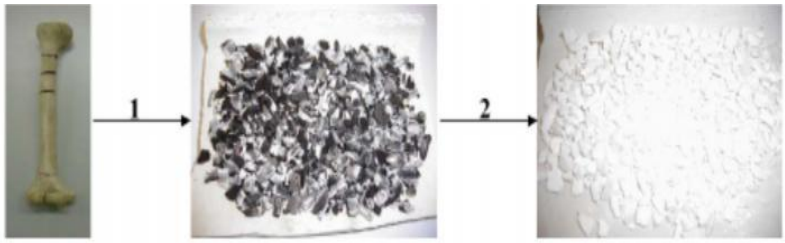



**Figure III. 1: Différentes étapes de la préparation de N-HA.**

L'étude de propriétés physico-chimiques de l'hydroxyapatite a été effectuée à la température ambiante; après calcination à 800°C. Un autre traitement thermique a été réalisé à 1250°C pendant 1 h, avec une vitesse de chauffage de 6°C/min; dont le but d'étudier l'effet de traitement thermique sur la densité et la stabilité thermique de N-HA pure et H-HA+ oxyde. Les conditions expérimentales seront détaillées dans le chapitre 4. Les études *in vitro* ont été réalisées en immergeant les produits traités (sous forme de granules) dans la solution physiologique simulée (SBF).

Les granules ont été obtenues en broyant à main et tamisant les échantillons frittés pour obtenir une granulométrie de l'ordre de 200 - 400 µ m. On a immergé 30 mg de granules dans 60 ml de liquide SBF à 37°C pendant des temps différents (2, 6 h, 1, 3, 7, 15 et 30 j) (les tests *in vitro* ont été réalisés en triplicatas).

Après chaque délai d'immersion dans le liquide SBF; les produits prélevés ont été rincés avec l'éthanol et séchés à l'air.

## 3. Appareils et techniques de caractérisation

Plusieurs appareils ont été utilisés au cours de ce travail pour la préparation des échantillons soit sous forme des pastilles massives soit sous forme de granules. Pour la caractérisation de ces échantillons, plusieurs techniques ont été employées selon le but cherché.

### 3. 1.Appareils utilisés

**a. Broyeur**

Un broyeur à billes a permis de broyer la poudre en fines particules dans un milieu aqueux: l'eau distillée. Les billes ont un diamètre de 0.5 cm. On a mis 10 g de poudre dans 100 ml d'eau distillée.

**b. Tamiseur**

Les pastilles traitées de l'HA ont été broyées à main puis tamisées pour avoir une granulométrie précise selon le but du travail. On a utilisé deux tamis ayant des diamètres d'ouverture : 200 et 400 µm.

**c. Fours et étuves**

Fours programmables pour calcination et recuit jusqu'à 1000°C ou 1400°C.

**d. Incubateur**

Les tests de bioactivité *in vitro* ont été effectués par immersion des pastilles (ou des granules) dans un liquide physiologique simulé (SBF: simulated body fluid).

Pour s'approcher des conditions physiologiques; on a placé les flacons (matériau+ SBF) dans un incubateur réglé à 37°C avec une agitation circulaire de 50 tours/min.

Les tests *in vitro* constituent une approche préliminaire du comportement d'un biomatériau en donnant une première évaluation de la bioactivité des matériaux. La capacité des matériaux étudiés de former une couche d'hydroxyapatite lors du contact avec des fluides biologiques synthétiques encouragent les tests in vivo.

### ❖ Composition chimique et protocole de préparation du SBF-K9

SBF est une solution physiologique qui a une composition ionique très proche du celle du plasma sanguin humain tableau III. 1 [77].

**Tableau III. 1: Concentration ionique de plasma sanguin et SBF**.

| Concentrations ioniques (mmol.L-1) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $Na^+$ | $K^+$ | $Ca^{2+}$ | $Mg^{2+}$ | $Cl^-$ | $HCO_3^-$ | $HPO_4^{2-}$ |
| Plasma sanguin | 142 | 5 | 2.5 | 1.5 | 103 | 27 | 1 |
| SBF | 142 | 5 | 2.5 | 1.5 | 148.8 | 4.2 | 1 |

La solution physiologique SBF a été préparée selon le protocole proposé par Kokubo [77]. Deux solutions séparées ont été préparées; une contient les ions du Ca (Ca-SBF) et l'autre contient seulement les ions du P (P-SBF). Les tableaux III. 2 et III. 3 montrent les concentrations des produits utilisés pour chaque solution.

**Tableau III. 2: Solution Ca-SBF (fiole jaugée de 1L)**

| Produit | Masse molaire ($g.mol^{-1}$) | Masse (g) |
|---|---|---|
| Tris: $C_4H_{11}NO_3$ (Trishydroxyméthylamine) | 121.14 | 6.057 |
| $CaCl_2$ | 110.98 | 0.5549 |
| $MgCl_2$,6 $H_2O$ | 203.3 | 0.6095 |

**Tableau III. 3: Solution P-SBF (fiole jaugée de 1L)**

| Produit | Masse molaire ($g.mol^{-1}$) | Masse (g) |
|---|---|---|
| Tris: $C_4H_{11}NO_3$ (Trishydroxyméthylamine) | 121.14 | 6.057 |
| $K_2HPO_4$,$3H_2O$ | 228.20 | 0.4566 |
| $NaHCO_3$ | 84.01 | 0.7056 |
| KCl | 74.55 | 0.4473 |
| NaCl | 58.4 | 16.1061 |

Le pH de deux solutions Ca-SBF et P-SBF a été ajusté à 7.4, avant le mélange, en ajoutant HCl 6N.

Les mêmes étapes ont été suivies pour préparer Ca-SBF et P-SBF séparément:

1-Metrre moins de 1 L de l'eau distillée dans le bécher de 2L.

2- Mettre l'agitation en marche

3- Régler la température à 37°C.

4- Ajouter des produits l'un après l'autre (après la stabilisation de la température à 37°C)

5- Régler le pH de la solution à 7.4 avec HCl 6N.

6- Rincer le pH mètre et le thermomètre avec l'eau distillée dans le bécher de 2L.

7- Verser la solution dans une fiole de 1L, en complétant avec l'eau distillée pour avoir 1L.

**Remarques**

- L'ajout des produits doit se faire l'un après l'autre jusqu'à la dissolution totale de tous les produits.
- Les deux solutions se conservent un mois au réfrigérateur. Après mélange, il faut l'utiliser dans les trois à quatre jours.

## 3. 2. Techniques de caractérisation

La mesure de la densité apparente des produits (sous forme des pastilles) a été effectuée soit par la méthode directe ou par la poussée d'Archimède.

La méthode directe consiste à mesurer la masse et les dimensions de la pastille (D: diamètre et e: épaisseur); elle est définie comme suit:

$$d = M/V$$

d: la densité en ($g/cm^3$), M: la masse de l'échantillon en (g) et V: le volume de l'échantillon en

($cm^3$) avec : $V= \pi D^2 e/4$

### 3. 2. a- Diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction de rayons X est une méthode d'analyse physico-chimique, elle permet d'identifier les différentes phases dans la matière cristallisée; elle permet aussi de différencier les structures cristallographiques de même composition chimique dans un produit polyphasique. On l'applique aussi pour révéler l'aspect amorphe des produits non cristallins.

On applique cette analyse soit aux poudres qui doivent être finement broyées ou aux échantillons massifs. Le diffractomètre, à géométrie Bragg-Brentaro, consiste en une table de rotation de l'échantillon (angle θ) et du détecteur (angle 2θ) par rapport au faisceau incident de rayons X. Un faisceau de rayons X, monochromatique et parallèle, arrivant avec un angle d'incidence θ sur une surface d'un poly-cristal est diffracté dans une direction donnée par chacune des familles des plans réticulaires à chaque fois que la condition ou loi de Bragg est réalisée (Figure III. 2):

$$l=2d_{hkl}\sin\theta$$

l : longueur d'onde du faisceau de rayons X.

$d_{hkl}$ : représente la distance entre deux plans réticulaires (hkl).

θ: angle d'incidence des rayons X sur la famille de plan.

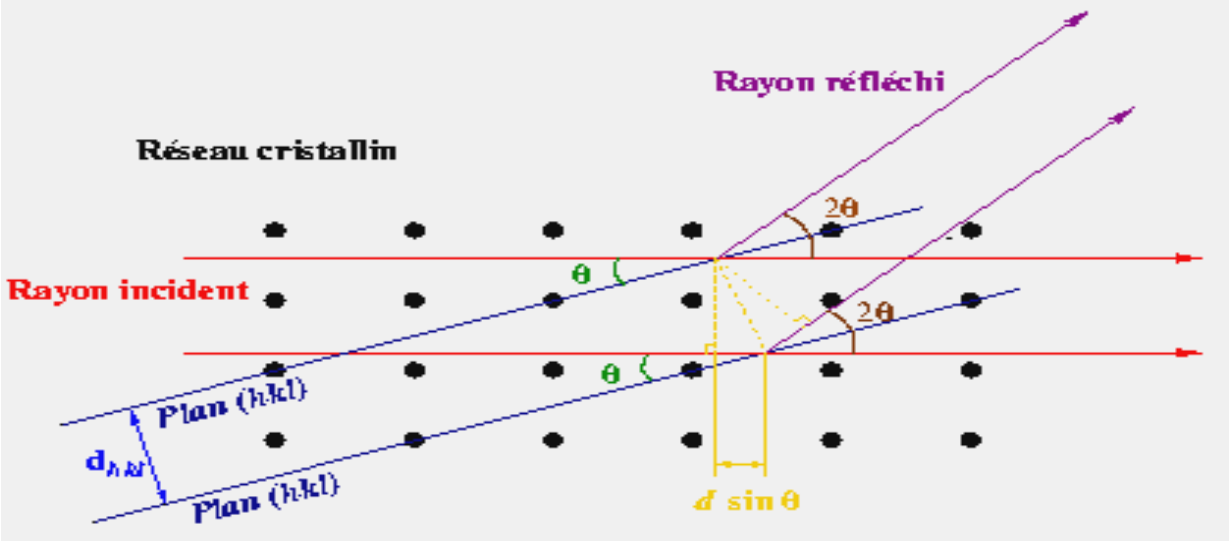



**Figure III. 2: Schéma d'un diffractomètre à détecteur ponctuel en géométrie Bragg-Brentano.**

L'enregistrement réalisé représente l'intensité des rayons X diffractés en fonction des angles de diffraction. Le canon à rayons X utilisé possède une cathode en cuivre produisant un rayonnement ($K_{\alpha1}$ +$K_{\alpha2}$).

Le rayonnement utilisé est monochromatique de longueur d'onde l=1.5406 Å.

Pour l'identification des phases cristallisées dans les matériaux étudiés; on a utilisé le diffractomètre Bruker D8 Advance automatisé (40 KV, 30 mA).

### 3. 2. b- Microscopie électronique à balayage (MEB) et spectroscopie d'énergie dispersive(EDS)

Cette technique est basée sur le principe des interactions électrons - matière; elle est capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon.

Si une surface est bombardée par un faisceau d'électrons primaires, plusieurs rayonnements peuvent être émis (Figure III. 3) [76] :

- Électrons secondaires: Lors d'un choc entre les électrons primaires du faisceau et les atomes de l'échantillon, un électron primaire peut céder une partie de son énergie à un électron peu lié de la bande de conduction de l'atome, provoquant ainsi une ionisation par éjection de ce dernier. On appelle électron secondaire cet électron éjecté. Ces électrons possèdent généralement une faible énergie (environ 50 eV). Chaque électron primaire peut créer un ou plusieurs électrons secondaires. De par cette faible énergie, les électrons secondaires sont émis dans les couches superficielles proches de la surface. Les électrons qui peuvent être recueillis par les détecteurs sont souvent émis à une profondeur inférieure à 10 nanomètres. Grâce à cette faible énergie cinétique, il est assez facile de les dévier avec une faible différence de potentiel. On peut ainsi facilement collecter un grand nombre de ces électrons

et obtenir des images de bonne qualité avec un bon rapport signal/bruit et une résolution de l'ordre de 40 Å pour un faisceau de 30 Å de diamètre. Étant donné qu'ils proviennent des couches superficielles, les électrons secondaires sont très sensibles aux variations de la surface de l'échantillon. La moindre variation va modifier la quantité d'électrons collectés. Ces électrons permettent donc d'obtenir des renseignements sur la topographie de l'échantillon. En revanche, ils donnent peu d'information sur le contraste de phase [78].

- Électrons rétrodiffusés: Les électrons rétrodiffusés sont des électrons résultant de l'interaction des électrons du faisceau primaire avec des noyaux d'atomes de l'échantillon et qui ont réagi de façon quasi élastique avec les atomes de l'échantillon. Les électrons sont réémis dans une direction proche de leur direction d'origine avec une faible perte d'énergie. Ces électrons récupérés ont donc une énergie relativement élevée, allant jusqu'à 30 KeV, énergie beaucoup plus importante que celle des électrons secondaires. Ils peuvent être émis à une plus grande profondeur dans l'échantillon. La résolution atteinte avec les électrons rétrodiffusés sera donc relativement faible, de l'ordre du micromètre ou du dixième de micromètre. De plus, ces électrons sont sensibles au numéro atomique des atomes constituant l'échantillon. Les atomes les plus lourds (ceux ayant un nombre important de protons) réémettront plus d'électrons que les atomes plus légers. Cette particularité sera utilisée pour l'analyse en électrons rétrodiffusés. Les zones formées d'atomes avec un nombre atomique élevé apparaîtront plus brillante que d'autres, c'est le contraste de phase. Cette méthode permettra de mesurer l'homogénéité chimique d'un échantillon et permettra une analyse qualitative [78].

- Électrons Auger: Lorsqu'un atome est bombardé par un électron primaire, un électron d'une couche profonde peut être éjecté et l'atome entre dans un état excité. La désexcitation peut se produire de deux façons différentes : en émettant un photon X (transition radiative ou fluorescence X) ou en émettant un électron Auger (effet Auger). Lors de la désexcitation, un électron d'une couche supérieure vient combler la lacune créée par l'électron initialement éjecté. Durant cette transition, l'électron périphérique perd une certaine quantité d'énergie qui peut être émise sous forme de photon X ou peut alors être transmise à un électron d'une orbite plus externe et donc moins énergétique. Cet électron périphérique se retrouve à son tour éjecté et peut être récupéré par un détecteur. Les électrons Auger possèdent une très faible énergie et sont caractéristiques de l'atome qui les a émis. Ils permettent ainsi d'obtenir des informations sur la composition de l'échantillon et plus particulièrement de la surface de l'échantillon ainsi que sur le type de liaison chimique, dans la mesure évidemment où le MEB est équipé d'un détecteur d'électrons réalisant une discrimination en énergie. Ce sont des MEB spécialisés qui sont équipés d'analyseurs en énergie. On parle alors d'« analyse Auger » ou de

« spectrométrie Auger ». Le niveau de vide des microscopes électroniques Auger doit être bien meilleur que pour les MEB ordinaires, de l'ordre de $10^{-10}$.

- Rayon X: L'impact d'un électron primaire à haute énergie peut ioniser un atome à une couche interne. La désexcitation, le remplissage de l'ordre énergétique de la structure électronique, se produit avec émission de rayons X. L'analyse de ces rayons permet d'obtenir des informations sur la nature chimique de l'atome [78].

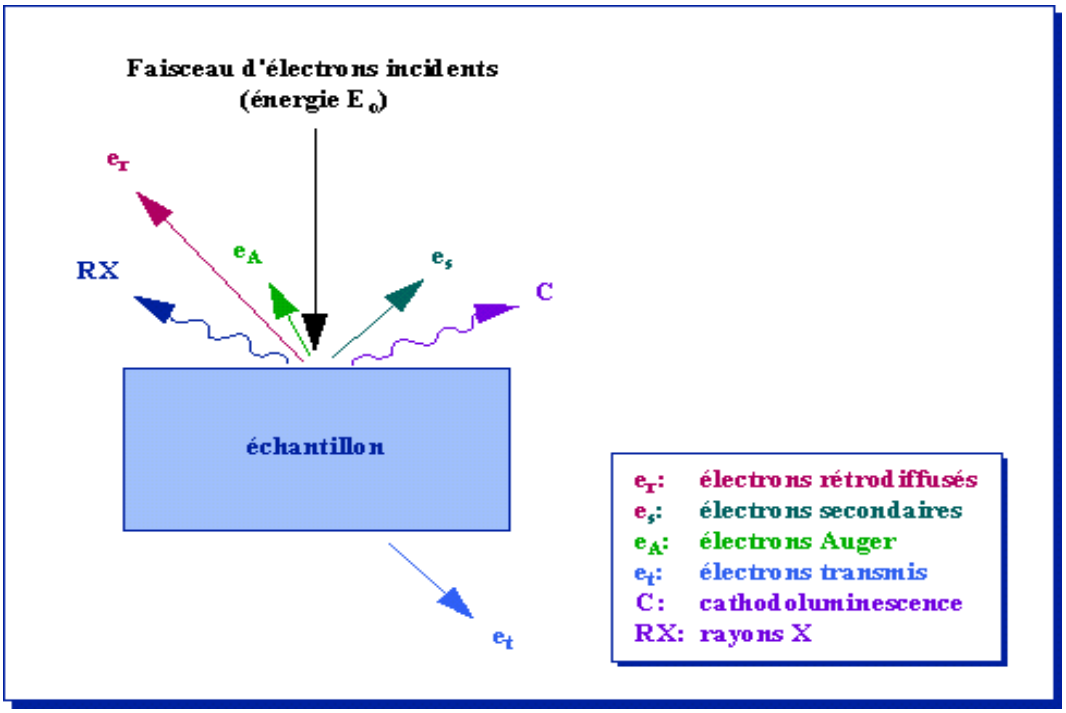



**Figure III. 3: Différents rayonnements émis par un échantillon bombardé par un faisceau d'électrons.**

On a utilisé deux types de rayonnements résultant des interactions électrons – matière:

- électrons secondaires pour avoir des informations sur la topologie de la surface étudiée en utilisant le MEB: JEOL JSM 6301F.
- photons X, émis avec des énergies différentes, permettant une analyse élémentaire de l'échantillon. L'analyse est effectuée par EDS (Energy Dispersive X- ray Spectroscopy): JEOL JSM 6400.

### 3. 2. c- Spectroscopie infrarouge (IR)

Le rayonnement infrarouge (IR) est un rayonnement électromagnétique d'une longueur d'onde supérieure à celle de la lumière visible mais plus courte que celle des micro-ondes.

Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie

de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise. Les longueurs d'onde auxquelles l'échantillon absorbe, sont caractéristiques des groupes chimiques présents dans le matériau analysé.

La fréquence de l'onde électromagnétique qui induit la vibration est donnée par la loi de Hook:

$$\upsilon(\text{Hz}) = \frac{1}{2\pi c}\sqrt{\frac{K}{\mu}}$$

K : est une constante de force de la liaison, elle est proportionnelle à l'énergie de liaison, et la masse de deux atomes reliés par cette liaison.

Il y'a deux types de vibration (Figure III. 4):

- **élongation**: on l'appelle aussi vibration de valence ou "stretching" (comme un ressort), ce mode concerne les vibrations symétriques et asymétriques ($\upsilon_s$, $\upsilon_{as}$) de la molécule le long des liaisons.
- **déformations dans et hors du plan**: En plus de la vibration de valence, l'angle des liaisons peut varier: il y a flexion ou déformation. Ces déformations symétriques et asymétriques ($\delta_p$, $\delta_{hp}$) peuvent avoir lieu dans le plan des deux liaisons concernées ou hors du plan.

Cette technique permet non seulement la caractérisation de groupes moléculaires mais peut aussi donner des informations sur l'arrangement de ces groupes à plus grande distance et de distinguer différentes phases du même composé.

On a utilisé un spectroscope à infrarouge de type (Bruker Equinox 55: 4000-400 $cm^{-1}$). Les produits à analyser ont été préparés sous forme de pastilles minces en les mélangeant avec 98% masse de KBr sec. Cette technique a été utilisée pour identifier les groupes moléculaires des différentes phases existantes dans le produit analysé [76].

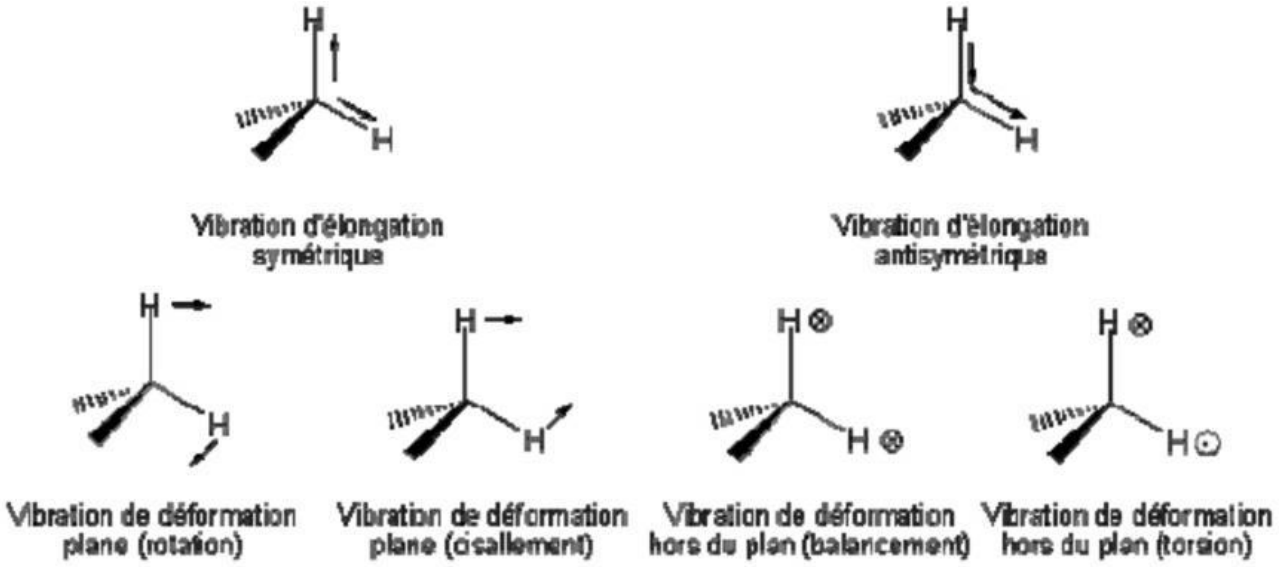



**Figure III. 4: Différents types de vibrations des molécules.**

# CHAPITRE IV : EFFET DES ADDITION SUR LA BIOACTIVITE DE N-HA

# CHAPITRE IV : EFFET DES ADDITIONS SUR LA BIOACTIVITE DE N-HA

## 1. Introduction

Dans ce chapitre, on a utilisé différentes techniques : la spectroscopie IR, la diffraction de rayons X, et l'analyse par MEB- EDS qui sont des analyses complémentaires pour étudier les propriétés physico-chimiques et la bioactivité de l'hydroxyapatite naturelle, ainsi que les composites N-HA-$ZrO_2$ et N-HA-$Al_2O_3$**.**

Cette étude a été réalisée en deux étapes :

a- L'étude de l'effet des oxydes sur la stabilité thermique du N-HA.

b- L'étude de l'effet des oxydes sur la bioactivité de N-HA.

Comme il est déjà mentionné dans le chapitre II, l'hydroxyapatite est l'un des biomatériaux les plus utilisés pour la réparation et le comblement de défauts osseux chez l'homme en raison de sa ressemblance à la phase minérale osseuse et sa bonne biocompatibilité [65]. Cependant, ses propriétés mécaniques faibles sont l'une des plus graves obstacles pour des applications plus larges [9]. Il y'a eu beaucoup de travaux de recherche réalisés pour améliorer les propriétés mécaniques de l'HA par l'addition des oxydes céramiques ou des agents métalliques pour le renforcement de la structure apatitique [79, 80]. Par contre ; il y'a peu de travaux qui ont étudiés l'effet des oxydes inertes sur la bioactivité de N-HA. L'effet de 5% (en masse) des oxydes inertes $ZrO_2$ et $Al_2O_3$ sur la bioactivité de N-HA a été déjà réalisé ; mais les conditions choisies (T=1300°C et t=2h) n'ont pas permis d'interpréter la non formation de l'hydroxyapatite carbonatée à la surface des granules N-HA+ $Al_2O_3$; on n'arrivait pas à donner une seule cause pour l'effet négative de $Al_2O_3$ sur la bioactivité de N-HA. Donc ; pour confirmer ou désapprouver cet effet; on a changé les conditions de traitement thermique (T=1250°C et t=1h) ainsi que le taux de l'oxyde ajouté (5 et 10% en masse).

## 2. Caractérisation physico-chimiques de N-HA avant traitement thermique

### 2. 1. Composition minérale

L'analyse élémentaire a été faite antérieurement. La méthode d'analyse utilisée est la spectrométrie d'émission au plasma ICP-OES, qui permet de réaliser des analyses avec une grande sensibilité et bonne précision [76]. Le tableau IV.1 résume les résultats d'analyse par ICP. Il montre que l'hydroxyapatite se constitue de deux éléments majeurs: le calcium (Ca) et le phosphore (P); ainsi que d'autres éléments traces. Le rapport molaire (Ca/P) a été aussi calculé:

**Tableau IV. 1: Concentration massique de Ca, P et les éléments traces dans N-HA**

| Concentration massique (%) | [Ca] | [P] | [Na] | [Mg] | [Sr] | [Zn] | [Si] | [K] | (Ca/P) molaire |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **N-HA** | 38.9±0.6 | 17.9±0.3 | 0.78 | 0.59 | 0.04 | 0.005 | 0.01 | 0.05 | 1.68±0.05 |

On observe que N-HA a presque la même concentration massique en (Ca et P) et le rapport molaire (Ca / P) que HA stœchiométrique (Ca / P = 1.67) qui contient 40.3 % de Ca et 18.4 % de P en masse [43].

D'après la bibliographie; l'apatite de la matrice osseuse est une apatite phosphocalcique caractérisée par un rapport molaire Ca/P variant de 1.37 à 1.87, le désordre cristallin et la substitution des éléments traces dans la matrice minérale osseuse [21, 22].

L'os n'est pas vraiment analogue à l'hydroxyapatite mais a une apatite carbonatée de type AB [24, 25] qui contienne le Ca, le P et d'autres éléments traces. Ces derniers jouent un rôle important sur sa bioactivité. La composition du l'os dépend du site, l'âge, régime alimentaire et la présence des maladies. Dans certains travaux physiologiques (la vieillesse ou la grossesse), quand le métabolisme de calcium est impliqué, les éléments traces se libèrent très rapidement en se transportant par le sang aux d'autres sites [26].

Les résultats obtenus sont en accord avec les autres études effectuées sur l'os [21, 23, 24].

### 2. 2. Etude structurale par DRX et l'analyse par IR

Le diagramme de diffraction de rayons X de la poudre N –HA figure (IV. 1), après calcination à 800°C, montre que la poudre se compose d'une seule phase «hydroxyapatite » de formule chimique: ($Ca_5(PO_4)_3OH$) (JCPDS: file n0 09-0432).

La figure (IV. 2) présente le spectre IR de N-HA calcinée à 800°C. Les différentes bandes sont indiquées dans le tableau IV. 2. L'analyse de bandes de l'infrarouge de N-HA confirme qu'elles appartiennent à HA. En outre, deux bandes faibles sont observées à 3493 et 3540 $cm^{-1}$ qui sont attribuées à l'incorporation de $Cl^-$ [81] ou $F^-$ [82, 81] dans le site $OH^-$, respectivement.

Ainsi, le spectre IR montre l'incorporation des ions $CO_3^{2-}$ en N-HA. Il y'a deux sites d'incorporation des ions $CO_3^{2-}$dans les apatites d'hydroxyapatite, une dans le site $OH^-$ (site A) et d'autres dans le site $PO_4^{3-}$ (site B) [25, 83].

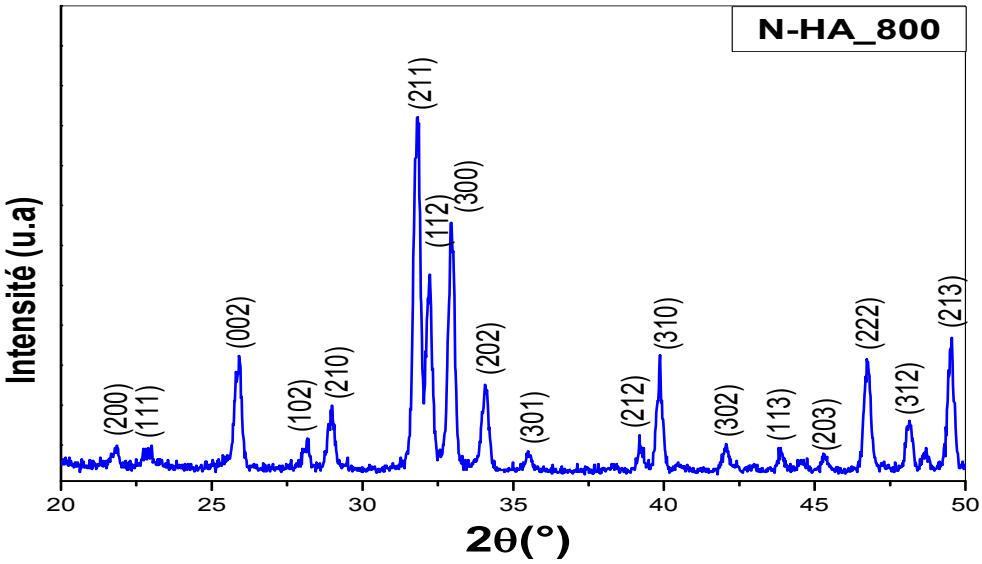



**Figure IV. 1: Diagramme de diffraction RX de N-HA calcinée à 800°C**

La matrice osseuse contienne du fluor (F), chlore (Cl) et une quantité importante de carbonates qui peuvent remplacer les groupes de phosphate ou d'hydroxyle [26]. Il a été mentionné que l'os n'est pas vraiment analogue à l'hydroxyapatite mais a une apatite carbonatée de type A-B [24, 25], ce qui explique la présence des carbonates dans N-HA dans cette étude.

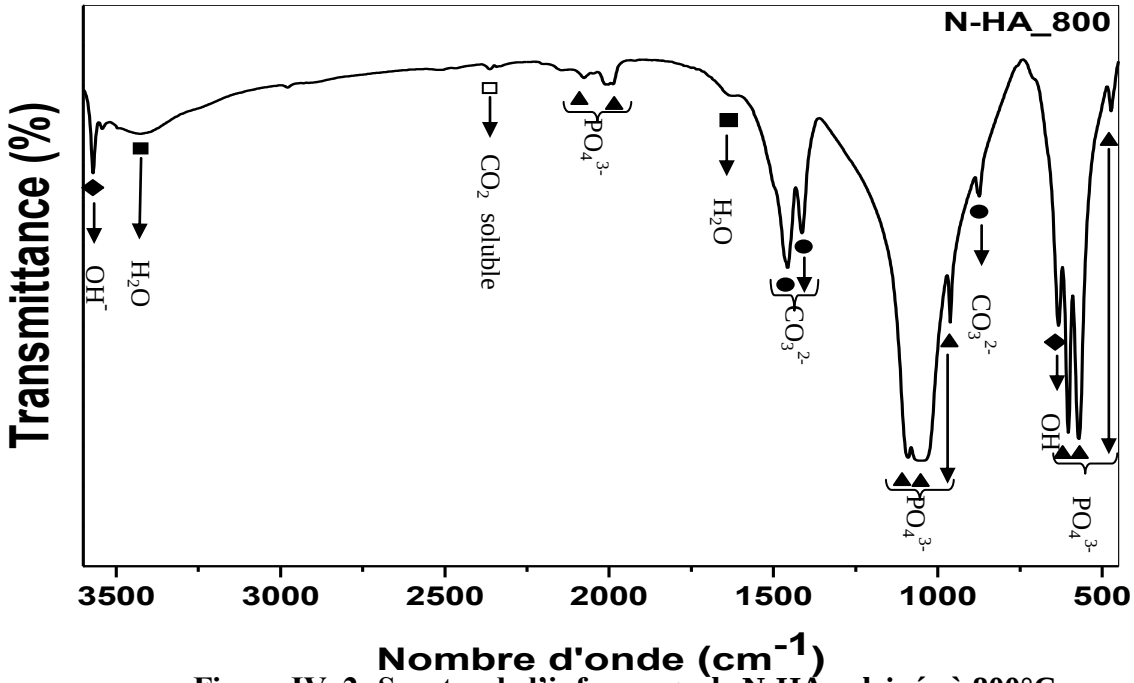



**Figure IV. 2: Spectre de l'infrarouge de N-HA calcinée à 800°C.**

**Tableau IV. 2: Bandes de l'infrarouge de N-HA**

## 3. Effet de la température sur la stabilité thermique du N-HA pure

| Groupe | Fréquences ($cm^{-1}$) | Assignement |
|---|---|---|
| $PO_4^{3-}$ | 472.8 | vibrations de déformation dégénérée doublée ($\upsilon_2$) de groupe de phosphate [84]. |
| | 571.2, 603.2 | vibrations de déformation dégénérée triplée ($\upsilon_4$) de la bande O-PO [84]. |
| | 962.2 | vibrations d'élongation symétrique non-dégénérée ($\upsilon_1$) de bandes P-O de groupe de phosphate [84]. |
| | 1057.7, 1090.6 | vibrations d'élongation asymétrique dégénérée triplée ($\upsilon_3$) de bandes P-O [85, 86]. |
| | 2002.7, 2077.1 | combinaison des bandes of $PO_4^{3-}$ [87]. |
| $0H^-$ | 632.6 | mode libérationale ($\upsilon_L$) de groupe hydroxyle, $0H^-$ [86, 87]. |
| | 3570.4 | vibration d'élongation ($\upsilon_S$) de groupe hydroxyle, $0H^-$ [84, 85]. |
| $CO_3^{2-}$ | 873.7 | due a l'incorporation de $CO_3^{2-}$ dans les sites $0H^-$ (site A) [88, 89]. |
| | 1415.6, 1456.9 | due à la présence of $CO_3^{2-}$dans les sites $PO_4^{3-}$ (site B) [89]. |
| $H_2O$ | 1630, 3429.3 | l'eau absorbée [84]. |
| $CO_2$ Soluble | 2364.2 | [69]. |

La poudre N-HA ; calcinée à 800°C ; a été broyé pendant 4 h (broyage humide) ensuite séchée et compactée à froid sous pression de 75 MPa dont le but d'avoir des pastilles. Ces dernières ont été traitées à 1250°C pendant 1 h avec une vitesse de chauffage de 6°C/min.

### 3. 1. Résultat de diffraction RX

La figure (IV. 3) représente les diagrammes de diffraction RX de N-HA pure traitée à 800°C (N-HA_800) et 1250° C (N-HA _1250).

On observe que le diagramme RX de N-HA_1250 ne présente aucune différence par rapport à celui de N-HA_800. Cela confirme que l'augmentation de la température n'a pas altérée la composition de HA. Il peut être observé que le diagramme de diffraction RX (N-HA_800) est décalé par rapport au celui de N-HA_1250, peut-être la présence du fluor dans HA initiale est la cause de ce décalage [90]. En plus; on observe que les pics de N-HA_800 sont très larges par rapport à celle de N-HA _ 1250. On peut contribuer l'élargissement des pics à la taille fine des grains de la poudre N-HA_800. Un broyage humide a été effectué avant le traitement thermique ; alors que la poudre N-HA_1250 à été traitée à 1250°C ce qui a conduit au grossissement des grains. Selon l'équation de Scherrer, la largeur des raies augmente quand la taille des grains diminue [91]:

$$D = \frac{k\lambda}{\beta_{1/2} \cos\theta}$$

D: la taille de granules (AO), k: le facteur de forme, λ: la longueur d'onde utilisée, θ: l'angle de diffraction des rayons X, $\beta_{1/2}$: la largeur à mi-hauteur du pic de diffraction, exprimée en radian.

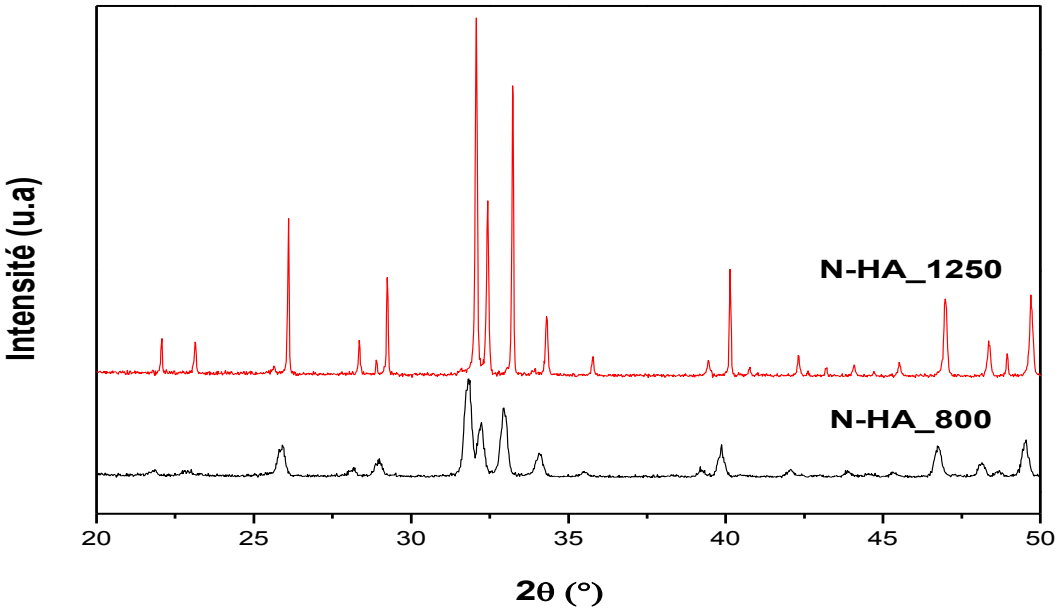



**Figure IV. 3: DRX de N-HA pure traitée à 800°C et 1250°C.**

### 3. 2. Analyse par la spectroscopie IR

La figure (IV. 4) présente les résultats d'analyse par le spectromètre IR des échantillons traités à 800°C et 1250°C. Les spectres IR confirment qu'aucune formation d'une nouvelle phase n'a eu lieu au cours du traitement thermique de N-HA pure, la seule phase présente dans ces échantillons traités à 800°C et 1250°C c'est l'hydroxyapatite.

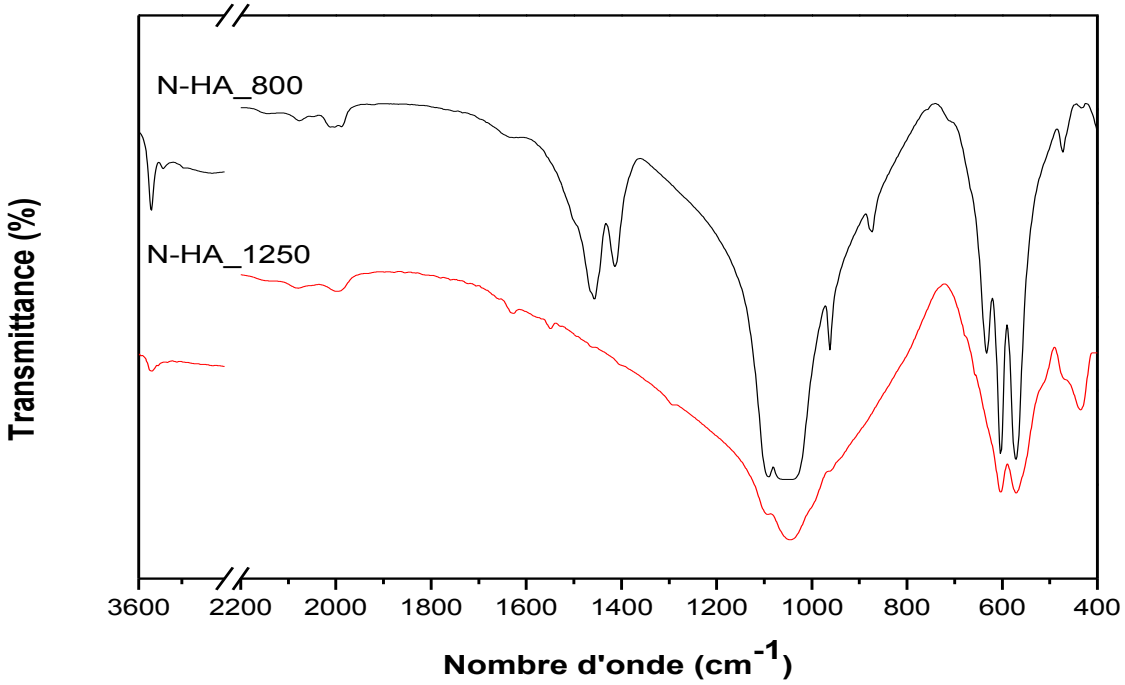



**Figure IV. 4: Spectres IR de N-HA pure traite a température 800°C et 1250°C.**

Le spectre IR des granules N-HA traitée à 1250°C est semblable à celui avant frittage. Les différences observées sont les suivantes:

- la diminution de l'intensité de la bande $OH^{-1}$ situé à 3570 $cm^{-1}$ ; alors que celle située à 630 $cm^{-1}$ est presque disparue sur le spectre IR de N-HA traitée à 1250°C,
- l'élimination des groupes carbonate, $F^-$ et $Cl^-$ de l'apatite à 1250°C.

Les résultats obtenus par spectroscopie IR confirment qu'aucune formation d'une nouvelle phase n'a eu lieu pendant le traitement thermique de N-HA.

## 4. Effet des additions $ZrO_2$ et $Al_2O_3$ sur la stabilité thermique du N-HA traitée à 1250°C

Dans cette partie, on a étudié N-HA+ les additions ($ZrO_2$ et $Al_2O_3$). Les altérations physico-chimiques des granules N-HA pure ont étés comparées à celles de N-HA+ addition (N-HA+ (5% et 10% $ZrO_2$), NHA+ (5% et 10% $Al_2O_3$). La préparation et le traitement thermique a été effectué dans les mêmes conditions que celles de N-HA_1250.

**4. 1. Diagrammes de diffraction RX des échantillons traités**

La figure (IV. 5) présente les diagrammes de diffraction RX des échantillons traités. Les résultats de diffraction RX des produits traités montrent bien que l'ajout d'autres matériaux à la poudre initiale N-HA a provoqué des modifications structurales.

Pour les poudres contenant $ZrO_2$ (5% et 10% $ZrO_2$), le diagramme de diffraction RX montre une décomposition partielle de N-HA en phosphate tricalcique (β-TCP) (figure IV.5 (b-c)). On peut remarquer que l'intensité des pics de diffraction caractéristiques de la phase (β-TCP) accroît avec l'augmentation du taux de $ZrO_2$ dans le mélange N-HA- $ZrO_2$. Normalement la décomposition de HA en TCP s'accompagne par l'apparition de CaO qui forme avec le $ZrO_2$ les carbonate de zirconium ($CaZrO_3$) [92, 93], cette phase est bien distinguée sur les diagrammes RX. Alors que le CaO est présent en faible quantité. En plus ; le diagramme RX de N-HA+10% $ZrO_2$ révèle une faible quantité de $ZrO_2$ qui n'a pas réagie avec le CaO résultant de la décomposition du HA.

Ainsi, la diffraction de RX de N-HA dopée par $Al_2O_3$ (figure IV.5 (d-e) révèle une décomposition du HA en β-TCP. Cette décomposition est partielle dans N-HA+ 5% $Al_2O_3$ et presque totale pour N-HA+10% $Al_2O_3$. Le CaO résultant de la décomposition du HA a formé avec $Al_2O_3$ la phase $CaAl_2O_4$ bien distinguée sur les DRX surtout sur celui de N-HA+10% $Al_2O_3$. Une quantité infime de CaO libre est présente dans les deux DRX.

En outre ; On peut remarquer que $Al_2O_3$ active la décomposition de N-HA en β-TCP plus que $ZrO_2$.

D'après ces résultats, on peut dire que l'ajout d'un autre matériau au N-HA a conduit à la décomposition de cette dernière en phosphate tricalcique $Ca_3P_2O_3$ et CaO. La décomposition de HA en présence de $ZrO_2$ ou $Al_2O_3$ peut être clarifiée par les équations suivantes [92, 93]:

$$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + ZrO_2(ou\ Al_2O_3) \rightarrow 3Ca_3(PO_4)_2 + CaO + H_2O \quad (1)$$

$$CaO + ZrO_2 \rightarrow CaZrO_3 \quad (2)$$

$$CaO + TiO_2 \rightarrow CaTiO_3 \quad (3)$$

$$CaO + Al_2O_3 \rightarrow CaAl_2O_4 \quad (4)$$

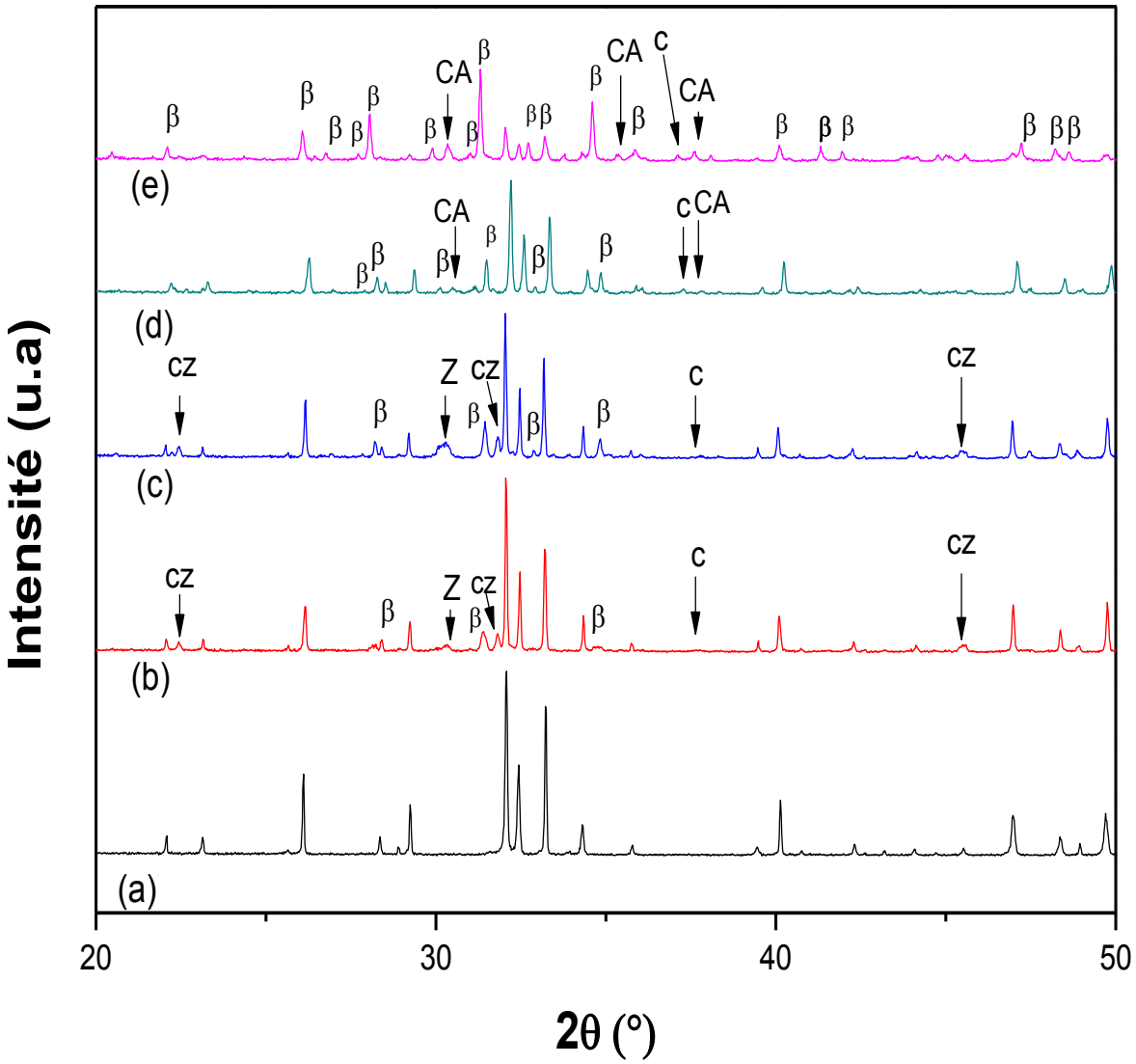



**Figure IV. 5: Diagrammes de diffraction RX des poudres traitées à 1250°C.**

**a: N-HA, (b): N-HA+5% $ZrO_2$, (c): N-HA+10% $ZrO_2$,**

**(d): N-HA+5%$Al_2O_3$, (e): N-HA+10% $Al_2O_3$.**

**β: β-TCP, CZ: $CaZrO_2$, C: CaO, Z: $ZrO_2$, CA: $CaAl_2O_4$ .**

**(**Les pics non définis se sont des pics de l'HA**).**

### 4. 2. Spectroscopie IR des échantillons traités

La figure (IV. 6) illustre les résultats d'analyse par le spectromètre IR des échantillons traités à 1250°C. On observe que des nouveaux groupes sont apparus dans les spectres IR des N-HA dopées et frittés à 1250°C. Les nouvelles bandes à 943, 976, 1082 et 1123 $cm^{-1}$ correspondent aux bandes caractéristiques des groupes $PO_4^{3-}$ de la phase β-TCP [94]. On observe que l'intensité de la bande caractéristique de groupe $OH^-$, située vers 3570 $cm^{-1}$, diminue en présence de l'oxyde ($ZrO_2$ ou $Al_2O_3$) dans N-HA et surtout pour 10% Al2$O_3$.

Ainsi, les bandes caractéristiques de la liaison P-O dans HA ; situé vers 2000 $cm^{-1}$ se sont disparue complètement. Cela confirme bien la décomposition du HA en β-TCP.

Les résultats de la spectrométrie IR sont en bon accordance avec celles de diffraction RX.

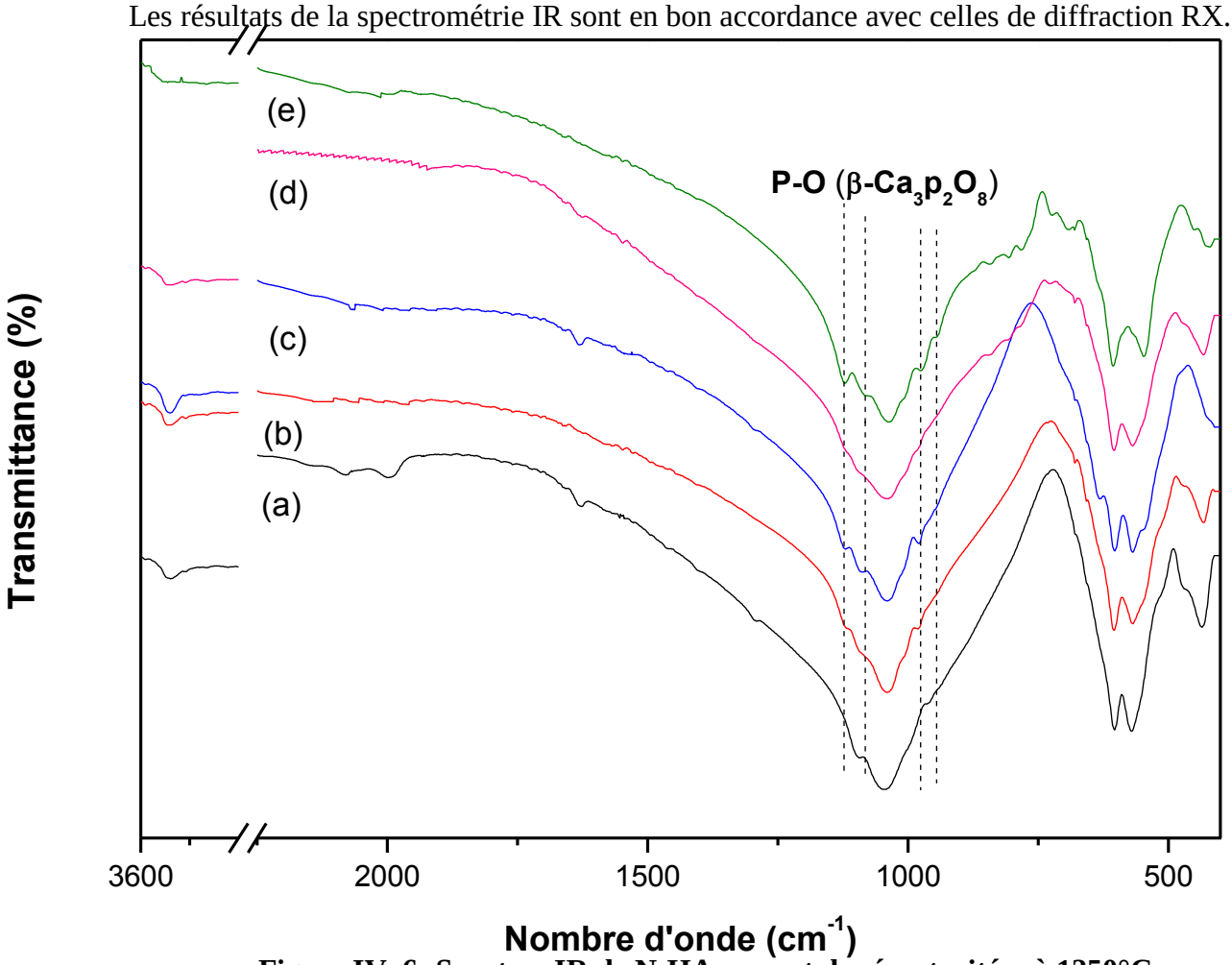



**Figure IV. 6: Spectres IR de N-HA pure et dopées; traitées à 1250°C.**

**(a): N-HA, (b) : N-HA+5% $ZrO_2$, (c): N-HA+10% $ZrO_2$,**

**(d): N-HA+5%$Al_2O_3$, (e): N-HA+10% $Al_2O_3$.**

## 5. Effet des additions sur la densité après traitement à 1250°C

La densité des échantillons, a été calculée par la méthode directe Tableau IV. 3.

**Tableau IV. 3: la densité de N-HA et N-HA+ addition.**

| Echantillon | Densité ($g.cm^{3-}$) |
|---|---|
| N-HA | **2 ,860** |
| N-HA + 5% $ZrO_2$ | **2,95** |
| N-HA + 10% $ZrO_2$ | **2,875** |
| N-HA + 5% $Al_2O_3$ | **3,011** |
| N-HA + 10% $Al_2O_3$ | **2,778** |

On observe que la densité de N-HA pure est moins que de la densité théorique de HA (3.156 $g.cm^{-3}$) ; on a un pourcentage de frittage de 91%. Cela permet de conclure que les conditions choisies pour le traitement thermique n'ont pas permet d'avoir une densification totale des pastilles préparées. On peut apercevoir la présence des pores dans cet échantillon.
Si, on compare l'effet du taux de l'oxyde sur la densité des produits traités, on observe que la densité diminue quand le taux de l'oxyde augmente soit dans le cas de $ZrO_2$ ou soit dans le cas de $Al_2O_3$. Cela revient au pourcentage de décomposition de HA en β-TCP. D'après la bibliographie et l'équation de décomposition de HA en β-TCP; l'eau se libère au cours de la décomposition; ce qui conduit à la formation des pores et par conséquence la diminution de la densité. Ainsi; en tenant compte d taux des phases présentes dans chaque mélange et la densité élevée de $ZrO_2$ et $CaZrO_3$ (5.83 $g/cm^3$ et 4.61 $g/cm^3$) ; on peut dire que les échantillons contenant $Al_2O_3$ sont plus dense que les échantillons contenant le $ZrO_2$.

### 5. 1. Morphologie par MEB et l'analyse par EDS de la surface des granules traités à 1250°C

La figure (IV.7) représente la morphologie de la surface des granules traités à 1250°C.
On observe; pour tous les échantillons; que les grains sont bien compactés entre eux avec la présence d'une certaine microporosité (de l'ordre de moins de 0.5 à 1 μm) d'un taux variant d'un échantillon à un autre.
Dans les échantillons N-HA+5% $ZrO_2$ ou $Al_2O_3$, le nombre de pores est moins que dans les autres échantillons. Cela explique la densité élevée de ces échantillons par rapport a N-HA pure et N-HA+10% $ZrO_2$+10% $Al_2O_3$.

Si on compare entre les échantillons N-HA+ $ZrO_2$ et N-HA+ $Al_2O_3$, on peut observer que les échantillons N-HA+ $Al_2O_3$ contiennent moins de pores que les échantillons N-HA+ $ZrO_2$.
Les images de MEB sont en très bon accord avec les calculs de la densité.

La figure (IV. 8) montre une cartographie des surfaces des échantillons traités à 1250°C.
Pour N-HA pure, on observe une distribution homogène de deux éléments Ca et P sur toute la surface confirmant la présence d'une seule phase. Alors que pour les échantillons N-HA+ oxyde, on observe que la distribution de Ca et P est hétérogène; ce qui confirme la présence de plus d'une phase. Les zones pauvres de P sont riches de l'oxyde ajouté et un certain taux de Ca. Alors que les zones riches en P sont pauvres de l'oxyde ajouté.
Les résultats de l'analyse EDS (figure IV. 9) sont en bon accord avec cette cartographie. On peut distinguer, pour les hydroxyapatites dopées, la présence de plus d'une phase. Pour les échantillons qui contiennent $ZrO_2$, les images et l'analyse EDS révèlent la présence de la

phase HA ou β-TCP (régions sombres), alors que la deuxième phase dispersée dans la matrice apatitique est le $ZrO_2$ ou le $CaZrO_3$). Ces résultats sont en bon accord avec ceux rapportés par Ramachandra [95].

Pour N-HA+$Al_2O_3$, la micrographie montre la présence des zones brillantes et sombres correspondant aux β-TCP (ou HA) et $CaAl_2O_4$ respectivement. Le même résultat a été trouvé par Jarcho [96]. Les analyses EDS montrent que les régions sombres sont riches en deux éléments Ca et Al qui correspond à la formation de $CaAl_2O_4$ (le rapport massique entre Ca, Al et O correspond à cette phase). Alors que les zones brillantes sont riches en Ca et P qui sont les éléments majeurs de β-TCP (ou HA).

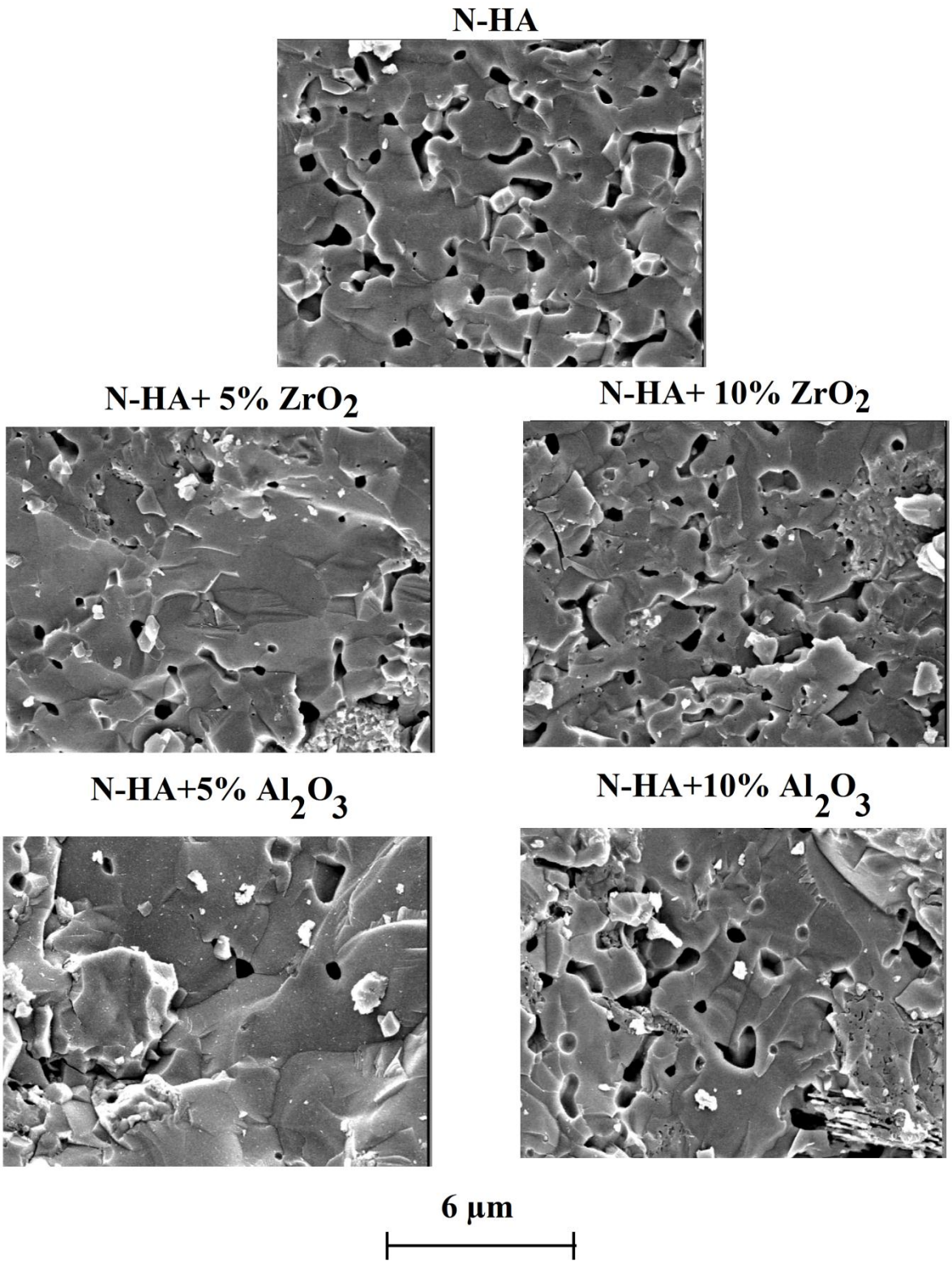



**Figure IV. 7: Morphologie par MEB de la surface du N-HA et N-HA+ addition, traitées à 1250°C.**

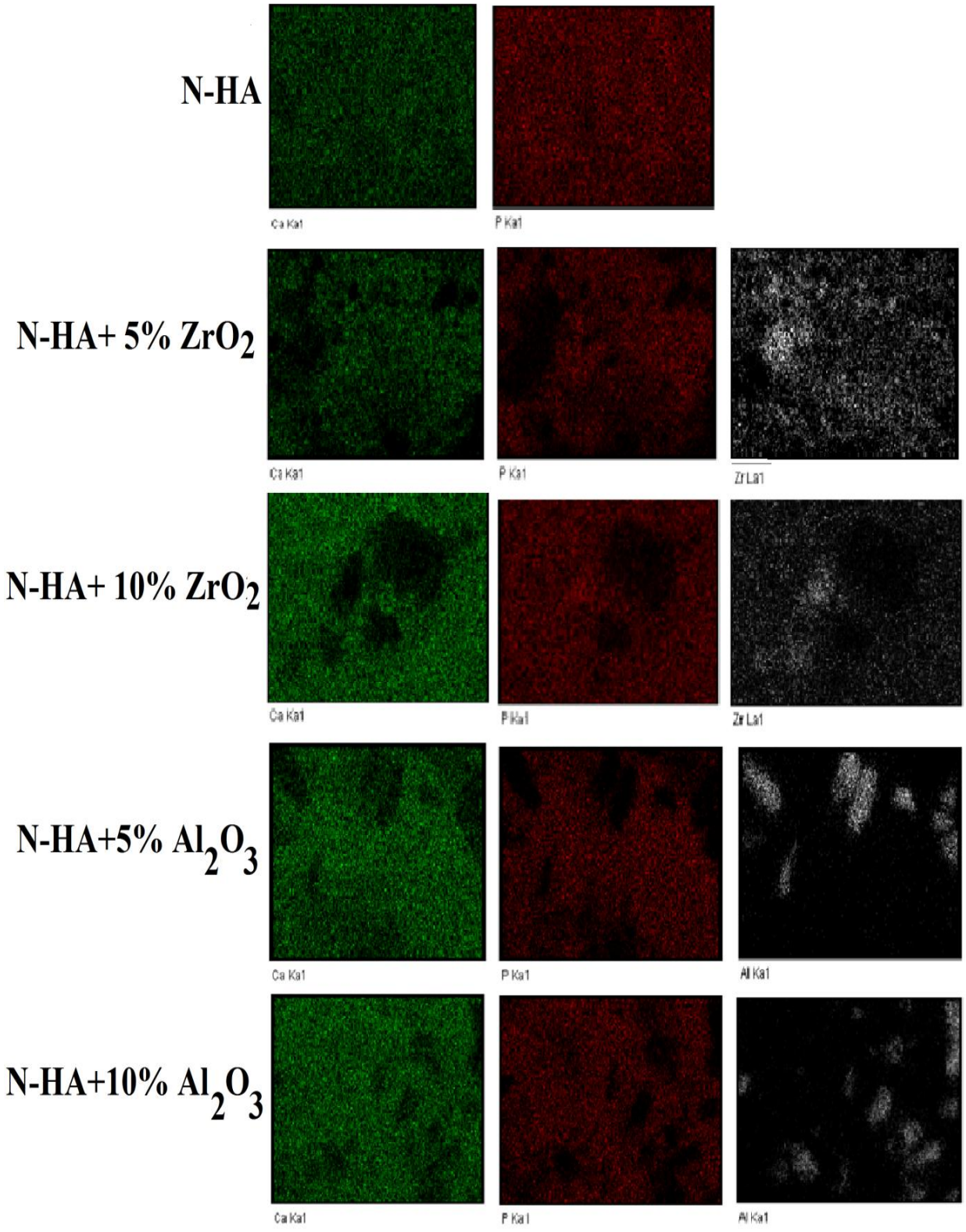



**Figure IV. 8: Cartographie des surfaces des échantillons traités à 1250°C.**

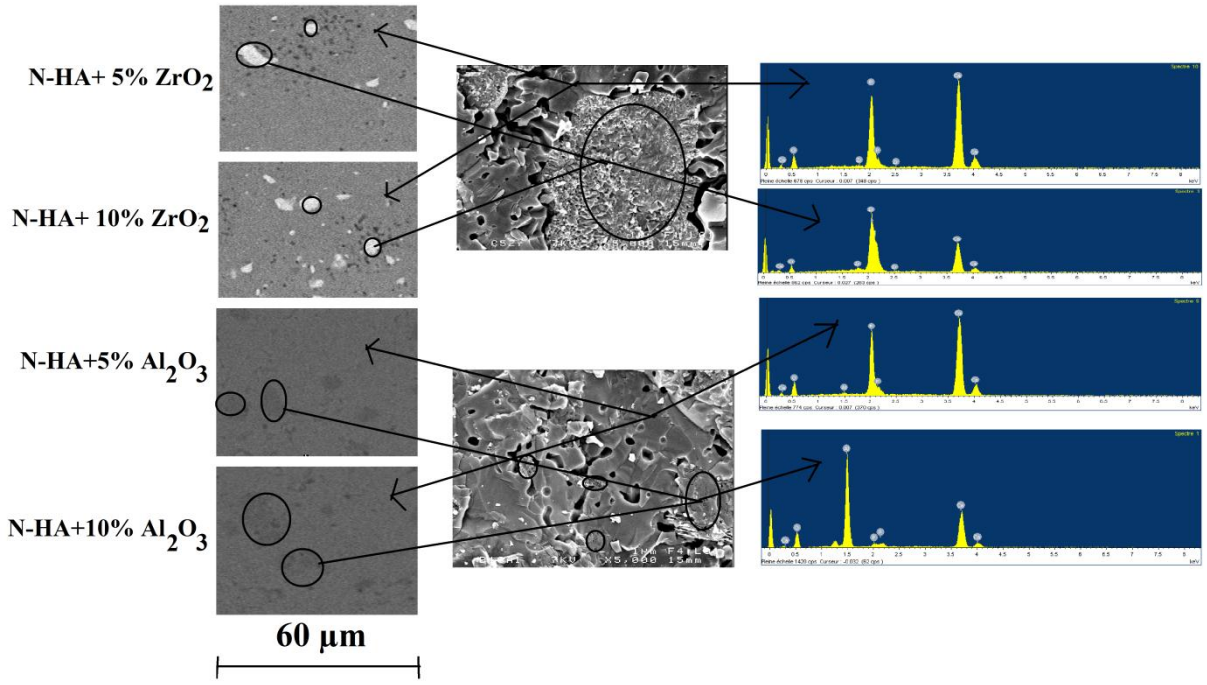



**Figure IV. 9: Analyses par EDS des surfaces des N-HA dopées ; traités à 1250°C.**

## 6. Etude de la formation de l'hydroxyapatite carbonatée à la surface des granules immergés

Rappelons que pour les tests in vitro, 30 mg sous forme de granules ; pour chaque produit traité ; ont été immergés dans 60 ml de liquide SBF à 37°C pendant des temps différents (2, 6 h, 1, 3, 7, 15 et 30 j).

Après chaque délai d'immersion dans le liquide SBF; les produits prélevés ont été rincés avec l'éthanol et séchés à l'air.

### 6. 1. Variation de pH de la solution SBF en fonction du temps d'immersion

La mesure du pH est très importante pour étudier le processus de dissolution du biomatériau quand il est immergé dans une solution physiologique. On observe que le pH de la solution d'immersion (SBF) augmente avec le temps dès 2 h d'immersion de chaque produit dans le SBF (figure IV.10) ; Après ce délai, le pH diminue entre 2 h et 6 h. Entre 6 h et 1 jour le pH se stabilise. Ensuite, il diminue en atteindront une valeur minimale après 7 jours d'immersion. Mais après ce délai, le pH raugmente une autre fois, surtout pour N-HA+ 10% $ZrO_2$. Alors que pour N-HA pure le pH diminue après 30 jours d'immersion.

On peut dire que l'échange ionique entre les protons $H^+$ de la solution SBF et les cations $Ca^{2+}$ conduit à l'augmentation du pH de la solution SBF. Ces échanges ioniques manifestent entre la surface du biomatériau et la solution SBF. Alors que la diminution du pH est peut être expliqué par la précipitation de l'hydroxyapatite carbonatée. La raugmentassions du pH peut être justifié par la continuité de la dissolution des produits dopés qui contiennent une phase soluble (β-TCP) et la présence des pores. D'après les études effectuées [76] ; plus on a un taux de porosité élevée et des phases solubles ; plus le phénomène de dissolution est activée et par conséquence la formation de HAC à la surface des granules immergés est activée.

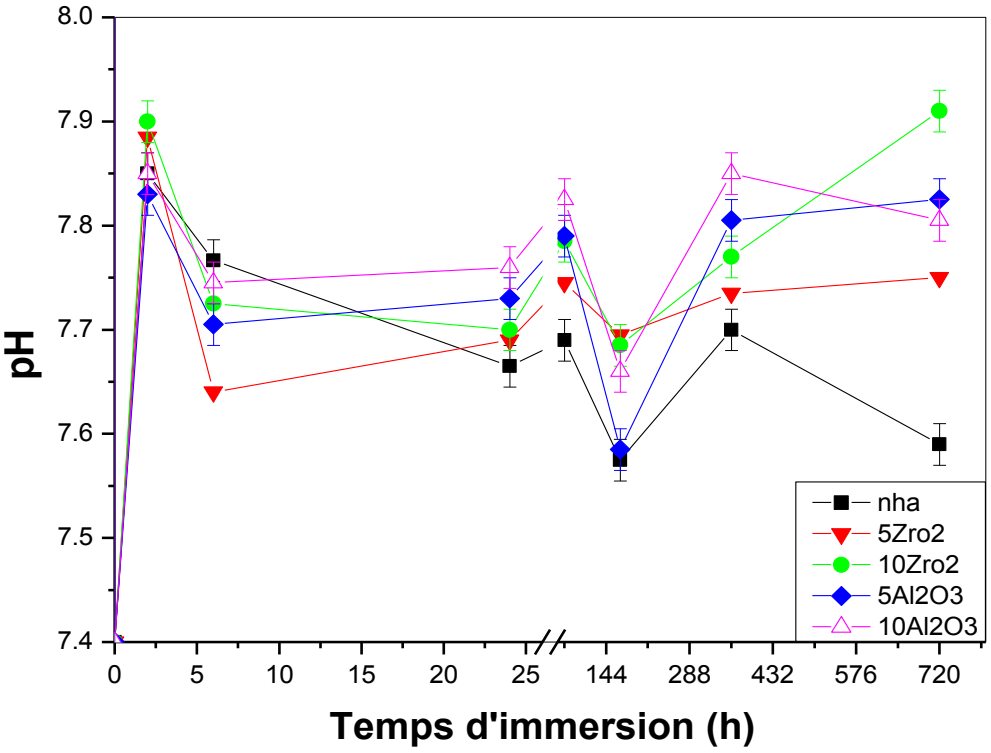



**Figure IV. 10: Variation de pH de la solution SBF en fonction du temps d'immersion.**

### 6. 2. Morphologie par MEB de la surface des granules immergés

La figure (IV. 11) présente les images par MEB des granules immergés dans le SBF après 30 jours. Pour les granules N-HA pure frittés à 1250°C, on observe, qu'après 30 jours d'immersion dans le SBF, la surface est recouverte par des cristaux d'apatite en formant une couche phosphocalcique uniforme et épaisse. Même chose pour les granules N-HA+$ZrO_2$ et N-HA+$Al_2O_3$. Cette nouvelle couche est très épaisse pour le N-HA + 10% $ZrO_2$ et N-HA+ 10% $Al_2O_3$. Mais, on observe que la surface des granules immergées n'est pas totalement recouverte par la nouvelle phase formée.

Les analyses EDS (figure IV. 11) montrent que les régions les plus pauvres en Zr ou Al sont très riches par les deux éléments Ca et P qui représentent les éléments majeurs de l'hydroxyapatite.

Cependant, les régions riches en Zr ou Al sont les plus pauvres en P. Cela nous laisse conclure que la formation de l'apatite n'a pas eu lieu dans ces régions.

La formation de l'hydroxyapatite est accompagnée par la substitution d'autres éléments existants dans le SBF comme: Na, Mg et Cl.

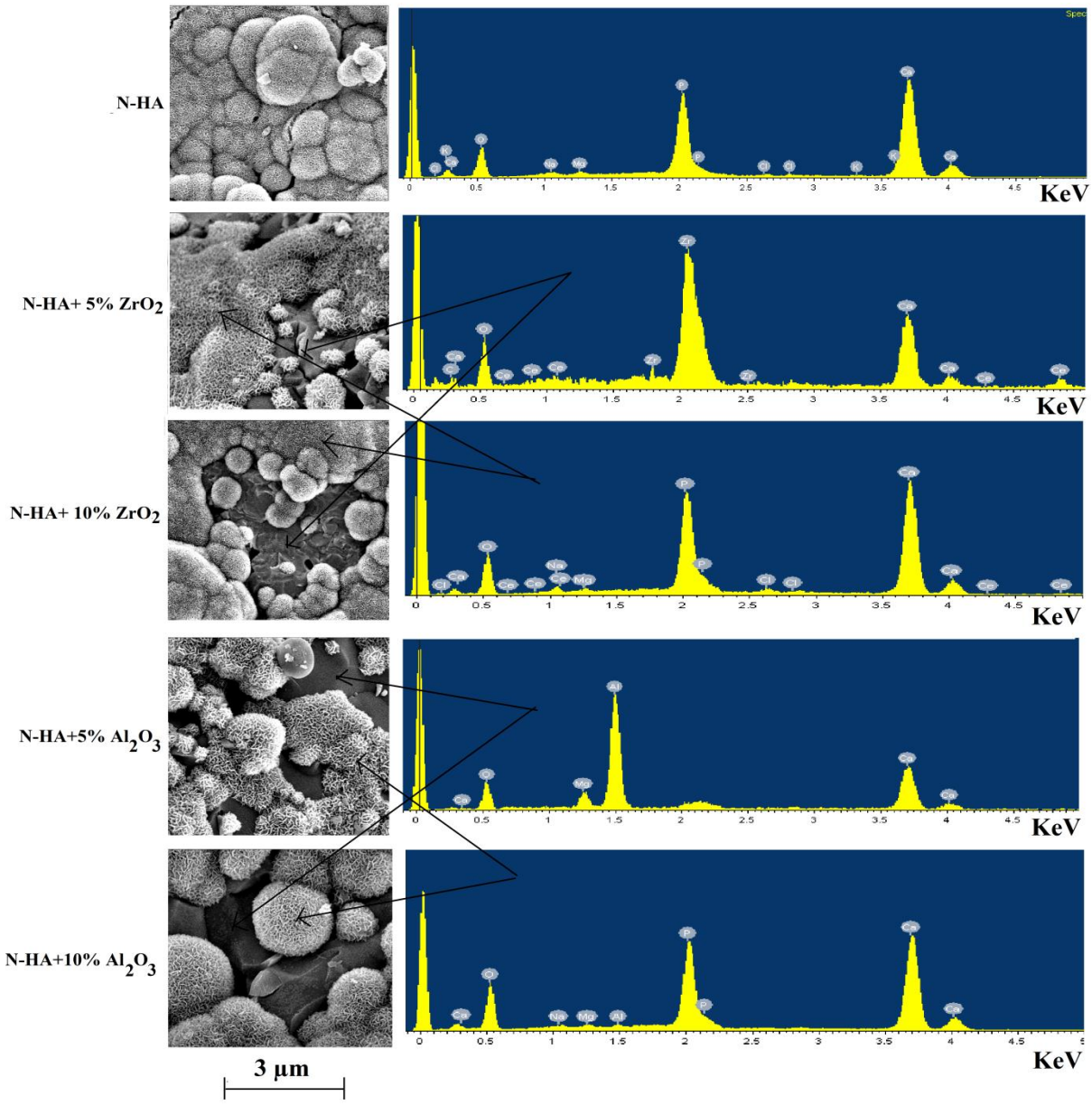



**Figure IV. 11: Morphologie par MEB et Analyses EDS de la surface des granules N-HA pure et dopées après 30 jours d'immersion dans le SBF.**

### 6. 3. Analyse par IR des granules immergées

Figure (IV.12) présente les spectres des granules immergés (N-HA pure et N-HA+ N-HA+$ZrO_2$ et N-HA+$Al_2O_3$), Pour N-HA pure et N-HA+ additions, l'intensité des bandes des groupes de phosphate et d'hydroxyle est renforcée. On observe l'apparition des bandes à 2002 $cm^{-1}$ caractéristique de groupe de phosphate dans HA. Une faible bande est apparue vers 1500 $cm^{-1}$ caractéristique des groupes carbonates. Donc l'apatite formée à la surface des granules immergés dans le SBF est une apatite carbonatée.

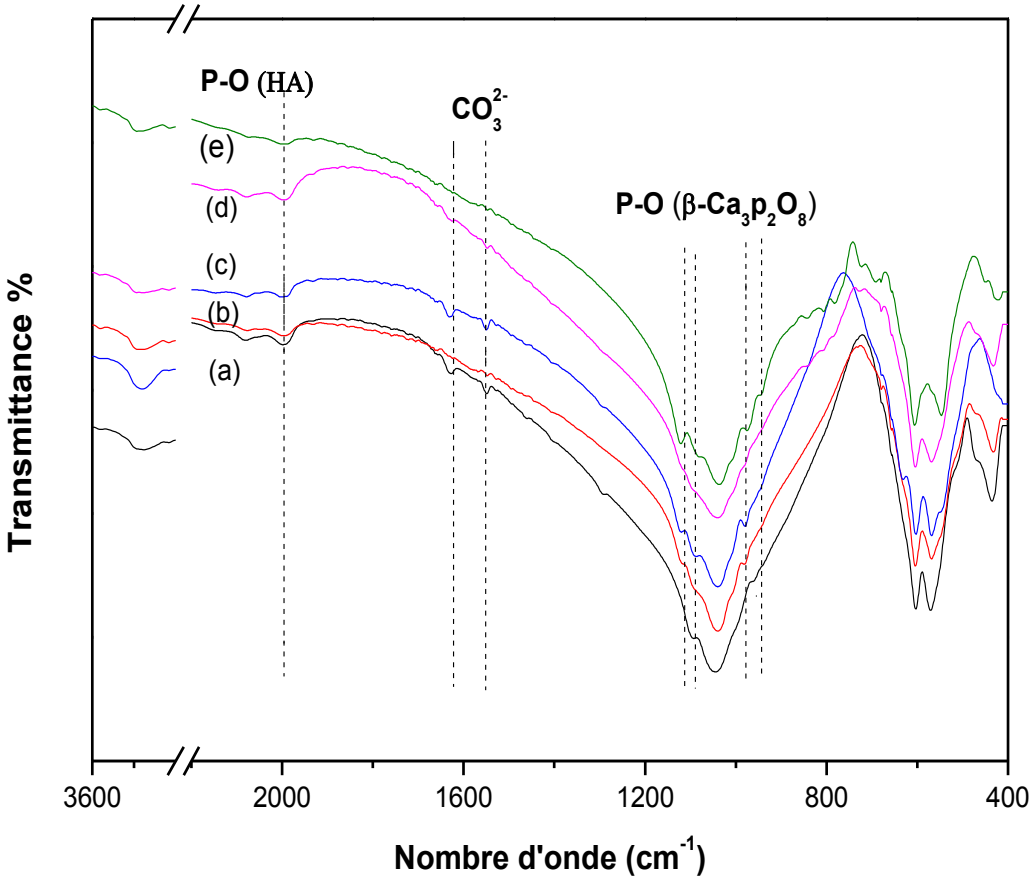



**Figure IV. 12: Spectres IR de N-HA pure et dopées après 30 jours d'immersion dans le SBF.**

**(a): N-HA, (b): N-HA+5% $ZrO_2$, (c): N-HA+10% $ZrO_2$, (d): N-HA+5%$Al_2O_3$ , (e): N-HA+10% $Al_2O_3$.**

## 7. Bilan des résultats

La comparaison des résultats obtenus permet de dire que deux phénomènes se sont manifestés au cours de l'immersion des produits traités: La dissolution des phases présentes et la formation de l'HAC à la surface des produits immergés.

La comparaison des résultats de N-HA pure et dopées (N-HA+$ZrO_2$ ou $Al_2O_3$) montrent que la porosité et la présence de β-phosphate tricalcique active la formation de l'apatite. Ces résultats sont en bon accord avec les études de Monteiro [97], ils ont montrés que la présence d'une phase mineure tell que le β-TCP active le processus de dissolution des granules et par conséquent la précipitation de l'apatite. La culture de biphasique (HA/TCP) conduit à la précipitation d'une apatite similaire à celle du l'os mieux que TCP ou HA pure [97,98 ,99].

D’après les travaux de recherche de Klein [100], les produits de décomposition de HA dissoudront plus rapidement que HA dans le liquide physiologique, dans l'ordre suivant: CaO >> TetCP >TCP >> HA.
Mais en revanche, la présence d'oxydes inertes ne conduit à aucune formation d’apatite dans les régions riches en ces oxydes.
En comparant ces résultats aux résultats précédents [76], dans le cas de granules N-HA+5% $Al_2O_3$, ou le processus de dissolution-précipitation n'a pas eu lieu même après 30 jours d'immersion dans le SBF, on peut conclure que la densité élevée des échantillons de l’étude précédente (97% de la densité théorique) conduit à l’élimination des pores et donc à la désactivation du processus de précipitation [101, 102]. Alors que dans cette étude la présence d’une certaine porosité a activée le processus de précipitation de HAC même avec la présence du β-phosphate tricalcique (β-TCP) comme phase majeure dans les échantillons N-HA+10% $Al_2O_3$. Rappelons que la phase β-TCP est caractérisée par sa faible capacité d'induire la formation de phosphate de calcium *in vitro* et *in vivo* comme il l’a montré Monteiro dans ses travaux [97].

# CONCLUSION GENERALE

## Conclusion générale

Le comblement de perte de substance ou la reconstruction osseuse nécessite la recherche et le développement des biomatériaux ayant des propriétés spécifiques pour être utilisés dans le corps humain. Les travaux de recherche s'intéressent beaucoup plus aux matériaux biocompatibles et qui forment un lien biochimique direct quand ils sont implantés dans le corps humain, Pour cela l'utilisation des céramiques, ayant des propriétés spécifiques pour des applications médicales, nous a poussées à étudier les propriétés physico-chimiques des biomatériaux bioactifs. Notre travail a été consacré a l'étude de l'hydroxyapatite pure et l'hydroxyapatite dopée par : 5% $ZrO_2$, 10% $ZrO_2$, 5% $Al_2O_3$ et 10% $Al_2O_3$ (pourcentage massique).

Notre étude a été faite en deux étapes; où on a étudié :

- les propriétés physico-chimiques de l'hydroxyapatite pure.
- l'effet des additions ($ZrO_2$, $Al_2O_3$) sur la bioactivité de N-HA.

L'analyse de la structure par diffraction de rayons X et spectrométrie infrarouge a révélé que le traitement thermique a 1250°C n'altère pas la structure cristallographique de N-HA. Alors que l'ajout d'autres produits, cité précédemment, a conduit à la décomposition de l'hydroxyapatite et la formation d'autres phases.

Les résultats obtenus de RX et IR ont montré que:

- l'ajout du (5 et 10%) $ZrO_2$ et 5% $Al_2O_3$conduit à la décomposition partielle de HA en phosphate tricalcique (β-TCP).
- l'ajout du 10% $Al_2O_3$ conduit a la décomposition presque totale de HA.

L'étude de la bioactivité et les altérations physico-chimiques après immersion des produits étudiés dans le SBF nous a permis de déduire que:

- La bioactivité de ces HA dopées. Une couche d'hydroxyapatite s'est formée à la surface des granules immergés soit pour N-HA pure ou dopée.
- La présence d'une phase secondaire β-TCP améliore la bioactivité de l'hydroxyapatite.
- Les zones riches en oxyde ajouté inhibent la formation de l'hydroxyapatite carbonatée dans ces zones.

Donc, l'ajout d'autres produits a l'hydroxyapatite à un effet très remarquable soit sur la décomposition de HA ou sa bioactivité. Les résultats de ce travail confirment que l'ajout de l'oxyde ($ZrO_2$, $Al_2O_3$) rende l'hydroxyapatite plus réactive en stimulant la formation d'une couche dense de l'apatite carbonatée a sa surface.

Le domaine de recherche des biomatériaux est un domaine multidisciplinaire où on peut trouver le physicien, le chimiste et le biologiste. Ces chercheurs essayent toujours de trouver le biomatériau conforme pour réparer ou combler un site osseux. Le choix d'utiliser l'hydroxyapatite ou l'hydroxyapatite dopée est basé sur les propriétés mécaniques, la capacité de former un lien biochimique stable entre l'implant et l'os hôte, le site à combler ou a réparer et l'âge du patient. L'implant doit, en plus de former à sa surface l'hydroxyapatite biologique, avoir des propriétés proches a celles du l'os pour éviter la création des fissures et sa propagation.

# REFERANCES

## Références


[1] D. F. Williams, « Definitions in Biomaterials », Second Consensus Meeting, Eur. Soc. Biomat., Edition: Elsevier, Chester, UK (September 1991).

[2] http://fr.wikipedia.org/wiki/Biomat%C3%A9riau.

[3] L. L. Hench, Amer. Ceram. Soc, Vol. 81(7) (1998), pp. 1705-1727.

[4] S. F. Hulbert, J. C. Bokros, L. L. Hench, « Ceramics in clinical applications: past, present and future », High Tech Ceramics, Edition: P. Vincenzini, Elsevier, Amsterdam (1987).

[5] H. Petite, Medecine/ sciences, Vol. 18 (2002), pp. 995- 1002.

[6] N. Passuti, G. Daculsi, Presse Méd., Vol. 18 (1989), pp. 28-31.

[7] J. D. Santos, « ceramics in medecine », Busines briefing: Medical device manufacturing and technology (2002), pp.1-2.

[8] R.-N. BORȘA, Thèse Doctorat « Elaboration de poudres et de dépôts de phosphates de calcium silicatés à usage de biomatériaux », Toulouse (2008).

[9] L. L. Hench, « introduction to Bioceramics », Edition J. Wilson, Singapore: World Scientific(1993).

[10] K. A. Hing, Phil. Trans. R. Soc. Lond. A, Vol. 362 (2004), pp. 2821–2850.

[11] R. Z. Legeros, G. Daculsi, J.P. Legeros, Bioactive Bioceramics, Musculoskeletal Tissue Regeneration chapitre 8, Edition: Humana Press, (2008).

[12] U. Meyer, H.P. Wiesman, Bone and Cartilage Engineering, chapitre2 “Bone and Cartilage”, Edition: Springer, Berlin Heidelberg (2006).

[13]https://www.google.dz/search?noj=1&biw=1280&bih=628&q=la%20structure%20de%20l%E2%80%99os%20cortical&um=1&ie=UTF-

[14] G. Chomette, M. Auriol, Ency. Med. Chir., Stomatologie et odontologie, Editions: Techniques, Paris (1992).

[15] J. P. Dadoune et P. Hadjiiski « Histologie », Edition : flammarion, Paris (1990).

[16] A. Stevens et J.S. Lowe, « Histologie », Edition : Pradel, Paris (1992).

[17] www.worldscibooks.com/medsci/etextbook/5695/5695_chap01.pdf.

[18] C.V. Gay and W.J. Mueller, Science, Vol. 183(1974), pp. 432-434.

[19] D. Kuntz, P. Marie et L. Miravet, Ency. Med. Chir., Appareil locomoteur, Paris (1981).

[20] W. F. De Jong, Rec. Trav. Chim.,Vol. 45 (1926), pp. 445-448.

[21] D.Mc Connell, « Apatite- Its Crystal Chemistry, Mineralogy, Utilization, and Geologic and Biologic Occurrences» , Edition: Springer Verlag, Vienna-Heidelberg-New York (1973).

[22] A. S. Posner, Physiol. Rev. 49(4) (1969), pp. 760-792.

[23] F. C. M. Driessens, Bull. Soc. Chim. Belg., Vol. 89 (1980), pp. 663-689.

[24] R. Z. Le Geros & J. P.Le Geros, « Dense hydroxyapatite». In An introduction to biocramics, Edition: L. L. Hench & J. Wilson, World Scientific (1993).

[25] J. Elliot, « Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates», Edition: Elsevier (1994).

[26] N. K. Aras, G. Yiimaz, S. Alkan, F. Korkusuz, J. Radioanal. Nucl. Chem., Vol. 239 (1) (1999), pp. 79-86.

[27] I. Couret, Méd. Nuc., Vol. 28(2) (2004), pp. 57-65**.**

[28] L. Teot, J. Vidal, Eds., Le tissu osseux. Biologie de l'appareil locomoteur, Edition : Vigot, Montpellier (1989).

[29] P. Marie, L. Miravet, Ency. Med. Chir., appareil locomoteur, Paris (1986).

[30]https://www.google.dz/search?q=remodelage+osseux&client=firefox-

[31] S. Ciucă, I. Antoniac, C. Molagic, O. Trante, Biomatériaux, Edition: Printech (2001).

[32] L. Hench, Bioceramics: from concept to clinic, J. Am. Chem. Soc. 74(7) (1991), pp.1487-1510.

[33] L. Sedel, C. Janot, Biomatériaux, Rapport INSERM, (2005).

[34] J. P. Lafon, Thèse Doctorat « synthèse, stabilité théorique et frittage d'hydroxyapatites carbonatées », Toulouse (2004).

[35] http://fr.wikipedia.org/wiki/Hydroxyapatite.

[36] M.I. Kay, R.A. Young, A.S. Posner, Crystal structure of hydroxyapatite, Nature, Vol. 204 (1964), pp. 1050- 1052

[37] R. N. Borşa, Elaboration de poudres et de depots de phosphates de calcium silicates à usage de Biomatériaux, Toulouse (2008).

[38] Substituts, ANDEM/Service Évaluation Technologique, Avril (1997).

[39] S. Laurent, J. Christian, Biomatériaux, Cahier des charges de l'INSERM**.**

[40] K. A. Hing, S.M Best, K.E. Tanner, W. Bonfield and P.A. Revell, J. Mater. Sci.: Mater.

[41] F. Mezahi, A. Harabi, S. Zouai, S. Achour and D. Bernache- Assollant, Mater. Sci. Forum Vols. 492-493 (2005) pp. 241-248.

[42] D. Roy and S.K. Linnehan, Nature, Vol. 247 (1974), pp. 220-222.

[43] R. G. V. Hancock., M. D. Grynpas and B. Alpert, J. Radioanal. Nucl. Chem., Vol. 110 (1987), pp. 283-291.

[44] E. Mejdoubi, Thèse Doctorat: « Elaboration et étude physico -chimique d'un ciment à base de phosphate de calcium », Toulouse (1993).

[45] J. Carpena , F. Audubert, D. Bernache-Assolant, L. boyer, B. Donazzon, J. L. Lacout, N. Senamaud, Rapport scientifique DCC (1998).

[46] H. Tagai, H. Aoki, Edition: DF Williams, John Wiley and Sons, New York (1980).

[47] A. Osaka, Y. Miura, K. Takeuchi, M. Asada, K. Takahashi, J. Mater. Sci: Mater in Med, Vol. 2 (1991), pp. 51-55.

[48] L.M. Rodriguez-Lorenzo, M. Vallet-Regi, Chem. Mater., Vol.12 (2000), pp. 2460-2465.

[49] Layrolle, A. Ito, T.S Teteishi, J. Am. Ceram. Soc., Vol. 81 (1998), pp. 3029-3031.

[50] A. Jillavenkatesa, R.A. Condrate Sr., J. Mater. Sci., Vol. 33 (1998), pp. 4111-4119.

[51] H. K. Varma, S. N. Kalkura, R. Sivakumar, Ceram. Int., Vol. 24 (1998), pp. 467-470.

[52] T.Anee Kuriakose, S. Narayana, M.Palanichamy, D.Arivuoli, Karsen Dierks, G. Bocelli, C. Betzel, J. Crystal growth, Vol. 263 (2004), pp. 517-523.

[53] R.Z. Legeros, Nature, Vol. 206 (1965), pp. 403-407.

[54] D. Tadic, F. Peters, M. Epple, Biomaterials, Vol. 23 (2002), pp. 2553-2559.

[55] R.A. Young, D.W. Holcomb, Calcified Tissue Int., Vol. 34 (1982), pp. 17-32.

[56] T. V. Thamaraiselvi, S. Rajeswari, Trends Biomater. Artif. Organs, Vol. 18 (1) (2004), pp. 9-17.

[57] S. Pramanik, A. K. Agarwal, K.N. Rai, A. Garg, Ceramics International, Vol. 33 (2007), pp.419-426.

[58] J. Cihlar and M. Trunec, Biomaterials, Vol. 17 (1996), pp. 1905-1911.

[59] J. Cihlar and M. Trunec, « Proceedings of the 10th International Symposium on Bioceramics in Medicine, Paris, 1997,» Edition: L. Sedel and C. Rey, Elsevier, Oxford (1997), p. 183-186.

[60] R. Z. Legeros, J . P. Legeros, Y. Kim, R.Kijkowska, R. Zheng, C. Bautista and J. L. Wong,
in « Bioceramics: Materials and Applications » Edition: G. Fischman,A. Clare and L. L. Hench (American Ceramic Society), Ohio (1995).

[61] R. Z. Legeros, Clin. Mat., Vol. 14 (1993), pp. 65-88.

[62] A. Ravaglioli and A. Krajewski, « Bioceramics», Edition: Chapman and Hall, London (1992).

[63] R. Z. Legeros and J . P . Legeros, in « An Introduction to Bioceramics», Edition: L. L. Hench and J.Wilson (World Scientific), Singapore (1993).

[64] H.M. Kim, T. Himeno, T. Kokubo, T. Nakamura, Biomaterials, Vol. 26 (2005), pp. 4366-4373.

[65] L.L. Hench, J. Am. Ceram .Soc., Vol. 74 (1991), pp.1487–1510.

[66] M. Neo, T. Nakamura, C. Ohtsuki, T. Kokubo, T. Yamamuro, J. Biomed. Mater. Res., Vol. 27 (1993), pp. 999-1006.

[67] J. Niwa, Bone Fracture, Vol. 5 (1983), pp. 124-128.

[68] M. M. Monteiro, N. C. C. da Rocha, A. M. Rossi, G. de A. Soares, J. Biomed. Mater. Res. Vol. 65A (2003), pp. 299-305.

[69] J. Weng, Q. Liu, J.G.C. Wolke, X. Zhang, K. Groot, Biomaterials, Vol. 18 (1997), pp.1027-1035.

[70] R.Z. Legeros, J.P. Legeros, G. Daculsi, R. Kijkowska, « Calcium phosphate biomaterials: preparation, properties and biodegradation», Edition: DL Wise, Encyclopedic handbook of biomaterials and bioengineering,. New York: Marcel Dekker; Vol. 2, Part A (1995).

[71] J.-M. Bouler, G. Daculsi, Key Eng. Mater., Vol. 119 (2001), pp. 192-195.
[72] H. Aoki, « Medical applications of hydroxyapatite», Edition: St. Louis: Ishyyaku Euro America (1994).
[73] R. Lanza, R. Langer, and W. Chick, « Principles of Tissue Engineering», Edition: Academic Press Inc, San Diego CA (1997).
[74] W. Suchanek, M. Yashima, M. Kakihana and M. Yoshimura, Biomaterials, Vol. 18 (1997), pp. 923-927.
[75] P. Ducheyne, Q. Qiu, Biomaterials, Vol. 20 (1999), pp. 2287-2303.
[76] F. Z. Mezahi, Thèse Doctorat « Caractérisations physico-chimiques et Cinétique de bioactivité des biomatériaux: Hydroxyapatite & Verre bioactif 52S4 élaboré par fusion et par voie sol-gel », Constantine (2009).
[77] T. Kokubo, H. Kushitani, C. Ohsuki, S. Sakka, T. Yamamura, J. Mater. Sci.: Mater. Med. Vol. 3 (1992), pp. 79-83.
[78] http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sem_secondary_electron.svg.
[79] J. Huaxia, P.M. Marquis, J. Mater. Sci., Vol. 28 (1993), pp. 1941-1945.
[80] R. Ramachandra Rao, T.S. Kannan: Mater. Sci. Eng., Vol. 20 (2002), p. 187-193.
[81] H.W. Kim,Y.J. Noh, Y. H. Koh, H.Ee Kim and H.M. Kim, Biomaterials, Vol. 23 (20) (2002), pp. 4113-4121.
[82] H. John. Allan, British Division of the International Association for Dental Research, British Division (1969).
[83] A. L. Underwood, Y. Toribara and W.F. Neuman, J. Am. Chem. Soc, Vol. 77 (1955), pp. 317-319.
[84] S. Koutsopoulos, J. Biomed. Mater. Res., Vol. 62 (2002), pp. 600-612.
[85] I. Rehman and W. Bonfield, J. Mater. Sci.: Mater. in Med., Vol. 8 (1997), pp. 1-4.
[86] Y. Sargin, M. Kizilyalli, C. Telli and H. Güler, J. Europ. Ceram. Soc., Vol. 17 (1997), pp.963-970.
[87] S. J. Joris and C. H. Amberg, J. Phys. Chem., Vol. 75 (1971), pp. 3172-3178.
[88] M. Vignoles, G. Bonel, D. W. Holcomb and R. A. young, Calcif. Tissue Int., Vol. 45 (1989), pp. 157-164.
[89] S. Raynaud, E. Champion, D. Bernache- Assollant and P, Thomas, Biomaterials, 23 (2002), pp. 1065-1072.
[90] J. C. Rendon- Angeles, K. Yanagisawa, N.Ishizawa and S. Oishi, Chem. Mater., Vol. 12 (2000), pp. 2143-2150.
[91] B. D. Cullity, « Elements of X-ray Diffraction», Edition: Addison- Wesley (1978).
[92] R. B. Heimann and T. A. Vu, J. Mater. Sci. Lett., Vol. 16 (1997), pp. 437-439.
[93] J. M. Wu and T. S. Yeh, J. Mater. Sci. Vol. 23 (1988), pp. 3771-3777.
[94] A. Jillavenkatesa and R. A. Condrate, Spec. Lett., Vol. 31 (1998), pp. 1619-1634.

[95] R. Ramachandra Rao, T.S. Kannan: Mater. Sci. Eng., Vol. 20 (2002), p. 187-193.

[96] M. Jarcho, Clin. Ortho. Rel. Res. Vol. June (1981), pp. 259-278.

[97] M. M. Monteiro, N. C. C. da Rocha, A. M. Rossi, G. de A. Soares, J. Biomed. Mater. Res. Vol. 65A (2003), pp. 299-305.

[98] R. Xin, Y. Leng, J. Chen, Q. Zhang, Biomaterials, Vol. 26 (2005), pp. 6477-6486.

[99] J.-M. Bouler, G. Daculsi, Key Eng. Mater., Vol. 119 (2001), pp. 192-195.

[100] C. P. A. T. Klein, Biomaterials, Vol.11, (1990), pp. 509-511.

[101] A. Tampieri, G. Celotti, S. Sprio, A. Delcogliano, S. Franzese, Biomaterials, Vol. 22 (2001), pp. 1365-1370.

[102] W. Bonfield, Phil. Trans. R. Soc. Vol. A 364 (2006), pp. 227–232.

# دراسة النشاط الحيوي للهيدروكسيأباتيت المطعم ب $ZrO_2$ و $Al_2O_3$


## ملخص

إنّ الهدف من هذا العمل هو دراسة الخصائص الفيزيوكيميائية و النشاط الحيوي للهيدروكسيأباتيت النقي و المطعم بالآكاسيد الخاملة $ZrO_2$ و $Al_2O_3$.

بينت النتائج المحصل عليها أنّ إضافة (5% و 10% من $ZrO_2$ و 5 من% $Al_2O_3$ (نسبة كتلية) أدّى إلى تفكك جزئي للهيدروكسيأباتيت إلى فوسفات ثلاثي الكلسيوم ($\beta-$ TCP). غير أنّ إضافة 10 % من $Al_2O_3$ أدّى إلى تفكك تقريبا تام للهيدروكسيأباتيت إلى ($\beta-$ TCP).

سمحت لنا دراسة النشاط الحيوي للمواد المغموسة داخل سائل حيوي (SBF) من الإستنتاج أنّ هناك عدّة عوامل مؤثرة على النشاط الحيوي: الكثافة الحجمية, الأطوار الثانوية المتشكلة أثناء المعالجة الحرارية و وجود الآكاسيد الخاملة.

إنّ إضافة الآكاسيد يحسن من النشاط الحيوي. إذ أنّ هذه الآكاسيد تؤدي إلى تفكك HA إلى $\beta-$ TCP و التي تتميز بقوة إنحلالها. وجود هذا الطور و الفراغات يحث على تكون كربون الهيدروكسيأباتيت على سطح المواد المغموسة. إلاّ أنّ المناطق الغنية بالأكسيد المضاف لا تسمح بتكون هذه الطبقة.



## الكلمات المفتاحية

- الهيدروكسيأباتيت
- فوسفات ثلاثي الكلسيوم
- النشاط الحيوي
- سائل حيوي (SBF)

# Study of the bioactivity of hydroxyapatite doped **with** $ZrO_2$ and $Al_2O_3$


## Abstract

This work was devoted to the study of the physicochemical properties and bioactivity of pure and doped hydroxyapatite by inert oxides (N-HA + $ZrO_2$ , N-HA + $Al_2$ $O_3$ ).

The results show that the addition of (5 and 10%) $ZrO_2$ and 5% $Al_2$ $O_3$ (mass) has led to the partial decomposition of HA into tricalcium phosphate (β- TCP). However, for 10% $Al_2$ $O_3$, there was a complete decomposition of HA into β- TCP.

The study of bioactivity of products soaked in simulated body fluid (SBF) has to conclude that there are many factors influencing the bioactivity of N-HA: density, secondary phases formed during the thermal treatment and the presence of inert oxides.

It can be deduce that the addition of oxides improves the bioactivity of the apatite. These added oxides lead to the decomposition of HA into β- TCP which is a soluble phase. The presence of this phase and the pores induce the formation of carbonated hydroxyapatite on the surface of the soaked products. Noting that region; rich by these oxides; inhibits the formation of this layer.



## Key words :

- Hydroxyapatite
- Tricalcium phosphate
- Bioactivity
- Simulated body fluid (SBF)

# Etude de la bioactivité de l'hydroxyapatite dopée par le $ZrO_2$ et $Al_2O_3$


## Résumé

Ce travail a été consacré à l'étude des propriétés physico-chimiques et la bioactivité de l'hydroxyapatite pure et dopée par les oxydes inertes (N-HA+ $ZrO_2$, N-HA+ $Al_2O_3$).

Les résultats obtenus montrent que l'ajout de (5 et 10%) $ZrO_2$ et 5% $Al_2O_3$ (en masse) a conduit à la décomposition partielle de HA en phosphate tricalcique (β- TCP). Par contre ; pour 10 % $Al_2O_3$, on a presque une décomposition totale en β- TCP.

L'étude de la bioactivité des produits immergés dans la solution physiologique simulée (SBF) a permet de conclure qu'il existe de nombreux facteurs influençant la bioactivité de N-HA: la densité, les phases secondaires formées pendant le traitement thermique et la présence d'oxydes inertes.

On peut dire que l'ajout des oxydes améliore la bioactivité de l'apatite. Ces oxydes ajoutés conduisent à la décomposition de HA en β- TCP qui est une phase soluble. La présence de cette phase ainsi que les pores induisent la formation de l'hydroxyapatite carbonatée à la surface des produits immergés. Notant que les zones riches en oxyde ajouté n'induisent pas la formation de cette couche.



## Mots -Clés :

- Hydroxyapatite
- Phosphate tricalcique
- Bioactivité
- Solution physiologique simulé (SBF)