

REMERCIEMENTS

Je tiens en premier lieu à remercier les membres de mon jury de thèse :

A Monsieur le Professeur Florent Meyer, qui nous fait l'honneur de présider ce jury, pour vos compétences et votre sympathie qui m'ont marqué,

A Monsieur le Docteur Olivier Etienne, mon directeur de thèse, pour avoir dirigé cette thèse et m'avoir fait découvrir le monde de la recherche. Merci pour vos conseils avisés et vos encouragements tout au long de cette étude ainsi que pour le temps consacré à la lecture de mes travaux.

A Madame le Professeur Marilyne Minoux, pour vos conseils en travaux pratiques et en clinique.

A Monsieur le Docteur Olivier Huck, que nous sommes heureux de compter parmi les membres de ce jury.

A Madame le Docteur Lydie Ploux, pour m'avoir accueillie dans votre équipe et fournie le matériel nécessaire à cette étude. Je vous remercie pour vos judicieux conseils qui m'ont permis d'orienter mes recherches de manière pertinente.

Puis, mes pensées vont aux personnes, sans lesquelles ce travail n'aurait pas vu le jour :

A Adeline Marguier et toute l'équipe de microbiologie du laboratoire de l'IS2M, qui m'ont accueillie chaleureusement, formée et conseillée pour la partie microbiologie de cette étude,

A Madame Tatiana Petithory, qui m'a formée à la microscopie confocale,

A Madame Samar Hajjar, pour l'analyse de mes matériaux par XPS,

A Monsieur Léandro Jacomine, pour votre accueil et la mise à disposition de l'appareil de profilométrie optique,

Aux fabricants de matériaux dentaires, qui ont eu la gentillesse de me fournir les matériaux nécessaires à cette étude.

J'aimerais aussi remercier tout le personnel, enseignants, attachés et assistantes de la Faculté Dentaire qui m'ont entourée et formée tout au long de mon parcours scolaire.

Enfin, mes pensées s'adressent à ma famille et à Ronan, pour leur patience et leur soutien quotidien sans lesquels cette aventure n'aurait pu se faire.

Merci à mes amis et à tous ceux qui m'ont aidée dans la réalisation de ce travail.

UNIVERSITE DE STRASBOURG

FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année : 2017

N°02

THESE

Présentée pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire

Le mardi 10 janvier 2017

Par

STEINMETZ Caroline

Née le 07/08/1989 à HAGUENAU

RUGOSITE ET ADHESION BACTERIENNE SUR LES RESINES COMPOSITES : ETUDE <i>IN-VITRO</i>

Président : Professeur MEYER Florent

Assesseurs : Professeur MINOUX Maryline

Professeur HUCK Olivier

Docteur ETIENNE Olivier

Membre invité : Docteur PLOUX Lydie

SOMMAIRE

INTRODUCTION	5
I. Les résines composites	7
A. La phase organique	7
1. La résine matricielle.....	8
2. Les contrôleurs de viscosité	9
3. Les agents de polymérisation	10
4. Les inhibiteurs de prise.....	10
B. La phase inorganique.....	11
1. Nature des charges	11
a) Les charges minérales ou inorganiques	12
b) Les charges organiques.....	12
2. Pourcentage de charge en poids ou en volume	13
3. Taille et morphologie des charges	13
a) Les macrocharges	14
b) Les microcharges.....	14
C. Classification des résines composites.....	15
1. Les composites macrochargés	15
2. Les composites microchargés	15
3. Les composites hybrides	16
D. Apport de la nanotechnologie dans les composites dentaires.....	19
1. Processus de fabrication	19
2. Nature des nanocharges	20
a) Charges minérales.....	20
b) Matériaux hybrides organo-minéraux.....	20
3. Composites issus de la nanotechnologie	21
a) Les composites nanochargés	21
b) Les composites nanohybrides.....	22
c) Les composites nanohybrides complexes.....	22
E. L'agent de couplage	23

F. Caractéristiques des résines composites	23
1. Propriétés physiques	24
a) La rétraction de prise	24
b) Le coefficient d'expansion thermique	25
c) L'absorption d'eau	25
2. Propriétés mécaniques	26
a) Résistance à la compression	26
b) La ténacité ou résistance à la fissuration	26
c) Le module d'Young ou module d'élasticité	26
d) La dureté	27
e) La résistance à l'usure	27
3. Propriétés biologiques	28
a) La biocompatibilité	28
b) Activité antibactérienne	29
II. L'adhésion bactérienne et la formation des biofilms	32
A. Le transport vers la surface	33
B. L'adhésion bactérienne initiale	34
C. La prolifération et la synthèse d'une matrice extracellulaire	35
D. La maturation et le détachement	35
III. État de surface des matériaux et adhésion bactérienne	37
A. Influence de la rugosité et topographie de surface	37
B. Influence des propriétés physico-chimiques de la surface	39
C. Influence des propriétés mécaniques de la surface	40
IV. Polissage des résines composites	41
A. Protocole de finition-polissage des résines composites	41
B. Facteurs influençant l'efficacité du polissage	42
C. Abrasifs et instruments de finition-polissage	43
1. Composition des abrasifs	44
2. Instruments de finition-polissage	45
a) Les fraises diamantées	45
b) Les fraises en carbure de tungstène	45
c) Les bandes et disques abrasifs	46
d) Les roues, cupules et pointes en caoutchouc	46
e) Les pierres	47

f) Les pâtes à polir et leurs dispositifs d'application	47
D. État de surface des résines composites après polissage.....	47
V. Matériels et méthodes : étude <i>in-vitro</i>	49
A. Préparation des échantillons	49
B. Polissage des échantillons	51
C. Étude complémentaire	53
D. Caractérisation de l'état de surface	55
1. Analyse par spectroscopie des photoélectrons par rayons X	55
2. Matériel d'observation en microscopie optique	55
3. Méthode d'observation et mesures	56
4. Traitement des données	57
5. Analyse statistique.....	59
E. Protocole microbiologique	59
1. Stérilisation des échantillons	59
2. Souches bactériennes	59
3. Conditions de culture bactérienne	61
4. Observation des bactéries adhérentes	64
5. Traitement des images pour le comptage bactérien	65
6. Analyse des acquisitions	66
F. Analyse statistique	67
VI. Résultats	69
A. Analyse de la rugosité de surface : étude comparée des systèmes de polissage...	69
1. Statistiques descriptives	69
2. Statistiques analytiques	74
B. Analyse de la rugosité de surface et de l'adhésion bactérienne	76
1. Statistiques descriptives	76
2. Statistiques inférentielles	81
C. Analyse de la chimie de surface par XPS	83
VII. Discussion.....	85
CONCLUSION	91
Références bibliographiques	94
ANNEXES.....	99

INTRODUCTION

Les progrès scientifiques et technologiques dans les sciences des matériaux ont entraîné un développement majeur des résines composites à usage dentaire. Leurs propriétés esthétiques et physico-chimiques en font un matériau de choix pour les restaurations dentaires par technique directe, tant dans les secteurs dentaires antérieurs que postérieurs. Bien que leur composition ait nettement évolué, des échecs thérapeutiques causés par l'apparition de caries secondaires ou maladies parodontales sont fréquemment rapportés. Ces lésions sont initiées par la présence de micro-organismes oraux constituant la flore buccale. Or la cavité buccale étant un système ouvert, elle est constamment contaminée par diverses espèces bactériennes. Ce sont souvent des germes commensaux non pathogènes, adhérant grâce à la présence d'une pellicule acquise à la surface des dents et matériaux de restauration. Celle-ci est composée de molécules organiques issues des aliments absorbés, et sert de site d'adhésion aux bactéries orales. Cet écosystème complexe, appelé la plaque dentaire, nécessite une attention particulière car dans le cas de conditions favorisantes (altération de l'état général, tabac, mauvaise hygiène bucco-dentaire...), les bactéries opportunistes telle *Streptococcus mutans* deviennent pathogènes et génèrent des lésions dentaires et gingivales.

Afin de mieux comprendre ce phénomène, C.M. Bollen *et al.* (1) ont étudié l'adhésion et la colonisation bactérienne sur différents matériaux au travers d'une revue de la littérature scientifique. Ils mirent en évidence la corrélation positive entre l'état de surface des matériaux (et plus particulièrement la rugosité) et la proportion de bactéries adhérentes. Ainsi, la rugosité, l'énergie libre ou encore la chimie de surface sont autant de paramètres à maîtriser pour tenter de limiter la formation des biofilms.

Un large panel de composites est actuellement proposé aux chirurgiens-dentistes, afin de répondre à la majorité des situations cliniques. Constitués d'une matrice organique et de particules de charges, leurs proportions et tailles varient grandement selon leur technique de fabrication. Par ailleurs, l'étape terminale de polissage, indispensable lors de la réalisation d'une restauration, modifie les propriétés de surface du composite en retirant

la couche superficielle de ce dernier. Ainsi la composition des résines composites et la procédure de polissage ont un impact réel sur la formation des biofilms.

L'objectif de cette thèse est de préciser le lien possible entre la rugosité de surface de différents polymères dentaires modernes et sa propension à fixer et développer un biofilm. Elle sera composée de plusieurs chapitres, dont les premiers sur l'état de l'art des résines composites et sur leurs systèmes de polissage. Puis, le phénomène d'adhésion bactérienne et la formation des biofilms seront décrits afin de comprendre l'apparition de la plaque dentaire. Enfin, une étude *in-vitro* menée en partenariat avec l'Institut Charles Sadron (CNRS, UPR 22) et l'Institut de Science des Matériaux (CNRS, Mulhouse) tentera de répondre à la problématique de cette étude. Plusieurs polymères de composition différentes sont inclus dans l'étude afin de représenter les diverses stratégies disponibles à ce jour (microcharges, hybrides et nanocharges). De même, différents systèmes de polissage sont utilisés afin de tester l'hypothèse selon laquelle, l'adhésion de *S.mutans* diffère en fonction de la composition des résines composites et de leur polissage.

I. Les résines composites

Les composites (utilisés en technique directe), développés en 1962 par R.L. Bowen, sont des matériaux de restauration coronaire employés en odontologie conservatrice. Grâce à leurs propriétés physico-chimiques, esthétiques, adhésives et de biocompatibilité, ils représentent une alternative intéressante aux amalgames dentaires.

Ces résines composites, comme leur nom l'indique, sont composées de plusieurs matériaux de nature ou d'origine différente, et dont les caractéristiques mécaniques sont supérieures à celles des composants isolés. Ainsi, les composites à usage dentaire sont constitués d'une matrice résineuse organique et de charges de renfort. La cohésion entre ces deux éléments est assurée par un agent de couplage appelé silane (figure 1) (2).

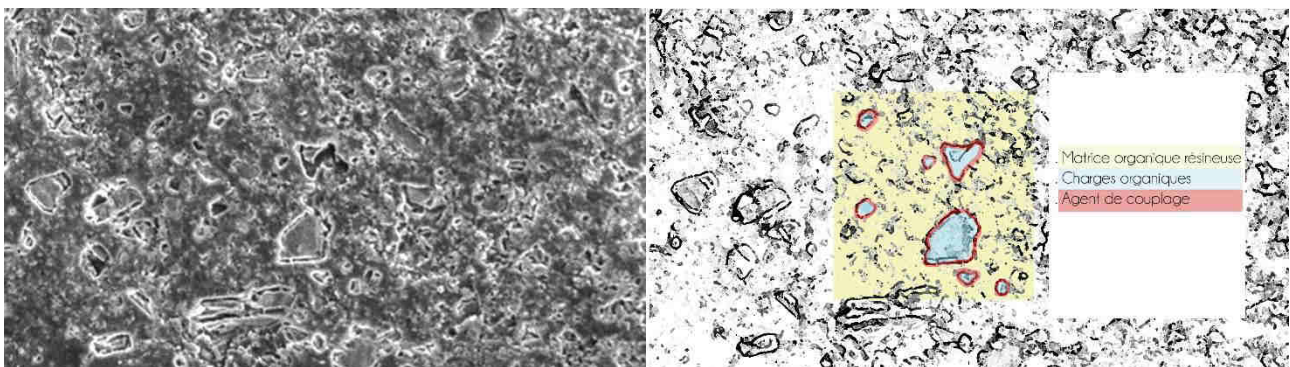


FIGURE 1 : COMPOSITION D'UNE RESINE COMPOSITE (IMAGE PAR MEB EXTRAITE DE « RESTAURATIONS ESTHETIQUES EN CERAMIQUE COLLEE », O.ETIENNE, 2017)

A. La phase organique

Selon le type de composite, la phase organique représente 25 à 50 % du volume total, et comprend : la résine matricielle, les contrôleurs de viscosité, les agents de polymérisation, les inhibiteurs de prise et les pigments (3).

1. La résine matricielle

La matrice résineuse est le composant chimiquement actif du composite. Elle est constituée de monomères fluides de « R-diméthacrylates » formant un polymère rigide après polymérisation. Il existe actuellement plusieurs types de monomères utilisés dans les composites commercialisés.

Parmi ces monomères, le diméthacrylate glycidique de bisphénol A (Bis-GMA) est le plus fréquemment utilisé par les fabricants. Il est obtenu par la réaction entre le bisphénol A et un méthacrylate de glycidyl (figure 2) (3). Il présente d'excellentes propriétés mécaniques, une polymérisation rapide ainsi qu'une rétraction de prise acceptable. Néanmoins, l'un de ses principaux défauts est son faible taux de conversion des monomères. En effet il subsiste, après polymérisation, une quantité importante de monomères non liés qui peuvent être libérés dans la cavité buccale au cours du temps. Ceci induit une diminution de la biocompatibilité du composite (4). Récemment, des dérivés du Bis-GMA (Bis-EMA, Bis-MA et Bis-PMA) ont été élaborés afin de réduire l'absorption d'eau et la sensibilité à l'humidité des composites (3).

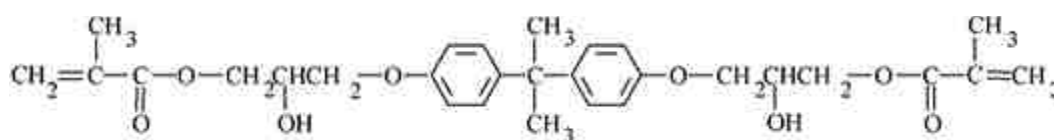


FIGURE 2 : FORMULE DEVELOPPEE DU BIS-GMA

Le diméthacrylate d'uréthane (UDMA) (figure 3) est un autre type monomère utilisé séparément ou en association avec le Bis-GMA. Son principal avantage, face au Bis-GMA, est sa faible viscosité permettant d'incorporer moins de diluants et plus de charges dans la résine composite. Cependant sa rétraction de prise, supérieure à celle du Bis-GMA, représente un inconvénient majeur (3).

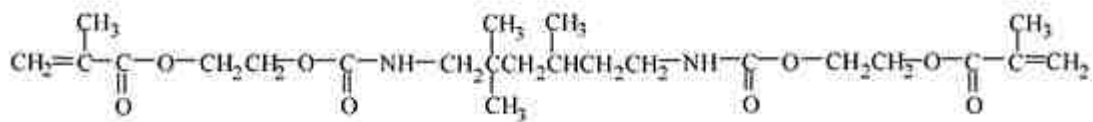


FIGURE 3 : FORMULE DEVELOPPEE DE L'UDMA

Outre le Bis-GMA et l'UDMA, le decanediol diméthacrylate (D₃MA) est également un diméthacrylate fréquemment utilisé (5). Ces trois monomères constituent la matrice résineuse de la majorité des composites. Ils influencent la viscosité, l'absorption hydrique, les propriétés mécaniques, la polymérisation et la rétraction de prise du matériau (3-5). Grâce aux progrès scientifiques, de nouveaux monomères ont été développés afin d'améliorer les performances tout en réduisant les inconvénients liés aux monomères traditionnels. Ce sont par exemple des dérivés du Bis-GMA et de l'UDMA, ou encore des monomères à polymérisation cyclique, telles que les résines à base de silorane. Ces derniers se distinguent des monomères classiques par leur processus chimique de polymérisation qui est profondément différent (3, 4, 6). Hormis les siloranes, la plupart de ces nouveaux monomères sont encore au stade expérimental.

2. Les contrôleurs de viscosité

Les monomères de Bis-GMA et d'UDMA, en raison de leur poids moléculaire élevé, ont une viscosité importante. Par ailleurs, l'adjonction de charges augmente encore cette viscosité, aboutissant à un composite inutilisable en clinique (3). Les contrôleurs de viscosité (ou diluants) interviennent afin de répondre à cette problématique. Ce sont des monomères de faible viscosité :

- MMA : méthacrylate de méthyle
- EGDMA : éthylène glycol diméthacrylate
- DEGDMA: diéthylène glycol diméthacrylate
- TEGDMA : triéthylène glycol diméthacrylate

Le TEGDMA est le diluant le plus couramment utilisé dans les composites commercialisés. Il diminue la viscosité, augmente le taux de conversion mais également la contraction de polymérisation (3, 4) et l'absorption d'eau (3, 4, 7). Il est aussi potentiellement toxique et diminue la biocompatibilité de la résine composite (3, 6, 8).

Des travaux de recherche scientifique ont été menés afin de développer de nouveaux monomères de faible viscosité. Ce sont des analogues plus hydrophobes du Bis-GMA, comme le CH₃Bis-GMA (hydroxyl-free propoxylated Bis-GMA) ou le CF₃Bis-GMA (propoxylated fluorinated Bis-GMA) (7). La seconde alternative est l'adjonction d'additifs aux monomères de Bis-GMA afin de diminuer la viscosité de la résine composite (7).

3. Les agents de polymérisation

La polymérisation est le processus permettant la transformation des monomères en un polymère solide. La chémo-polymérisation est une polymérisation chimique tandis que la photopolymérisation est initiée par la lumière visible ou par UV. Dans le cas de la photopolymérisation, les photons émis par une lampe à photopolymériser agissent sur un photoamorceur qui libère des radicaux libres. Ces radicaux libres ouvrent par la suite les doubles liaisons carbones des monomères, permettant ainsi leur addition et l'allongement du polymère. Dans les systèmes utilisant la lumière visible, le photoamorceur est généralement une dicétone comme la camphiroquinone utilisée en association avec une amine telle que le DMAEMA (N,N diméthyl-aminoéthyl-méthacrylate) (3, 4). A nouveau, ces photoamorceurs classiques sont aujourd'hui partiellement remplacés ou complétés par de nouvelles molécules (ex : Ivocerine).

4. Les inhibiteurs de prise

Dans certaines conditions de stockage (chaleur et lumière), les monomères de diméthacrylate peuvent polymériser spontanément. L'adjonction de dérivés de phénol

permet d'inhiber ce phénomène. Les inhibiteurs les plus utilisés sont le butylhydroxytoluène (BHT) et l'hydroquinone monométhylque d'éther (MEHQ) (3, 4).

Par ailleurs, l'oxygène est également un puissant inhibiteur de prise. Lors de la polymérisation, l'oxygène réagit avec les radicaux libres présents à la surface de la résine créant une couche de monomères libres à la surface du matériau. Cette couche inhibée par l'oxygène, d'une épaisseur de 10 à 200 μm , est retirée lors du polissage de la restauration (3, 9).

B. La phase inorganique

La phase inorganique du matériau est constituée par les charges. Elles assurent la radio-opacité et influencent directement les propriétés physico-mécaniques du composite (3, 5) :

- la résistance à la fracture,
- la résistance à l'usure,
- le module d'élasticité,
- la dureté.

Ces propriétés varient selon la nature des charges, mais aussi en fonction de la taille des particules et de leur pourcentage dans le matériau (10).

1. Nature des charges

Les charges varient d'un composite à l'autre mais sont essentiellement composées de métaux et de silice sous différentes formes : quartz, verre, céramique ou particules de silice amorphe.

a) Les charges minérales ou inorganiques

Fréquemment utilisées, ces charges sont formées de dioxyde de silice pyrogénique (SiO_2) et de verres de métaux lourds.

La silice peut être utilisée sous ses formes cristallines (cristobalite, tridymite, quartz) ou non cristalline (verre) (3). Les formes cristallines sont résistantes mais présentent l'inconvénient d'être dures. Parmi celles-ci, le quartz a été la forme la plus utilisée en raison de sa stabilité chimique mais sa structure cristalline le rend abrasif et difficile à polir (7). Aujourd'hui, le quartz est remplacé en grande partie par des particules de silice amorphe. Celles-ci sont moins dures et favorisent un meilleur polissage ainsi qu'une moindre usure des dents antagonistes (2).

Les verres de métaux lourds, quant à eux, confèrent au composite sa radio-opacité. On retrouve parmi eux les verres de baryum, strontium, de zirconium, ainsi que l'ytterbium trifluoré (2).

b) Les charges organiques

Les charges organiques ou charges pré-polymérisées sont constituées de matrice polymérisée (5 à 50 μm) enrobant une particule colloïdale de silice (2). Les particules de silice amorphe, d'un diamètre d'environ 0,04 μm , sont fabriquées par des processus chimiques tels que la pyrolyse. En raison de leur petite taille, ces particules de silice pyrogénique offrent une grande surface de contact (toutes ensemble), dite surface spécifique, provoquant une agglomération des particules et, par conséquent, une augmentation de la viscosité du composite (2). Ce phénomène est accentué par le processus de pyrolyse qui favorise également l'agglomération des particules (2, 5).

Afin d'augmenter la quantité de charges et diminuer la viscosité du composite, des particules pré-polymérisées ont été élaborées. Elles sont conçues à partir de résine hautement chargée par des particules de silice amorphe et jusqu'à 70% en poids. Ces particules sont au préalable silanisées puis additionnées aux monomères à haute température. Ceci induit la polymérisation d'une résine à forte viscosité. L'ensemble est pulvérisé afin d'obtenir une poudre dont le diamètre des particules est de 5 à 50 μm (2).

Ces particules ou pré-polymères sont ensuite utilisées comme charges organiques dans le composite final, qui contient parallèlement des particules de silice pyrogénique mais à un pourcentage inférieur.

2. Pourcentage de charge en poids ou en volume

L'un des principaux objectifs est d'obtenir un matériau performant et d'une faible viscosité permettant sa manipulation en clinique. En ce sens, l'incorporation de charges permet de renforcer le composite et de diminuer la fraction de résine matricielle qui altère les performances du matériau. Pour un volume de charge supérieur à 55-60 %, une amélioration des propriétés physiques et mécaniques du composite est observée : augmentation de la résistance à la fracture, à l'usure, à la compression, du module d'élasticité et de la dureté. Parallèlement, la diminution de la phase organique provoque une augmentation de la stabilité dimensionnelle du matériau, c'est à dire une diminution de la rétraction de prise et du coefficient d'expansion thermique ainsi qu'une absorption d'eau moindre (2, 3, 11). Lorsque le volume de la phase inorganique représente 70% du composite, la résistance à l'abrasion et à la fracture sont proches de celles de la dent naturelle (2).

L'objectif, afin d'améliorer les performances et la durabilité du matériau, est donc l'augmentation du pourcentage en charge grâce à la diminution de la taille des particules et à leur distribution.

3. Taille et morphologie des charges

Grâce à l'évolution des procédés de fabrication, les composites dentaires sont aujourd'hui hautement chargés en particules de petites dimensions. La diminution de la taille des particules améliore l'esthétique des résines composites, mais également leur état de surface et leur polissage. Parallèlement, elle diminue l'agressivité du matériau vis-à-vis des dents antagonistes et améliore sa résistance à l'usure (2, 3, 11).

La distribution des particules permet, quant à elle, d'augmenter le pourcentage de charges dans le composite. Elle dépend avant tout de la taille et de la forme de ces particules. En effet, si toutes les charges sont de taille uniforme, des espaces persisteront entre elles. En revanche, la combinaison de particules sphériques de différents diamètres permet un emboîtement maximal (2, 11). La forme des particules tend à être de plus en plus sphérique avec l'évolution des composites, mais on trouve encore des particules anguleuses. La taille des particules peut varier de 2 nm à 100 µm, ce qui nécessite de les distinguer en :

- macrocharges : grosses particules de verre ou de quartz,
- charges intermédiaires obtenues par fragmentation des macrocharges,
- microcharges : particules de silice d'environ 0,4 µm,
- nanocharges : particules de 2 à 70 nm.

a) Les macrocharges

Ce sont historiquement les premières charges utilisées dans les composites dentaires. De nature exclusivement minérale, la taille des macrocharges est comprise entre 0,1 et 100 µm. Celle-ci, bien supérieure à la longueur d'onde de la lumière visible, ne permet pas d'obtenir une surface lisse et brillante. Des techniques ont été développées afin de mieux fractionner les macrocharges, et leur taille s'est rapprochée de celle des microcharges. Elles ont été appelées midi- (1-10 µm) et mini- (0,1-1 µm) particules (3).

b) Les microcharges

Introduites afin d'améliorer l'esthétique des restaurations en composite, les microcharges se différencient des macrocharges par la réduction de leur taille. Elles sont toutes composées de particules de silice amorphe (SiO_2) et s'organisent en complexes de microcharges afin de diminuer la viscosité de la résine (2, 3, 5). Ce sont des charges organiques (ou charges pré-polymérisées) et des complexes de microcharges

agglomérées. Ces derniers sont fabriqués par simple agglomération ou par assemblage thermique (appelé sintérisation) des particules de silice pyrogénique de 0,04 µm. Le chauffage des particules, jusqu'à leur point de fusion, provoque leur agglomération en amas de 1 à 25 µm (3, 12). L'adhésion entre les particules est légère et leur permet d'être arrachées séparément les unes des autres lors des phénomènes d'abrasion ou de polissage (3).

C. Classification des résines composites

Suite à l'évolution constante de la composition et du mode de fabrication des résines composites, différentes classifications ont été proposées selon les caractéristiques des composites dentaires. La classification la plus répandue, introduite par Lutz et Phillips en 1983, est basée sur la taille et le type des charges contenues dans les matériaux.

1. Les composites macrochargés

Les composites macrochargés, ou traditionnels, furent les premiers composites commercialisés à la fin des années 1960. Ils se présentaient sous la forme de deux pâtes dont le mélange en quantité égale provoquait leur chémostaturation. Leur matrice composée de monomères de Bis-GMA était associée à des macrocharges de verre, quartz ou céramique dont la taille moyenne était de 30 à 40 µm (3, 5). En raison de la nature et de la taille élevée des particules, ils présentaient de nombreux inconvénients malgré de bonnes propriétés mécaniques : usure rapide, état de surface rugueux, agressivité pour les dents antagonistes (3, 5, 12).

2. Les composites microchargés

Les composites microchargés sont apparus dans les années 1970 afin de pallier les déficits de l'état de surface des composites traditionnels. Ils sont exclusivement composés

de microcharges et se divisent en deux catégories : les composites microchargés homogènes et les composites microchargés hétérogènes.

Les composites microchargés homogènes sont exclusivement constitués de microcharges de silice amorphe ($0,04\mu\text{m}$). Or, l'incorporation de particules de silice pyrogénique augmente considérablement la viscosité du composite et le rend trop épais pour une utilisation en clinique. De plus, l'uniformité de la taille des particules réduit le pourcentage en charges et, par conséquent, les propriétés mécaniques (3, 12).

Afin de résoudre cette problématique, les composites microchargés hétérogènes ont été conçus dans un deuxième temps. Leur phase inorganique est constituée par des complexes de microcharges associés ou non à des particules de silice amorphe (3, 12). Ces composites ont une phase inorganique pouvant atteindre 80% en poids et 60% en volume (figure 4) (2). La réduction de la taille des particules améliore l'esthétique et l'état de surface des composites comparativement aux composites macrochargés.

3. Les composites hybrides

Dernière génération de composites créée dans les années 1980, les composites hybrides regroupent des charges de différentes tailles (des macrocharges aux microcharges) et de différentes natures. Leurs formes sont plus arrondies, leur organisation plus précise et leur pourcentage est augmentée jusqu'à 80 % en poids (ou 70 % en volume) (figure 4) (3). La phase inorganique se décompose par 70-80% en poids de macrocharges et 20-30% en poids de microcharges (5). Cette organisation permet d'allier les avantages des macrocharges (propriétés mécaniques) et des microcharges (amélioration de l'état de surface et de la résistance à l'usure). Au sein de cette famille, différentes sortes de composites hybrides sont distingués selon la taille moyenne de leurs plus grandes particules (macrocharges) :

- les composites hybrides à macroparticules : macrocharges de 10 à $100\mu\text{m}$
- les composites hybrides à midiparticules : macrocharges de 1 à $10\mu\text{m}$

- les composites hybrides à miniparticules ou microhybrides : macrocharges inférieures à 1 μm .

Les composites microhybrides associent d'excellentes propriétés mécaniques et esthétiques. Grâce à la réduction de la taille des particules et à leur distribution, l'état de surface obtenu est proche de celui des composites microchargés. Ces composites sont encore appelés « universels » car leurs avantages permettent de les utiliser dans les régions antérieures et postérieures (3). Ce sont les composites les plus représentés sur le marché.

De nouveaux composites sont apparus dans cette famille au cours des dernières années. Il s'agit des composites hybrides nanochargés dont la taille des particules est inférieure à 100 nm. Les composites microhybrides nanochargés résultent de l'incorporation de particules issues de la nanotechnologie dans leur phase inorganique. Cette sous-famille regroupe des composites très divers mais avec un point commun : une amélioration des propriétés physiques et mécaniques grâce à une augmentation du pourcentage de charges et une diminution de la taille des particules de charge.

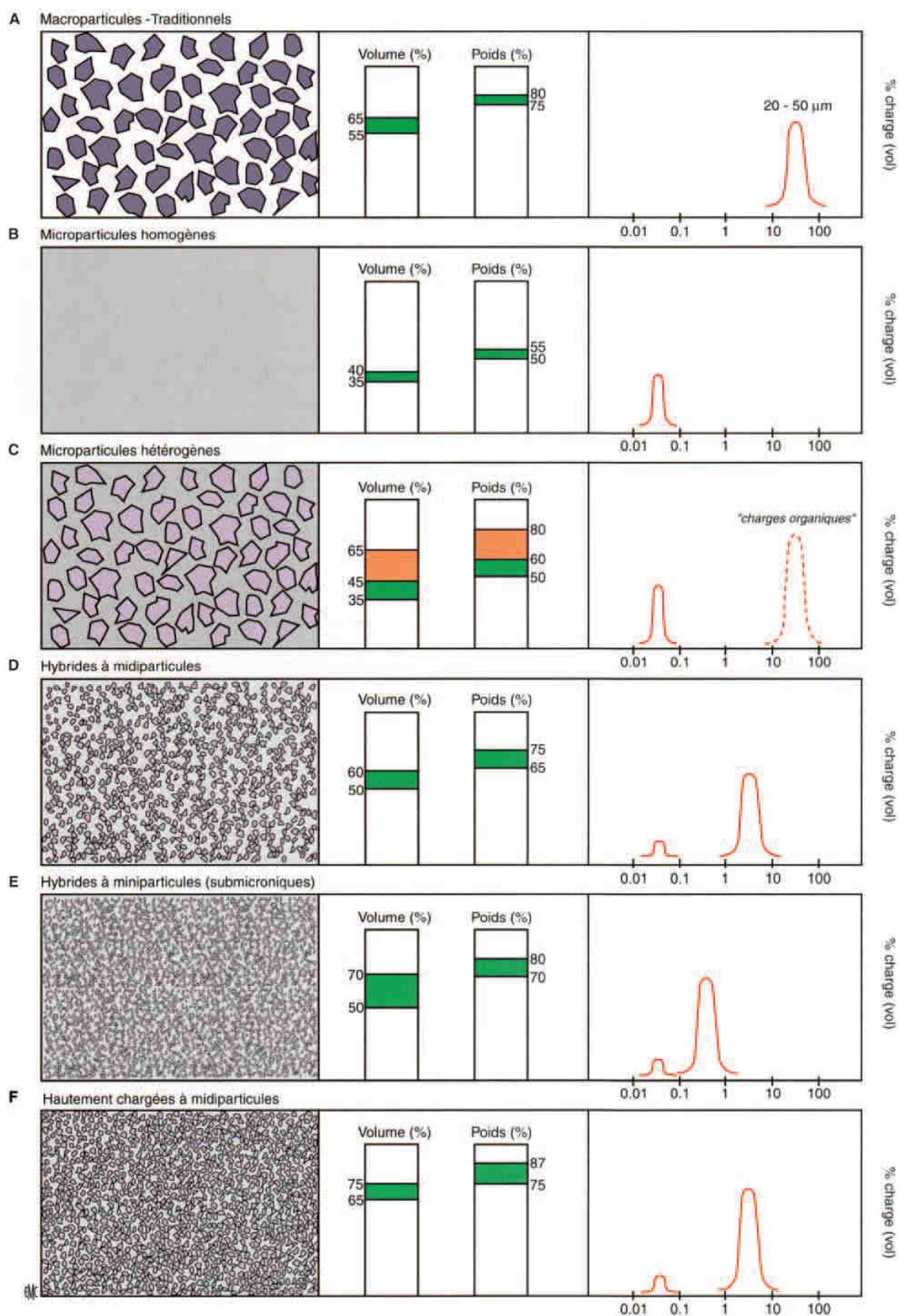


FIGURE 4 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES PRINCIPALES CLASSES DE COMPOSITES. AU CENTRE, LE POURCENTAGE DE CHARGES. A DROITE, LA DISTRIBUTION DES TAILLES DES CHARGES (EN μm) (VREVEN J. ET AL., 2005)

D. Apport de la nanotechnologie dans les composites dentaires

La nanotechnologie regroupe l'ensemble des études et techniques permettant la fabrication d'objets à l'échelle du nanomètre. L'application de ces techniques aux matériaux dentaires a pour objectif d'améliorer l'ensemble de leurs propriétés. Le terme « nanocomposites » est utilisé afin de désigner ces nouveaux composites en raison de leur phase inorganique dont les particules, appelées nanocharges, ont une taille inférieure à 100nm.

1. Processus de fabrication

Les techniques habituellement utilisées dans la fabrication de charges conventionnelles produisent des particules de différentes tailles avec des contours plus ou moins irréguliers. La nanotechnologie, grâce à des procédés essentiellement chimiques, a permis de pallier ces défauts afin de créer des particules non seulement de taille inférieure à 100 nm mais également régulières et presque sphériques (2, 3, 11). Les nanocharges à usage dentaire sont synthétisées par des procédés sol-gels ou par la technologie des flammes (pyrolyse en flamme et pyrolyse en flamme par pulvérisation) (5, 10).

Le procédé sol-gel (ou solution-gélification) permet la synthèse de nanocharges grâce à une succession d'hydrolyses et de condensations de composés précurseurs sans recourir à la fusion. Ces réactions chimiques simples sont déclenchées lorsque des précurseurs, tels les alcoxydes de silicium, sont mis en présence d'eau et à une température proche de la température ambiante. Ceci entraîne leur hydrolyse en groupements alcoyles puis à la condensation des produits hydrolysés. Il s'agit d'une polymérisation minérale menant à la gélification des particules colloïdales de silice. Ces gels sont ensuite séchés par chauffage « doux », qui autorise la combinaison de molécules organiques (monomères ou polymères) au minéral par des liaisons faibles ou fortes et l'obtention de monomères organo-minéraux. Ce procédé sol-gel permet donc la production de différents types de charges tels que des nanoparticules de silice, zircone ou d'oxydes mixtes mais également des matériaux hybrides organo-minéraux (5, 13).

2. Nature des nanocharges

a) Charges minérales

Les nanoparticules de silice sont généralement synthétisées par un processus sol-gel particulier, nommé méthode de Stöber. Dans ce processus, le tétraéthylorthosilicate (TEOS) est hydrolysé et condensé dans un solvant comme du méthanol et par une base catalytique telle que l'hydroxyde d'ammonium. D'après l'étude menée par JW Kim *et al* (14), la variation de la concentration des éléments intervenant dans cette réaction, ainsi que leur nature, influencent la taille des nanoparticules obtenues. Il est donc possible de produire des nanoparticules de silice discrètes, monodispersées et sphériques d'un diamètre de 5 à 450 nm (10, 14). D'autre part, les nanoparticules possèdent une grande énergie de surface responsable de leur agglomération ou de la création de liaisons fortes avec d'autres matériaux. Ainsi, une modification de la surface des particules par adjonction de nouvelles fonctions maintient leur dispersion et empêche leur agglomération (15). La surface de ces nanoparticules est donc silanisée à l'aide d'un silane polymérisable afin de maintenir une faible viscosité.

Les métaux lourds, quant à eux, assurent la radio-opacité du composite. Ils sont fabriqués sous forme de nanoparticules d'oxydes mixtes grâce au procédé sol-gel combinant la silice avec un oxyde métallique. Ce sont par exemple des oxydes mixtes de zircone, de titane et de barium associés à la silice (5). Des nanoparticules de zircone pures sont également concevables. Elles sont fabriquées par procédé sol-gel à partir du propoxyde de zirconium. La stabilisation et la modification de leur surface sont plus compliquées que dans le cas de la silice (11).

b) Matériaux hybrides organo-minéraux

Les matériaux hybrides organo-minéraux sont obtenus, comme décrit précédemment, à partir du procédé sol-gel. Ils résultent de la combinaison de précurseurs à base d'alkyldiéthoxysilanes ou d'alcoxydes métalliques à des monomères classiques

comme le TEGDMA. Les particules de taille nanométrique ont une surface spécifique importante, ce qui provoque une augmentation de la viscosité du composite. De plus, la silanisation de ces petites particules n'est jamais complète et provoque une diminution des propriétés mécaniques. A l'image des complexes de microcharges, les matériaux hybrides organo-minéraux peuvent être utilisés comme charge dans les composites afin de réduire leur viscosité. En effet, ils possèdent d'emblée des silanes, incorporés grâce aux précurseurs, et ne nécessitent pas de traitement de surface supplémentaire. Les nanocomposites contenant cette nanotechnologie peuvent être chargés jusqu'à 95% en poids et présentent une faible rétraction de prise. Ces matériaux peuvent être représentés soit par la matrice organo-minérale soit par les charges organo-minérales. Les Ormorcers (Organically Modified Ceramic) résultent de ce type de nanotechnologie. (3, 5)

3. Composites issus de la nanotechnologie

De nombreux fabricants font aujourd'hui appel à la nanotechnologie afin de créer des composites dentaires novateurs aux propriétés performantes. La diversité des techniques et des composés disponibles a entraîné l'apparition de composites très variés au sein de cette même catégorie. Il n'existe à l'heure actuelle aucune classification dans la littérature scientifique répertoriant les nanocomposites. J.Vreven *et al.* (3) proposent cependant différentes catégories de nanocomposites selon leur composition :

- les composites nanochargés
- les composites nanohybrides
- les composites nanohybrides complexes

a) Les composites nanochargés

A l'image des composites microchargés, seuls les composites nanochargés hétérogènes sont actuellement commercialisés. Ces matériaux possèdent une structure comparable aux composites microchargés tout en alliant les propriétés mécaniques des

composites hybrides (2). Leur phase inorganique est exclusivement chargée de nanoparticules isolées et agglomérées.

Les particules isolées, encore appelées nanomères, sont des nanoparticules discrètes de silice ou zircone monodispersées, non-agglomérées et non-agrégées. Elles sont arrondies avec un diamètre de 20 nm (2).

Les agglomérats de nanoparticules, appelés « nanoclusters », ont une taille de 0,6 μm (2, 3, 10, 16). Il existe deux types de nanoclusters (16) :

- ceux composés de nanoparticules primaires de zircone-silice mesurant 2 à 20nm,
- ceux composés de particules primaires de silice de 75 nm de diamètre.

Les nanocharges sont directement combinées à la résine matricielle. Grâce à leur faible viscosité, elles peuvent être incorporées en plus grande quantité dans la résine (78,5 % en poids – 58-60 % en volume) (2, 3). Le pourcentage en charge du composite varie selon les monomères utilisés et le traitement de surface des nanomères (5).

b) Les composites nanohybrides

La structure de certains nanocomposites s'apparente à celle des composites hybrides dont les microcharges sont remplacées par des nanocharges. Ils sont nommés nanohybrides. Toutefois d'après la classification précédente, le terme hybride ou microhybride nanochargé semble plus approprié. Les macrocharges de verre conventionnelles sont complétées par des nanoparticules dispersées de 20 à 60 nm (2, 3). Ces nanoparticules peuvent être de différentes natures notamment organiquement modifiées. Le pourcentage en charge est également augmenté comparé aux composites traditionnels.

c) Les composites nanohybrides complexes

La composition de cette catégorie de nanocomposites comprend des nanoparticules, des microcharges et des charges « organiques » de prépolymères (3, 12).

En conclusion, la nanotechnologie présente un intérêt majeur pour les composites dentaires. La réduction de la taille des particules permet l'obtention de meilleures propriétés esthétiques, d'une résistance à l'usure accrue ainsi que d'un polissage aisé. Par ailleurs l'augmentation du pourcentage en charge, grâce à la faible viscosité des nanoparticules induite par leur nature, permet de diminuer la proportion de matrice résineuse dans le composite et la rétraction de prise par extension (3, 4, 6, 10, 13, 15, 17).

E. L'agent de couplage

L'agent de couplage a un rôle fondamental car il assure l'adhésion entre les deux phases du composite. Cette liaison permet également le transfert des stress entre la matrice résineuse et les charges, tout en évitant la perte de particules à la surface de la restauration. Les agents de couplage fréquemment utilisés sont des dérivés d'organosilanes tels que le mercaptopropyle triméthoxysilane (3-MPS). Ce sont des molécules bi-fonctionnelles, possédant, à leurs extrémités, des groupes méthoxy ($-OCH_3$) et méthacryliques. En présence d'eau, les groupes méthoxy sont hydrolysés en silanol ($Si-OH$) qui à leur tour peuvent se lier à d'autres silanols présents à la surface des charges de silice. L'une des extrémités assure la formation d'une liaison siloxane ($Si-O-Si$) avec la charge inorganique, tandis qu'à l'autre extrémité, les groupes méthacryliques forment une liaison covalente avec la matrice organique lors de la polymérisation. La qualité de cette liaison influence directement les propriétés du composite : amélioration des propriétés mécaniques, de la solubilité et augmentation de la durée de vie du matériau (2, 3, 6).

F. Caractéristiques des résines composites

L'ensemble des propriétés d'une résine composite à usage dentaire résulte de la composition de ses phases organique et inorganique. Bien que la composition du matériau fournisse une première indication sur ses propriétés *in vitro* (figure 5), la corrélation avec

son comportement *in vivo* ne peut être établie avec certitude. Les performances de ces matériaux sont également praticien-dépendantes.

1. Propriétés physiques

Ces propriétés définissent la stabilité dimensionnelle du composite dont :

- la rétraction de prise,
- le coefficient d'expansion thermique,
- l'absorption d'eau.

a) La rétraction de prise

La contraction de polymérisation est l'un des principaux défauts des résines composites. Lors de la polymérisation, des tensions internes à la résine surviennent, ainsi que sur les tissus dentaires attenants (2). Celles-ci sont responsables de l'apparition d'un hiatus périphérique plus ou moins important, pouvant entraîner des douleurs post-opératoires, des discolorations et des caries secondaires (3, 6). Le taux de rétraction de prise varie entre 1,5 et 5 % en volume, en fonction (4, 16) :

- du type de résine,
- des charges,
- du volume de matériau polymérisé,
- de la forme de la cavité,
- du mode de polymérisation.

Les monomères de poids moléculaire élevé subissent une faible rétraction de prise. L'augmentation du pourcentage en charge permet également de réduire ce phénomène mais augmente parallèlement la viscosité du composite. Il est donc nécessaire

d'incorporer des monomères de faible poids moléculaire (TEGDMA par exemple) mais ils sont responsables de l'augmentation de la contraction de polymérisation (6, 14).

b) Le coefficient d'expansion thermique

L'expansion thermique est la dilatation, à pression constante, du volume d'un corps suite à son réchauffement. Le coefficient d'expansion thermique des résines composites est 3 à 4 fois plus grand que celui des tissus dentaires (3). Par conséquent, des contraintes peuvent apparaître à l'interface matériau/dent lors de variations de température et compromettre l'intégrité du joint périphérique (18). Les microfissures engendrées peuvent être responsables de sensibilités, colorations, caries secondaires voire d'atteintes pulpaires (18). La valeur idéale du coefficient d'expansion thermique doit être proche de celle de la dent naturelle soit 10 ppmK^{-1} (11,4 pour l'émail et 8,3 pour la dentine) (3). Dans le cas des résines composites, cette valeur dépend principalement de la teneur en charge et de la structure chimique de la matrice organique (18).

c) L'absorption d'eau

Les composites absorbent environ 2 % en poids d'eau ou plus selon le type de matériaux (3). C'est un processus progressif qui dépend de la teneur en charges du composite (3), du caractère hydrophile des monomères et de leur degré de conversion (19), car l'eau s'infiltre dans le polymère. L'absorption d'eau est supérieure pour les composites à faible concentration en charges et à faible degré de conversion (3, 19). Ce phénomène provoque une expansion du matériau qui peut éventuellement compenser la rétraction de prise. Cependant celle-ci se fait progressivement et ne réhabilite pas l'intégrité du joint périphérique. Ce processus implique également la possibilité d'absorption de liquides colorés qui marquent le composite.

2. Propriétés mécaniques

a) Résistance à la compression

Les tests de résistance à la compression sont réalisés en exerçant des forces de compression sur les faces opposées du composite. Celles-ci sont supposées refléter les forces de mastication, mais les résultats obtenus *in-vitro* ne sont pas superposables au comportement clinique des matériaux. La résistance à la compression des composites se rapproche de celle de la dent naturelle soit 300 à 400 MPa (3, 20). Elle est influencée positivement par la taille et la teneur en particules de charge des composites dentaires (20) Ainsi, les composites hybrides ont une meilleure résistance à la compression que les composites macrochargés et microchargés, en particulier lorsqu'ils sont pourvus de nanoparticules (3, 20).

b) La ténacité ou résistance à la fissuration

La ténacité est une propriété intrinsèque au composite. Elle désigne sa résistance à s'opposer à la propagation des craquelures. Cette notion est importante car la présence d'une fêlure affecte la résistance à l'usure du matériau. La résistance à la fissuration des résines composites dépend, d'une part, de l'agent de couplage et de sa capacité à transférer les stress de la matrice organique aux particules de charge plus dures, et d'autre part de la teneur en charge du composite (21, 22). L'augmentation de la proportion de charge dans les matériaux améliore leur résistance à la fissuration.

c) Le module d'Young ou module d'élasticité

Le module d'élasticité E, ou module d'Young, caractérise la rigidité du matériau de restauration. Lorsque le module d'Young augmente, le matériau est plus rigide. Cette information permet d'évaluer le seuil à partir duquel le matériau est déformé, d'abord réversiblement puis irréversiblement selon un mode visco-élastique. La valeur du module d'élasticité doit être proche de celle de la dent naturelle, afin de supporter les forces

occlusales sans fracture ni déformation. Le type de résine (6, 19) mais aussi la taille, l'organisation et la concentration des charges (21) influencent l'élasticité des composites. Ainsi, le module d'élasticité des composites hybrides est supérieur à celui des microchargés car leur taux de charge en poids est significativement plus élevé. L'incorporation de nanoparticules améliore également les performances de ces matériaux (6). Par ailleurs, le Bis-GMA est le monomère présentant les meilleurs résultats de résistance à la flexion (6).

d) La dureté

La dureté définit la résistance à la pénétration ou la déformation permanente d'un matériau par unité de surface. Le test de dureté est un moyen d'évaluer la conversion des monomères (3). La dureté reflète la facilité de polissage et sa résistance à l'abrasion : les matériaux durs sont plus difficiles à polir (19). Cette propriété mécanique varie en fonction des monomères utilisés et de leur degré de conversion, ainsi que de la morphologie et du pourcentage des charges (plus le matériau est chargé, plus la dureté est élevée) (3, 19).

e) La résistance à l'usure

La cavité buccale est un système très complexe regroupant de nombreux facteurs responsables de l'usure des matériaux de restauration. Bien que le processus déterminant de l'usure ne soit pas connu, certains facteurs semblent tout de même influencer ce phénomène (2, 3) :

- les liquides buccaux,
- le pouvoir abrasif des aliments,
- les variations de température,
- les forces cycliques de mastication,
- le brossage (dentifrice et poils des brosses-à-dents),

- le bruxisme.

La complexité de l'environnement buccal limite la concordance des tests *in-vitro* et *in-vivo*. Il existe plusieurs types d'usure selon le mode de dégradation : par abrasion, érosion, corrosion ou fatigue. Ce phénomène varie également en fonction de sa localisation :

- les zones occlusales sans contact (CFOA : Contact Free Occlusal Area) : dégradation liée à la friction des aliments, aux poils de brosse-à-dent et dentifrice,
- les zones fonctionnelles de contact (FOCA : Functional Occlusal Contact Area) : dégradation liée à la mastication,
- les zones de contact proximal (PCA : Proximal Contact Area) : dégradation liée aux mouvements dentaires permis par le ligament parodontal.

La dimension et la localisation de la restauration influencent également sa pérennité. L'usure est supérieure dans les secteurs molaires ainsi que dans les restaurations de taille volumineuse. Une augmentation du pourcentage en charge corrélée à une diminution de la taille des particules améliore également la résistance du composite face à l'usure (2, 6).

3. Propriétés biologiques

a) La biocompatibilité

La biocompatibilité est la capacité d'un matériau à ne pas interférer ni dégrader l'environnement biologique dans lequel il est employé. Les résines composites sont des matériaux biocompatibles, encore appelés biomatériaux, ayant une cytotoxicité modérée (23). Celle-ci résulte du relargage de composés organiques et inorganiques suite à la dégradation du matériau par usure ou par une polymérisation incomplète (8).

Les composés organiques libérés sont des monomères ou oligomères non liés au sein du matériau. La biocompatibilité dépend donc de la qualité de la photopolymérisation (temps de polymérisation, lampe à photopolymériser, distance de polymérisation) mais

aussi du type de résine employée (23). Les composites contenant du Bis-GMA sont plus toxiques que ceux contenant de l'UDMA car le Bis-phénol A, issu de la dégradation du Bis-GMA, est un agoniste des récepteurs oestrogéniques (2, 8, 23). Le Bis-phénol A peut donc être responsable de perturbations endocrinienne (2, 8). Le TEGDMA, quant à lui, est hydrophile et interfère avec les tissus de la cavité orale (8). Sa cytotoxicité est d'autant plus importante qu'il est présent en grande quantité dans les composites dentaires.

Parmi les composés inorganiques, des ions (strontium, aluminium ou fluorure) et des particules inorganiques sont libérés (8). Des réactions allergiques telles que des dermatites de contact ou des hypersensibilités (2, 23) ont été attribuées aux composites, mais il existe encore peu de connaissances sur d'autres effets *in-vivo* du relargage de composés organiques et inorganiques dans l'environnement buccal.

b) Activité antibactérienne

L'adhésion et la croissance des bactéries à la surface des matériaux de restauration peuvent être responsables de l'apparition de caries secondaires ainsi que de maladies parodontales. De nombreuses études ont démontré que la plaque dentaire s'accumule davantage sur les résines composites en comparaison aux amalgames et ciments verre-ionomères (CVI) (24). Ce phénomène s'explique facilement car les amalgames et CVI possèdent une activité antibactérienne liée au relargage d'ions métalliques (Argent, Cuivre) ou fluorures. A l'opposé, les constituants des résines composites ne possèdent aucune activité bactériostatique ni bactéricide (24). Afin de répondre à cette problématique, certains composites possèdent aujourd'hui des agents antibactériens intégrés dans leur phase organique ou inorganique. Ceux-ci ont pour objectif d'inhiber l'accumulation de plaque dentaire à la surface et autour de la restauration. Il existe deux manières pour améliorer les propriétés antibactériennes des composite : en additionnant des substances antibactériennes à la matrice résineuse ou en les incorporant dans la phase inorganique des composites (11, 24) :

(1) Modification de la matrice résineuse

La modification de la phase organique par adjonction de composants antibactériens se fait selon deux méthodes (24) :

- par addition de substances antibactériennes solubles
- par immobilisation de composés antibactériens dans la matrice résineuse.

A l'image d'autres matériaux de restauration, les substances antibactériennes solubles sont relarguées du composite lorsque celui-ci est dans un environnement aqueux. Les agents les plus fréquemment utilisés sous forme soluble sont la chlorhexidine et les sels solubles de fluorure (NaF , SnF_2) (24, 25). Ils inhibent l'ensemble des bactéries situées à proximité de la résine composite. Bien que leur relargage soit important dans les jours suivant la pose du composite, leur concentration diminue dramatiquement au cours du temps (11, 24). Cela se traduit, à terme, par un matériau avec une structure poreuse, et dont les propriétés mécaniques sont réduites (9, 25). Ceci peut également être lié à une perturbation de la conversion des monomères par l'agent ou à une interférence au niveau de la liaison charge-matrice (24). Cette stratégie semble par conséquent plus adaptée à un matériau d'obturation provisoire.

La seconde alternative est l'immobilisation d'agents antibactériens dans le réseau matriciel. Le composé le plus prometteur est le méthacryloyloxydodecylpyridium bromide (MDPB). Composé d'un groupe méthacryl et d'un agent antibactérien qu'est le dodecylpyridium, le MDPB est capable de copolymériser avec les monomères de la résine matricielle. Il est immobilisé dans le matériau et inhibe uniquement les bactéries en contact avec la surface du matériau. Son activité est strictement bactériostatique et la formation d'une pellicule acquise à la surface du matériau réduit son efficacité (24). En revanche, l'effet antibactérien perdure dans le temps sans altérer les propriétés mécaniques des composites (26). Des fluorures peuvent également être liés à la matrice (25).

(2) Modification des charges

Les progrès technologiques, notamment la nanotechnologie, permettent aujourd'hui de combiner divers agents antibactériens aux charges des composites. Ceux-ci peuvent être directement additionnés aux charges ou associés à de la résine prépolymérisée (prepolymerized resin filler) comme le MDPB (6, 24).

Les fluorures sont fréquemment utilisés en association avec les charges car ils ont un effet protecteur contre les caries. Ils diminuent la déminéralisation des tissus dentaires,

interfèrent dans la formation de la plaque dentaire et inhibent la croissance bactérienne (25). Ils sont principalement employés sous forme de composés peu solubles, comme les fluorures de strontium (SrF_2) et les trifluorides d'ytterbium (YbF_3), ou sous forme de charge de verre lixiviable (25).

D'autres travaux sont menés sur l'utilisation de particules d'oxyde de zinc et d'argent. Ces deux éléments ont une activité antibactérienne propre (11, 27). L'oxyde de zinc prévient la production d'acides par la plaque dentaire en inhibant les bactéries qui la composent. L'argent, quant à lui, a une activité antibactérienne supérieure aux autres métaux (27). Grâce au procédé sol-gel issu de la nanotechnologie, ces particules peuvent aujourd'hui être converties en nanoparticules. L'intérêt de ce procédé est l'augmentation du ratio surface / volume des particules, provoquant une amélioration de leur effet antibactérien (24, 27).

L'utilisation d'agents antibactériens dans les composites dentaires est une solution intéressante pour améliorer les résultats cliniques. Néanmoins d'autres paramètres, liés à l'état de surface des composites, influencent directement la formation des biofilms.

II. L'adhésion bactérienne et la formation des biofilms

Étymologiquement, le préfixe « bio » vient du grec « bios » et signifie la vie tandis que « film » se traduit de l'anglais par pellicule. Un biofilm bactérien est donc une fine pellicule, adhérente à une surface dure vivante ou inerte, constituée par des bactéries et leurs sécrétions (28).

Dans la cavité buccale, l'adhésion des bactéries aux surfaces dentaires est toujours précédée par l'absorption de protéines salivaires. Ces protéines issues des aliments absorbés forment une pellicule exogène acquise (PEA) à la surface des dents et des matériaux de restauration (29, 30). Les modifications physico-chimiques des surfaces dures, provoquées par le film de conditionnement, induisent l'apparition ou la disparition de fonctions chimiques spécifiques (31). Ces fonctions constituent des sites d'adhésion à partir desquels les bactéries peuvent proliférer en biofilms, appelés « plaque dentaire » (29). La formation de ces biofilms se divise en quatre grandes étapes (31) :

- le transport des bactéries vers la surface,
- l'adhésion bactérienne,
- la prolifération et la synthèse de la matrice du biofilm,
- la maturation et le détachement.

Ce modèle peut être complexifié selon sa précision et les caractéristiques biologiques des bactéries. La description schématique (figure 5) détaille un modèle simplifié de l'adhésion bactérienne.

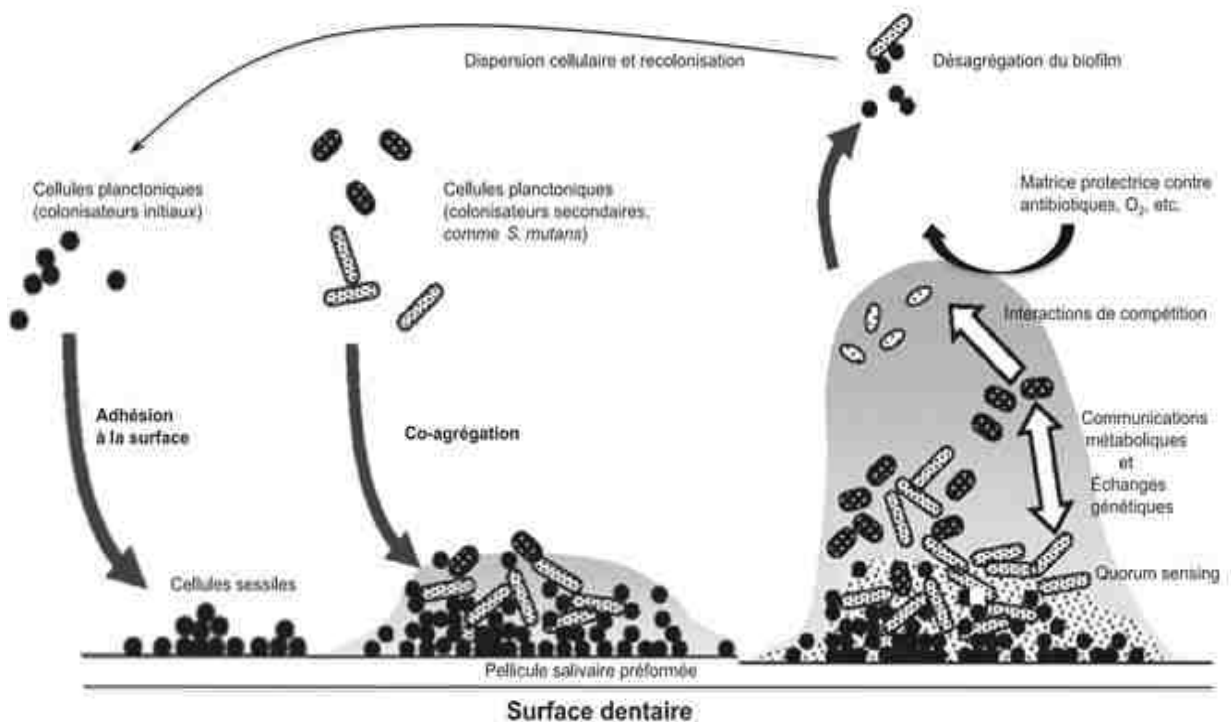


FIGURE 5 : ÉTAPES DANS LA FORMATION D'UN BIOFILM TEL QUE LA PLAQUE DENTAIRE (ADAPTEE DE G.NICOLAS ET C.LAVOIE, 2010 (32))

A. Le transport vers la surface

Les bactéries sont acheminées vers les surfaces dures de la cavité buccale par diverses stratégies, actives et passives. L'une d'entre elles, inhérente à toute particule immergée dans un liquide, correspond aux mouvements browniens (30, 33, 34). Ce sont les mouvements incessants et aléatoires des bactéries, entraînés par les chocs avec les molécules du fluide environnant. Les bactéries peuvent également être véhiculées par les flux liquidiens et salivaires vers les surfaces dentaires (33, 34). A l'opposé, certaines bactéries possèdent des organelles, telles que les flagelles, qui leur permettent de se déplacer activement (33, 35).

B. L'adhésion bactérienne initiale

L'adhésion bactérienne se décompose en deux étapes : une adhésion réversible puis irréversible des bactéries sur le substrat (31, 34). Ces mécanismes sont initiés par des forces électro-chimiques survenant entre la surface et la paroi bactérienne. La théorie DLVO (par Boris Derjaguin, Lev Landau, Evert Verwey et Theodoor Overbeek) décrit les interactions d'énergie entre une surface et une particule colloïdale (30, 31, 34). Seules les forces attractives de Van Der Waals et les forces électrostatiques sont considérées dans ce modèle, tandis qu'une extension (extended DLVO theory) comprend les forces hydrophobes en supplément (30, 31). Ces théories sont schématiques et ne correspondent pas exactement à la réalité. Les bactéries, à la différence des particules colloïdales, dispose d'une membrane souple et poreuse voire même de flagelle(s) ou pili. Par conséquent, il existe une variabilité entre les caractéristiques des particules colloïdales et celles des bactéries.

L'adhésion bactérienne est, dans un premier temps, faible et réversible. D'après la théorie DLVO, à partir d'une certaine distance (50nm) entre la bactérie et la surface, des forces attractives de Van der Waals interviennent (34). Or, les bactéries et les surfaces sont généralement chargées négativement. Par conséquent, lorsque la bactérie se rapproche de la surface grâce aux forces attractives, les forces répulsives électrostatiques augmentent parallèlement (34). Ces interactions sont faibles et provoquent dans un premier temps une adhésion réversible de la bactérie au substrat.

Un ancrage ferme se crée après adhésion irréversible des bactéries aux surfaces. Ceci se produit grâce aux forces de courte distance. Ce sont des interactions spécifiques par liaisons covalentes, hydrogènes ou ioniques (31, 34). Bien plus fortes que les interactions à longue distance, elles sont caractérisées par des liaisons de type récepteur/ligand. Ce type de liaison est assuré d'une part, par les protéines spécifiques extra-cellulaires des bactéries (adhésines) et d'autre part, par des récepteurs salivaires complémentaires de la pellicule exogène acquise absorbés à la surface des dents ou matériaux de restauration (31). Cet ancrage dépend donc de l'orientation, de la conformation et de la densité des molécules présentes à la surface (31).

C. La prolifération et la synthèse d'une matrice extracellulaire

Lorsque les bactéries pionnières ou « colonisateurs primaires » sont fermement attachés à la surface, leur prolifération peut débuter. Elle se produit par clonage des bactéries et aboutit à la formation de micro-colonies bactériennes, séparées par des canaux de circulation (32) et capables de se mouvoir pour s'étendre sur la surface (31). Dans la cavité buccale, de nombreuses espèces bactériennes coexistent. Certaines d'entre elles sont capables de se lier aux bactéries adhérentes par des phénomènes de co-aggrégation comme *Streptococcus mutans*, et forment alors un biofilm multi-espèces (32, 33). D'autre part, les bactéries secrètent des exopolysaccharides (EPS) spécifiques à chaque espèce et forment une matrice au sein du biofilm (31, 36). D'autres substances extracellulaires propres aux bactéries, dont des protéines et lipides issues du métabolisme bactérien, complexifient cette matrice. C'est un facteur de virulence important car les EPS sont insolubles et protègent les bactéries du milieu extérieur (32, 36). En somme, le biofilm possède une composition chimique spécifique et dépendante des bactéries et des conditions environnementales (29).

D. La maturation et le détachement

L'adhésion progressive de nouvelles espèces (ou « colonisateurs secondaires ») aux bactéries pionnières induit la formation de couches successives et une modification des conditions environnementales. Le taux d'oxygène diminue et ce sont les bactéries anaérobies qui se développent préférentiellement. Contrairement aux bactéries planctoniques, les bactéries présentes dans un biofilm communiquent et s'adaptent entre elles grâce à un système biochimique appelé « Quorum Sensing » (31, 34, 36). Le quorum sensing est un ensemble de mécanismes régulateurs qui contrôle l'expression de certains gènes au sein d'une population bactérienne. Il régule les fonctions physiologiques, le détachement de parts du biofilm quand il est mature, mais aussi la mort cellulaire (31). Il s'installe donc un équilibre dans le biofilm mature entre l'élimination de certaines bactéries, la prolifération d'autres et l'adhésion de nouvelles.

Malgré des caractéristiques communes, la composition et l'organisation spatiale des biofilms varient. Cette variabilité résulte des différentes espèces bactériennes présentes, mais aussi des caractéristiques environnementales et physico-chimiques de la surface sous-jacente et leur impact sur la pellicule exogène acquise.

III. État de surface des matériaux et adhésion bactérienne

La surface désigne la partie apparente d'un corps et sa couche superficielle. L'état de surface, quant à lui, est une description des propriétés géométriques et physico-chimiques d'une surface. Lors de la réalisation d'un composite dans la cavité orale, une série de réactions se produit à la surface du matériau. Des protéines spécifiques sont absorbées et forment une PEA dont la composition est influencée par la surface solide sous-jacente (34). Située à l'interface entre le corps du matériau et l'environnement extérieur, la surface des matériaux joue donc un rôle prépondérant dans la formation et le développement des biofilms.

A. Influence de la rugosité et topographie de surface

Après polymérisation et polissage, la surface des restaurations en composite n'est jamais totalement lisse. Elle présente invariablement des défauts et des irrégularités géométriques. Celles-ci sont définies par comparaison avec une ligne « moyenne » encore appelée « ligne centrale », et sont classées en deux catégories : des aspérités ou « pics », et des cavités ou « creux » (1). L'ensemble de ces reliefs constitue la rugosité de la surface.

De nombreuses études ont démontré une corrélation entre la rugosité des surfaces et le nombre de bactéries adhérentes (33, 34). En effet, une augmentation de la rugosité de surface induit une augmentation de l'adhésion bactérienne car les aires de contact entre la surface et les bactéries augmentent (31, 37, 38). Par ailleurs, l'observation de la colonisation bactérienne au microscope électronique révèle que les bactéries adhèrent préférentiellement dans les creux et non sur les pics (33, 34). Ceci leur permet d'être protégées des forces de cisaillement et d'adhérer plus facilement au substrat (33, 34). C.M.Bollen *et al.* (1) ont démontré dans une étude parue en 1997, qu'il existe un seuil de rugosité sous lequel la réduction de l'adhésion bactérienne est maximale. La valeur de ce seuil correspond à un Ra de 0,2 μm . Ra représente l'amplitude moyenne des irrégularités (pics et creux) de la surface par rapport à une ligne centrale. Toutefois d'autres études

rapportent des effets mineurs voire aucun effet de la rugosité sur l'adhésion bactérienne (31, 38-40). Ces différentes observations résultent d'une part de la variabilité des méthodes expérimentales et d'autre part des différentes espèces bactériennes et matériaux utilisés (31, 38, 39).

Néanmoins, la représentation en deux-dimensions de la géométrie de surface n'est pas suffisante pour décrire les motifs topographiques et leurs effets sur l'adhésion bactérienne. M.E.Barbour *et al.* (41) ont publié en 2007 une étude exposant des piliers implantaires en titane, polis selon deux protocoles distincts mais avec des valeurs de Ra identiques, aux bactéries *Streptococcus mutans* et *Actinomyces naeslundii*. La variabilité des résultats obtenus, en dépit de Ra similaires, démontre l'importance des caractéristiques topographiques et des bactéries employées dans le processus d'adhésion bactérienne. La morphologie, l'organisation et la taille des irrégularités de surfaces sont rarement analysées dans la littérature scientifique. C'est pourquoi, la réponse bactérienne à la microtopographie et à la nanotopographie n'est pas encore bien connue. D'autre part, certaines organisations topographiques sont également capables d'affecter la viabilité des bactéries (39). D'après plusieurs hypothèses, cette activité est causée par l'étirement de la membrane bactérienne dans les zones suspendues entre les pics jusqu'à être endommagée. En outre, d'après les travaux de N.Beyth *et al.* (42), l'attachement et la formation de biofilms bactériens à la surface des résines composites induisent des changements de surface à l'échelle nanométrique. Ce phénomène se traduit par une augmentation de la rugosité et donc par une augmentation de la colonisation bactérienne.

En somme, la réponse bactérienne à la topographie de surface dépend de :

- la morphologie et l'organisation des structures topographiques,
- la taille, la forme et l'espèce bactérienne,
- la pellicule exogène acquise à la surface des matériaux.

Ainsi il n'existe pas de rugosité optimale inhibant l'adhésion de l'ensemble des espèces bactériennes, mais une réduction de la rugosité induit une réduction générale de la colonisation bactérienne sur l'ensemble des matériaux.

B. Influence des propriétés physico-chimiques de la surface

Lorsqu'un matériau est placé dans un milieu liquide, une interface se crée entre les deux phases. Au sein de chaque phase, les atomes réagissent entre eux mais au voisinage de la surface, ils interagissent différemment avec les atomes situés de l'autre côté de la surface. Ils se trouvent alors dans un état d'énergie différent, dont la résultante est appelée énergie libre de surface (ELS). Lors de l'adhésion bactérienne initiale, l'énergie libre de surface (de la bactérie ou de son substrat) comprend les interactions de type Van Der Waals, électrostatiques ou encore acido-basiques comme décrites dans la théorie DLVO étendue. Elle détermine également la mouillabilité et l'hydrophobie des surfaces par l'étude des angles de contact entre les différentes phases.

Les forces électrostatiques sont parmi les premières à influencer l'attachement des bactéries à leur substrat (43). Elles sont liées aux structures de surface et à la force ionique du milieu (37). Généralement les bactéries sont chargées négativement à la surface de leur paroi et à pH neutre (43). Par conséquent, un matériau dont la surface est chargée positivement génère des forces électrostatiques attractives avec les bactéries et favorise ainsi leur attachement (39, 43). A l'opposé, une surface chargée négativement provoque des interactions électrostatiques de nature répulsive et limite l'adhésion bactérienne initiale. Ces forces peuvent toutefois être surpassées par les organites extracellulaires des bactéries telles que les flagelles et fimbriae (43). De plus, la présence d'une pellicule exogène acquise à la surface des matériaux induit des modifications de la chimie et de la charge de surface modifiant l'attachement des bactéries (43).

Pour ces raisons, la charge de surface ne prédétermine pas, à elle seule, la quantité de bactéries adhérentes. L'hydrophobicité d'une surface est un second paramètre décisif dans la colonisation bactérienne. Alors que certaines études se concentrent sur la résistance des surfaces à l'adhésion bactérienne selon leur hydrophobicité, d'autres s'intéressent davantage aux propriétés hydrophobes des surfaces bactériennes. D'après les résultats publiés, les bactéries aux surfaces hydrophobes préfèrent les matériaux dont la surface est également hydrophobe, et inversement (31, 37, 39, 44).

En somme, il est communément admis qu'il existe une corrélation entre l'énergie libre de surface du substrat et sa capacité à retenir la plaque. W.Teughels *et al.* (34) ont

répertorié des résultats divergents issus de plusieurs études *in-vivo* dans une publication datant de 2006. De manière générale, les surfaces à ELS élevée présentaient davantage de bactéries adhérentes que les surfaces à faible ELS. Mais l'étude de l'ELS des bactéries est également intéressante car celles-ci colonisent préférentiellement les surfaces dont l'ELS est similaire.

Pour finir, les matériaux exposent chacun différents groupements fonctionnels à leur surface. Ceux-ci appartiennent à des biomolécules immobilisées à la surface du matériau. Ils influent directement sur l'attachement et la viabilité des bactéries, en permettant ou non la formation de liaisons spécifiques par des interactions de type récepteur/ligand (31).

C. Influence des propriétés mécaniques de la surface

La relation entre les propriétés mécaniques d'un matériau et sa propension à développer un biofilm est souvent occultée au profit de la géométrie et de la chimie de surface. Il existe néanmoins une corrélation positive entre les propriétés mécaniques et l'adhésion bactérienne, comme le démontrent J.A.Lichter *et al.* (45) en comparant des surfaces de chimies et topographies similaires. Dans cette étude, les surfaces souples présentaient une diminution du nombre de bactéries adhérentes ainsi qu'une réduction de leur prolifération par rapport aux surfaces dures. Le comportement bactérien, en réponse aux propriétés mécaniques de surface, est très complexe et dépend probablement de divers paramètres mécaniques comme l'élasticité, la résistance à la compression, mais également de la pellicule exogène acquise (39, 46). L'adaptation des propriétés mécaniques d'un matériau incarne donc une autre approche permettant de contrôler l'adhésion bactérienne mais aussi la prolifération des bactéries adhérentes.

IV. Polissage des résines composites

La finition et le polissage sont deux étapes d'un même processus améliorant l'esthétique et la longévité des restaurations directes en résines composites (9). Étapes terminales du protocole clinique, ces techniques ont pour fonction de retirer les excès de matériaux et de lisser les surfaces des restaurations dentaires par des mécanismes d'usure. La majorité des systèmes de polissage font appel à la méthode d'usure par abrasion. Il s'agit d'une usure produite par le frottement de particules abrasives, appelées abrasifs, sur la surface du matériau et provoquant ainsi le retrait de petites particules de la surface. Les abrasifs à usage dentaire se décomposent en deux grandes catégories selon le type d'abrasion induit (2, 47) :

- abrasion à deux-corps (« Two-body wear ») : les particules abrasives sont directement liées à l'instrument de finition ou polissage,
- abrasion à trois-corps (« Three-body wear ») : les abrasifs sont libres et en suspension entre la surface à polir et l'instrument de polissage.

La majorité des systèmes de polissage à usage dentaire emploie des particules abrasives attachées, soit une abrasion à deux corps. Toutefois, certaines pâtes à polir sont aussi proposées pour le polissage des composites ; elles représentent le deuxième type d'usure par abrasion à trois corps.

A. Protocole de finition-polissage des résines composites

L'objectif de la finition et du polissage des restaurations en composite est l'obtention d'une rugosité de surface minimale, c'est-à-dire inférieure à 0,2 μm , et de manière progressive grâce à des instruments de granulométrie décroissante. En théorie, ce processus se divise en 3 à 4 étapes : la réduction et le modelage de la restauration, la finition puis le lustrage de la surface. Mais en pratique, ce protocole se concentre en deux grandes étapes (9, 47, 48) :

- La finition : comprend le retrait des excès de composite, notamment au niveau des limites marginales, le modelage de la forme anatomique (macrogéographie), le réglage des fonctions occlusales et le lissage des bords et des irrégularités.
- Le polissage : se déroule après les étapes de finition. C'est un procédé permettant de réduire la rugosité et les rayures induites par les outils de finition. Il permet également d'homogénéiser la surface et de la lustrer.

B. Facteurs influençant l'efficacité du polissage

La qualité du polissage de la surface d'une restauration en composite n'est jamais constante. En effet pour obtenir une restauration esthétique et prophylactique, il est important de déterminer quel système de finition-polissage est le plus adapté. Les résines composites diffèrent dans leur habileté à être polis essentiellement selon la taille et le type de particules constituant la phase inorganique (47, 48). Généralement, les composites chargés de petites particules obtiennent une meilleure finition de surface que les composites à grandes particules. En comparant la rugosité de surface de différents composites nano-hybrides, B.Patel *et al.* (49) mettent également en évidence l'influence du pourcentage de charge dans les composites. Dans cette étude, des échantillons de composites Tetric N-Ceram™ (Ivoclar Vivadent, Mumbai, India) et Filtek Z350™ (3M ESPE, St. Paul, USA) sont polis par quatre différents systèmes de polissage, formant deux groupes par composite. Le groupe I de Tetric N-Ceram™, dont les charges représentent 82,5% en poids du composite, obtient de meilleurs résultats que le groupe II de Filtek Z350, contenant 78,5% de charge. Ainsi l'efficacité du polissage, traduite par une réduction de la rugosité, dépend du type, de la taille et du pourcentage de charges contenues dans les composites. Cependant, ces résultats peuvent aussi être liés à la dureté des constituants de la phase inorganique. Tetric N-Ceram comprend des particules dont la dureté est inférieure à celle des particules présentes dans Filtek Z350.

En adéquation avec la composition et les propriétés des résines composites, le choix de l'abrasif est important. La taille, la forme et la dureté des particules abrasives influencent la rugosité finale de la restauration (2, 47). Elles doivent être plus dures que

les charges du composite afin d'assurer une finition efficace. Dans le cas contraire, l'agent de polissage retire uniquement la matrice résineuse, laissant les particules de charges saillantes à la surface du composite (49, 50) (figure 6). Ainsi, plus la différence de dureté entre l'abrasif et le substrat est importante, plus l'abrasion est performante (2). Les propriétés physiques du matériau liant les particules abrasives sont également importantes (2). Les systèmes abrasifs dont le matériau de support est flexible présentent de meilleurs résultats.

Pour finir, la qualité du polissage reste praticien-dépendante. Le respect de la vitesse et de la pression recommandées lors du polissage, ainsi que l'irrigation et la durée de la procédure, influencent la qualité de surface (47).

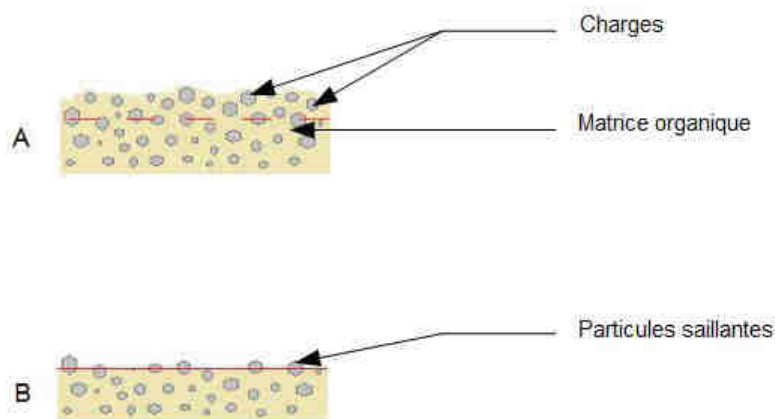


FIGURE 6 : FINITION-POLISSAGE DES RESINES COMPOSITES : CHOIX D'UN ABRASIF INADAPTE (COUPE TRANSVERSALE). A. SURFACE AVANT POLISSAGE. B. SURFACE APRES POLISSAGE.

C. Abrasifs et instruments de finition-polissage

Les particules abrasives dérivent de matériaux broyés puis filtrés afin d'obtenir des particules de différentes tailles. Celles-ci doivent être adaptées au matériau de reconstitution, car des particules trop dures ou trop grandes génèrent de profondes rayures difficiles à retirer. En dépit des avancées techniques, il n'existe pour le moment

aucun consensus sur la séquence et le dispositif le plus efficace assurant un polissage idéal.

1. Composition des abrasifs

Divers abrasifs d'origine naturelle ou synthétique sont actuellement disponibles en odontologie, dont certains plus spécifiquement dédiés au polissage des résines composites. Seuls les abrasifs manufacturés, préférés aux abrasifs naturels, sont traités ci-dessous car leurs propriétés physiques sont plus prédictibles.

L'oxyde d'aluminium et le diamant sont les deux abrasifs les plus couramment utilisés en odontologie (47). Dans le cas du diamant, la forme de ses particules détermine le type de liant à utiliser, c'est-à-dire de la résine ou du métal. Mais les particules diamantées existent aussi sous forme dispersée dans les pâtes à polir. En raison de sa dureté, le diamant est très abrasif (47). Il résiste à l'usure et maintient son tranchant (47). Les particules ou poussières de diamant existent en différentes granulométries.

A l'image du diamant, l'oxyde d'aluminium est généralement incorporé au dispositif par un liant, mais il se trouve aussi sous forme non-liée. Plusieurs granulométries sont également disponibles.

Les composés de carbure sont une autre alternative au diamant et à l'oxyde d'aluminium. Ce sont des carbures de silicium ou des carbures de tungstène. Les carbures de silicium sont les premiers abrasifs produits synthétiquement, et sont caractérisés par des particules très dures et très fragiles. Fournis sous forme de particules pressées avec un liant sur le dispositif de polissage (47), les carbures de silicium sont disponibles en plusieurs granulométries. A l'opposé, les carbures de tungstène se distinguent par leur action coupante. Ils constituent la partie coupante des fraises de finition multilames (47).

D'autres abrasifs sont également disponibles tel que l'oxyde de zirconium, le silicate de zirconium, ou encore le dioxyde de silicium, et sont utilisés sur les dispositifs de finition-polissage en caoutchouc ou en élastomère (47).

2. Instruments de finition-polissage

a) Les fraises diamantées

Les fraises diamantées reposent sur l'action abrasive des particules diamantées qui sont liées au métal. En raison de la dureté du diamant, l'utilisation d'une irrigation est indispensable afin d'éviter tout échauffement pouvant provoquer des dommages pulpaire et/ou une brûlure de la matrice résineuse des composites (47). Plusieurs granulométries sont disponibles selon les différentes phases de finition (2) :

- Phase de réduction : granulométrie « grosse », les particules mesurent plus de 100 µm et correspondent à la bague verte sur les fraises diamantées
- Phase de modelage : granulométrie « fine », les particules mesurent 30 à 100 µm et correspondent à la bague rouge
- Phase de finition : granulométrie « extra-fine », les particules mesurent 8 à 20 µm et correspondent à la bague jaune.

Les fraises diamantées, en raison de leur dureté, génèrent des rayures et des défauts profonds à la surface du matériau de restauration (47). L'utilisation d'autres instruments de finition-polissage est donc nécessaire.

b) Les fraises en carbure de tungstène

Les fraises en carbure de tungstène permettent de dégrossir et de lisser les surfaces durant les phases de finition. Elles sont composées de plusieurs lames en carbure de tungstène, dont le nombre dépend de leur utilisation (2) :

- durant la phase de réduction : utilisation de fraises de 8 à 12 lames,
- durant la phase de modelage : fraises de 12 à 16 lames,
- durant la phase de finition : fraises de 18 à 30 lames.

Plus difficiles à contrôler manuellement, les fraises en carbure de tungstène ont aussi une action abrasive inférieure à celle des fraises diamantées, mais elles respectent les tissus mous grâce à leur pointe mousse (47). Elles nécessitent également l'usage d'autres dispositifs de polissage pour assurer un état de surface optimal.

c) Les bandes et disques abrasifs

Les disques et bandes abrasifs sont à utiliser au cours des étapes de finition et polissage. Les abrasifs, généralement de l'oxyde d'aluminium (2, 47), sont liés à un support flexible avec un adhésif adapté au matériau de support. Ils peuvent être utilisés sans irrigation mais à faible vitesse de rotation. Il existe des séries de disques et de bandes de différents diamètres et différentes tailles de grains. Ces systèmes sont à utiliser suivant une séquence de granulométries décroissantes, et sont très utiles pour la finition et le polissage des surfaces proximales. Ces dispositifs sont réputés être efficaces sur les composites microchargés (47).

d) Les roues, cupules et pointes en caoutchouc

L'action abrasive de ces dispositifs repose sur l'intégration de particules abrasives dures dans une matrice en élastomère (47). Celle-ci peut être en caoutchouc, naturel ou synthétique, ou en silicone (47). De nombreux abrasifs sont utilisés sous cette forme : les carbures de silicium, l'oxyde d'aluminium, le diamant, le dioxyde de silicium ou l'oxyde de zirconium. La variété des formes, tailles et dimensions de ces instruments permet de les utiliser sur l'ensemble des surfaces dentaires. Ces instruments sont actuellement très appréciés par les cliniciens car ils génèrent une haute brillance, spécialement avec les composites microhybrides et nanohybrides. Récemment, des systèmes « one-step » ont été introduits dans le commerce. Ils se proposent de dégrossir, de gérer les finitions et de polir la surface avec un seul instrument.

e) Les pierres

Composées de particules abrasives frittées ensemble ou liées avec une résine organique (47), elles sont utilisées pour la finition des restaurations. La couleur de la pierre, fixée au bout d'un manche métallique rotatif, indique l'abrasif utilisé. Les pierres de carbure de silicium sont vertes tandis que les pierres à base d'oxyde d'aluminium sont blanches. Il existe différents degrés d'abrasion mais leur pouvoir coupant et abrasif est inférieur à celui des fraises diamantées (47).

f) Les pâtes à polir et leurs dispositifs d'application

Ces systèmes induisent une usure à l'échelle micrométrique et nanométrique (47). Les particules abrasives sont ultrafines et dispersées dans une base de glycérine entre la surface à polir et l'instrument d'application (2). Les pâtes à base d'oxyde d'aluminium comprennent des particules de 1 μm de taille moyenne, contre 1 à 10 μm pour les pâtes à base de particules diamantées (47). Le système et le mode d'application sont aussi importants que la composition de la pâte. Les cupules flexibles en caoutchouc n'améliorent pas le polissage de la surface, tandis que les applicateurs souples en mousse ou feutre augmentent l'efficacité de la pâte à polir, surtout celles à base d'oxyde d'aluminium (47). L'application à sec de la pâte à polir, puis sous irrigation, génère un très bon état de surface avec un aspect particulièrement brillant.

D. État de surface des résines composites après polissage

Durant la polymérisation des résines composites, une couche inhibée par l'oxygène (Oxygen Induced Layer, OIL) de 10 à 200 μm se forme à la surface des matériaux (9). Elle résulte de l'inhibition des radicaux libres par l'oxygène atmosphérique. Ce phénomène empêche l'allongement du polymère, laissant à la surface des monomères peu ou pas polymérisés. La couche inhibée par l'oxygène affecte les propriétés mécaniques du composite en diminuant sa dureté et sa résistance à la compression (9). Bien que cette couche subsiste dans les creux et fissures présents à la surface, les étapes de finition et

de polissage améliorent les propriétés mécaniques du composites en retirant une grande partie de l'OIL. Les procédures de polissage modifient donc les propriétés physico-chimiques de surface des résines composites en retirant la couche superficielle riche en résine matricielle.

D'autre part, les résines composites sont difficiles à polir en raison de leur structure. L'association d'une matrice souple à des particules de charge dures aboutit à une abrasion inégale, laissant apparaître des particules de charge saillantes à la surface du matériau de restauration. Ces particules exposées créent des pics et creux à la surface du composite qui n'apparaissent pas lustrés (2). Ce problème est d'autant plus prononcé sur les composites hybrides (2).

De petites fissures superficielles et des défauts marginaux peuvent également se créer suite aux vibrations des fraises et autres instruments de finition. Ces microfissures peuvent être le point de départ de fissures plus profondes et donc accélérer l'usure du matériau (2). Les défauts marginaux, quant à eux, constituent des sites d'accumulation de plaque dentaire.

V. Matériels et méthodes : étude *in-vitro*

La diversité des composites dentaires ainsi que celle des systèmes de polissage offrent aux chirurgiens-dentistes un large choix de matériaux selon l'indication clinique. Néanmoins cette variabilité sous-entend des états de surface différents selon les matériaux employés.

L'objectif de notre travail de recherche est donc d'étudier la rugosité des composites selon leur mode de polissage puis de préciser le lien possible entre la rugosité de surface des différents polymères et sa propension à fixer et développer un biofilm.

A. Préparation des échantillons

Cinquante-quatre échantillons au total ont été réalisés à partir de trois résines composites appartenant à des catégories distinctes. Ces échantillons se divisent en trois groupes (n=18) : G-aenial anterior (composite microhybride), Filtek Supreme XTE (composite nanochargé) et Enamel Plus HRI (composite nanohybride). Leur composition respective est détaillée dans le tableau 1.

Les différents composites, commercialisés sous seringue, ont été polymérisés dans un moule métallique placé entre une plaque de verre et une plaque de silicone (figure 7). Une pression constante a été exercée sur la plaque de verre afin d'aplanir la surface, et obtenir une bonne répartition du matériau dans le moule tout en évitant l'inclusion de bulle d'air. La polymérisation a été réalisée selon des recommandations du fabricant et à l'aide d'une lampe à photopolymériser LED Bluephase (Ivoclar Vivadent), à température ambiante et pression atmosphérique constante. Les échantillons obtenus se présentaient sous la forme de disques de 1 cm de diamètre sur 2 mm d'épaisseur, dont l'une des faces présentait une couche d'inhibition à l'oxygène.

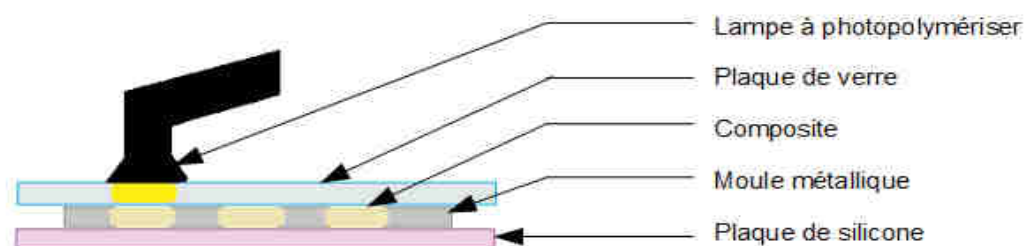


FIGURE 7 : TECHNIQUE DE PREPARATION DES ECHANTILLONS (COUPE TRANSVERSALE)

Matériau	Type	Teinte	Résine	Type de charges	Taille des particules de charge	Fraction de charge		Temps de polymérisation	Fabricant	Lot
						Vol %	Poids %	Lampe LED Bluephase		
G-aenial anterior	Microhybride	A2	UDMA Co-monomères de diméthacrylate Sans Bis-GMA	Charges pré-polymérisées contenant de la silice	16 µm	–	76	20 sec	GC	140523 A
				Charges pré-polymérisées contenant du Strontium et des Fluorures de Lanthanoïde	17 µm					
				Verre de silice	850 nm					
				Silice pyrogénique	16 nm					
Filtek Supreme XTE Enamel	Nano-chargé	A3E	UDMA	Silice non-agglomérée/non-agrégée	20 nm	63,3	78,5	20 sec	3M ESPE	N50022 5
			Bis-GMA	Zircone non-agglomérée/non-agrégée	4-11 nm					
			Bis-EMA	Clusters de Zircone/Silice agglomérées	0,6-10 µm					
			TEGDMA							
Enamel Plus HRI	Hybride nano-chargé	UE2	UDMA	Nanoparticules d'oxyde de zircone	20 nm	–	80	40 sec	MICERIUM	201200 4604
			Bis-GMA Diméthacrylate de butanediol	Verre	1 µm					
– : non renseigné par le fabricant										

TABEAU 1 : COMPOSITION DES COMPOSITES

B. Polissage des échantillons

Dans un second temps, les échantillons obtenus ont été polis graduellement à l'aide de disques abrasifs en carbure de silicium, présentant 3 granulométries successives différentes :

- granulométrie P120 : grains de 126 à 150 μm ,
- granulométrie P320 : grains de 46 μm ,
- granulométrie P600 : grains de 25 μm .

Ces granulométries correspondent réciproquement à la rugosité de surface obtenue par un polissage manuel en clinique à l'aide de fraises diamantées de bague verte, rouge et jaune. Chaque échantillon a été poli successivement grâce à une polisseuse, sous irrigation, de la plus grosse (P120) à la plus fine granulométrie (P600). Cette étape a pour objectif de simuler les phases de dégrossissage et de finition, réalisées en clinique après polymérisation du composite.

Chaque groupe de composite (n=18) a ensuite été subdivisé de façon aléatoire afin de constituer trois sous-groupes (n=6) recevant un protocole de polissage différent :

- Le duo de polissoirs KompoLine (Komet), composé d'un polissoir pour le pré-polissage (diamantés roses) et d'un second pour le brillantage (diamanté blanc) a été utilisé sur un tiers des échantillons obtenus précédemment. Ces polissoirs très récents existent sous forme de cupules, pointes ou roues en caoutchouc fixées sur une tige métallique dorée (figure 8). Le polissage a été réalisé selon les recommandations du fabricant (voir tableau 2).

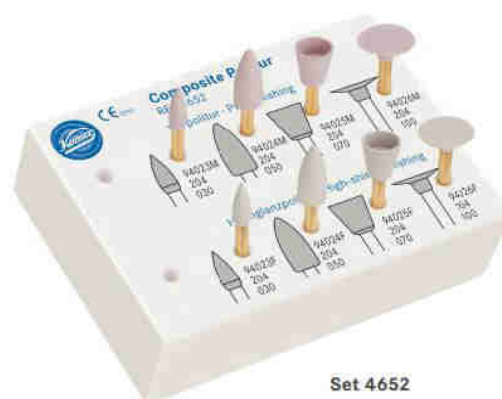


FIGURE 8 : COFFRET 4652 KOMPOLINE. KOMET (SOURCE : [HTTP://CMS.KOMETDENTAL.DE](http://cms.kometdental.de))

- Un second tiers des échantillons a été poli par le système Enamel Plus Shiny de Micerium. Les instruments contenus dans le kit (figure 9), et utilisés pour le polissage des échantillons, sont cités ci-dessous :
 - Shiny 14 : pointe siliconée imprégnée de ponce avec des particules diamantées, utilisée pour la finition à faible vitesse de rotation et sous irrigation
 - Shiny A : pâte diamantée pour le polissage
 - Shiny B : pâte diamantée pour le polissage
 - Shiny C : pâte de lustrage en oxyde d'alumine
 - Shiny S : brosse en poils de chèvre, à utiliser en association avec Shiny A et B
 - Shiny F : roue en feutre, à utiliser en association avec Shiny C.

Les étapes de finition-polissage ont été réalisées selon les recommandations du fabricant (tableau 2). La finition a été réalisée avec l'instrument Shiny 14. Les pâtes diamantées Shiny A et B ont été appliquées avec la brosse souple en poil de chèvre, à très faible vitesse de rotation et sans irrigation avant d'augmenter la vitesse de rotation sous spray à eau. Le lustrage de la surface a été obtenu par l'application de Shiny C à l'aide une roue feutrée en rotation à très faible vitesse et sans irrigation.



FIGURE 9 : KIT DE POLISSAGE ENAMEL PLUS SHINY, MICERIUM

En résumé, il a ainsi été obtenu un total de 54 échantillons, de 3 composites différents (n=18), divisés en :

- 6 échantillons, par composite, polis jusqu'au disque papier P600,
- 6 échantillons, par composite, polis avec KompoLine,
- 6 échantillons, par composite, polis avec le système Enamel Plus Shiny.

C. Étude complémentaire

En complément de cette première étude, 14 échantillons supplémentaires du composite microhybride G-aenial anterior ont été préparés. Chacun a été poli par les disques de silicium jusqu'au grain P600, comme décrit précédemment. Ces échantillons ont ensuite été répartis aléatoirement en 7 groupes, eux-mêmes divisés en 3 secteurs distincts par échantillons (n=6 mesures). Hormis le groupe contrôle, chaque groupe a été

poli par un système de polissage différent. Ces 6 systèmes de polissage sont décrits dans le tableau 2 et ont été utilisés selon les recommandations des fabricants.

Système de polissage	Type	Composition	Taille des particules abrasives	Vitesse de rotation t/min	Irrigation	Fabricant
Compo Système	Disques flexibles transparents : - Moyen - Fin - Superfin	Oxyde d'aluminium	50 µm 30 µm 5 µm	10000	Oui	KOMET
Sof-Lex	Disques flexibles : - Gros - Moyen - Fin - Ultrafin	Oxyde d'aluminium	50-90 µm 10-40 µm 3-9 µm 1-7 µm	10000 10000 30000 30000	Non	3M ESPE
CLEARFIL Twist Dia	Système en 2 étapes, roues en caoutchouc : - Pré-polissoir - Polissoir haute brillance	Diamant	–	Faible	Oui	KURARAY
KompoLine	Système en 2 étapes, polissoirs fin en caoutchouc : - pour le pré-polissage - pour le brillantage	Diamant	–	6000	Oui	KOMET
Maximus	Système en 1 étape, ultrafin	Diamant	–	5000-10000	Oui	KENDA
Enamel Plus Shiny (kit)	Pointe en silicone Pâtes de polissage : - Shiny A - Shiny B - Shiny C	Diamant (Shiny A et B) Oxyde d'aluminium (Shiny C)	- 3 µm 1 µm –	Faible	Avec et sans irrigation	MICERIUM
– : non renseigné par le fabricant						

TABEAU 2 : COMPOSITION DES SYSTEMES DE POLISSAGE

D. Caractérisation de l'état de surface

1. Analyse par spectroscopie des photoélectrons par rayons X

La spectroscopie des photoélectrons (X-Ray Photoelectron Spectroscopy – XPS) a été utilisée pour déterminer la composition chimique de surface des échantillons de composite, après polissage par le disque en carbure de silicium P600.

L'XPS a été réalisée au moyen d'un spectromètre VG Scienta, grâce à une source monochromatique de rayons X ($\text{Al K}\alpha = 1486.6 \text{ eV}$) obtenues par une source de rayons X VG Scienta SAX100 et par un monochromateur VG Scienta XM780. Les mesures ont été réalisées avec un angle d'incidence normal (la surface de l'échantillon était perpendiculaire à l'angle d'émission). La résolution du spectromètre était à un niveau Fermi d'environ 0,4 eV, avec une profondeur d'analyse allant jusqu'à 8 nm. L'énergie de passage de l'analyseur pour le spectre général (wide scan) était de 500 eV tandis que l'énergie pour les spectres en haute définition était de 100 eV.

2. Matériel d'observation en microscopie optique

L'observation des états de surface a nécessité l'utilisation d'un microscope 3D, basé sur l'interférométrie en lumière blanche (White Light Interferometry, WLI) et la microscopie confocale. En microscopie 3D interférométrique, la surface est balayée verticalement le long de l'axe z, de façon à ce que chaque point de la surface testée passe par le foyer, et que les données en x et y soient capturées simultanément à chaque étape de l'axe z. Pour cela, le faisceau lumineux est divisé en deux parties, l'une est réfléchi par un miroir de référence tandis que l'autre est réfléchi par l'échantillon. La recombinaison des deux faisceaux réfléchis, lorsque l'échantillon est à la distance focale, donne une figure de franges d'interférences. Ce sont des lignes claires et sombres représentatives du profil de la surface étudiée et visualisables sur un écran d'ordinateur, grâce à une caméra et un logiciel de traitement. Le maximum de contraste entre ces lignes indique la meilleure position focale pour chaque pixel, et l'acquisition d'une image

tridimensionnelle de la surface est possible. Un logiciel est ensuite employé afin d'analyser les données dans le but de calculer différents paramètres telle que la rugosité. L'intérêt de cette technique sans-contact, et la raison de son emploi dans cette étude, repose sur sa rapidité d'exécution, sa précision et sa répétabilité car la résolution verticale est indépendante de l'objectif. Il est également possible de mesurer de fortes pentes (jusqu'à 70°) avec des objectifs x10 ou x5, indépendamment de la couleur des échantillons et de leur réflectivité (51).

Dans cette étude, un microscope optique 3D de la plateforme MINAMEC/CNRS 22/ICS (Centre National de Recherche Scientifique, Institut Charles Sadron) de Strasbourg a été utilisé. C'est un tribomètre UMT 1000 avec microscopie confocale interférométrique, développée par la société BRUKER. L'acquisition des données a été réalisée au moyen d'un objectif x10 avec un zoom de 0,55. Le logiciel Vision32™ de Bruker a permis de traduire les données de microscopie en image tridimensionnelle et de calculer les paramètres de rugosité associés.

3. Méthode d'observation et mesures

La totalité des échantillons préparés précédemment a été observée par profilométrie optique. Les échantillons ont d'abord été classés par polymère puis divisés par système de polissage. Pour la première étude, concentrée sur l'adhésion bactérienne, chaque échantillon a été numéroté de 1 à 6 afin d'obtenir trois séries de six échantillons par composite. Pour la seconde étude, concentrée sur l'efficacité des différents systèmes de polissage, les échantillons de G-aenial anterior ont été numérotés par système de polissage.

Avant l'observation au microscope, les débris et poussières à la surface des échantillons ont été soigneusement nettoyés avec un spray à air. Puis la surface de chaque échantillon a été enregistrée consécutivement sur trois zones aléatoires. Les enregistrements ont été réalisés grâce au profilomètre optique et au logiciel Vision32™ de Bruker.

4. Traitement des données

Les données acquises par microcopie ne sont généralement pas mises à niveau, car le microscope sort directement les données brutes obtenues par interférométrie. Par conséquent, les données acquises par le logiciel Vision ont été retravaillées par le logiciel libre Gwyddion (v2.45). La méthodologie appliquée a été la suivante :

- ouverture du fichier .odp acquis par Vision ;
- interpolation des données sous le masque à l'aide de l'équation de Laplace ;
- suppression du masque ;
- suppression de l'arrière-plan polynomial, avec application de polynômes de 3 degrés ;
- modification de l'échelle par la couleur gwyddion.net, puis fixation de la valeur minimale des données à 0 ;
- ombrage des données ($\theta = 36$, $\phi = 160$, mixage = 51).

L'interpolation des données sous le masque permet de combler les zones non enregistrées lors de l'acquisition à partir des régions voisines.

Par la suite, les valeurs des paramètres d'amplitude de rugosité ont également été calculées par le logiciel Gwyddion. Les valeurs obtenues pour chaque mesure, présentées dans la fenêtre *Statistiques* de Gwyddion (figure 10), ont été enregistrées au format texte (.txt). Les valeurs de R_a ont, quant à elles, été retranscrites et classées sur Excel.

Pour finir, la fonction « *afficher une vue en 3D des données* » de Gwyddion a été utilisée pour visualiser en trois-dimensions la surface mesurée. Les images tridimensionnelles de la topographie de surface, restituées en variation d'intensité de pixels, ont été enregistrées au format image (.jpeg) (figure 11).

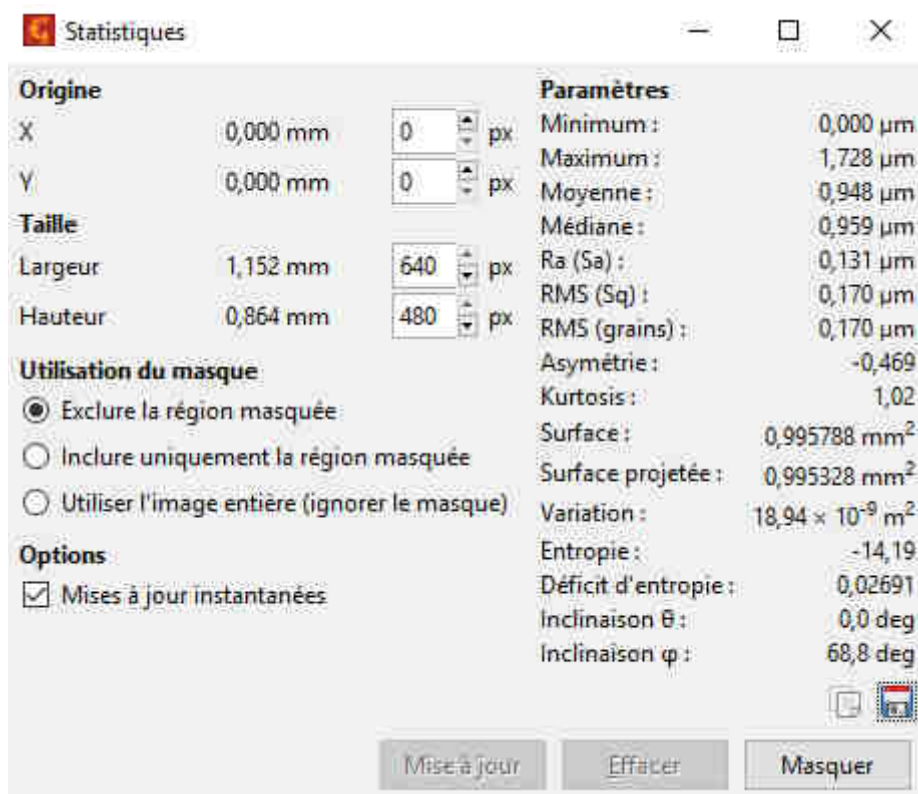


FIGURE 10 : FENETRE « STATISTIQUES » EXTRAITE DE GWYDDION, ECHANTILLON G-AENIAL ANTERIOR POLI PAR LE SYSTEME ENAMEL PLUS SHINY (N°1, ZONE 1)

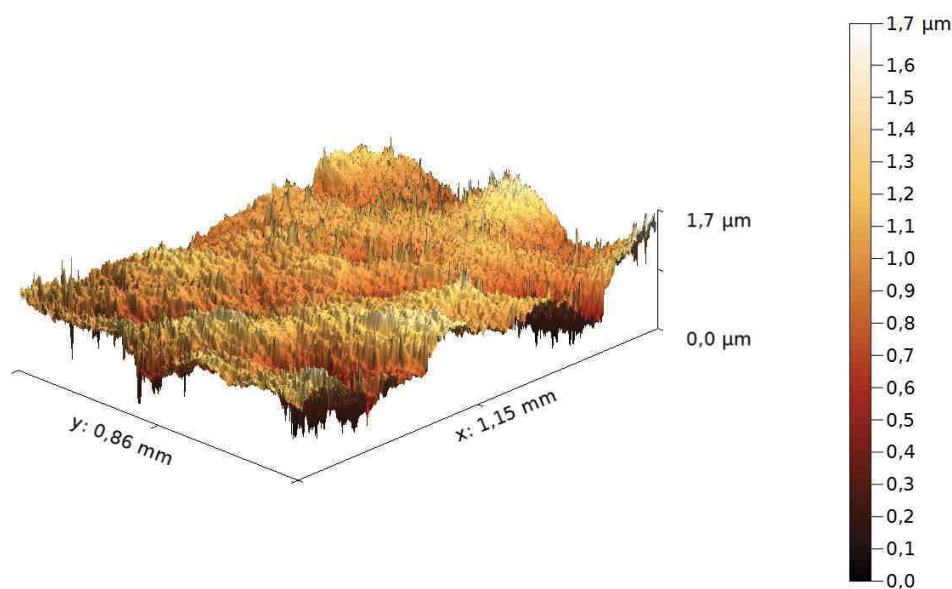


FIGURE 11 : IMAGE TRIDIMENSIONNELLE DE LA SURFACE DE G-AENIAL ANTERIOR POLIS PAR LE KIT ENAMEL PLUS SHINY (N°1, ZONE 1)

5. Analyse statistique

Une analyse statistique a été réalisée sur les échantillons de G-aenial utilisés dans la seconde étude, afin de comparer l'efficacité des systèmes de polissage en analysant les valeurs de Ra. Les résultats classés sur Excel ont été analysés par SPSS statistics (Statistical Package for the Social Sciences, IBM) au moyen d'un test non paramétrique de Kruskal-Wallis et post-hoc de comparaisons par paire. Les significations asymptotiques, par tests bilatéraux, ont été rectifiées par ajustement de Bonferroni. Le seuil de significativité, pour une hypothèse nulle, a été fixé à 0,05.

E. Protocole microbiologique

1. Stérilisation des échantillons

La stérilisation des polymères est un grand défi car ce sont des matériaux sensibles à la chaleur et aux radiations. Une stérilisation par autoclave ou chaleur sèche risque de dégrader le matériau en modifiant sa composition et structure de surface, mais aussi ses propriétés mécaniques et physico-chimiques. Le caractère hydrophile/hydrophobe, les charges ou encore l'énergie libre de surface peuvent être altérés par la chaleur et affecter l'absorption des protéines et l'adhésion des bactéries à la surface de la restauration. De ce fait, les échantillons ont été décontaminés à l'éthanol, rincés trois fois à l'eau distillée puis plongés durant 3 min dans un bain à ultrasons. Après passage sous flux d'azote, les surfaces décontaminées ont ensuite été stérilisées dans des boîtes de Pétri (35 mm de diamètre) sous lampes à ultraviolets durant 7 min par face et à 2 cm des lampes.

2. Souches bactériennes

Les espèces du groupe des *Streptococcus mutans* sont des bactéries de type gram-positif de la cavité buccale, capables de perdre leur forme de coque (sphérique) pour se présenter en bacille (bâtonnet) ou cocco-bacille (forme intermédiaire).

Streptococcus mutans a un rôle central dans le développement de caries dentaires en produisant, par fermentation des sucres, de l'acide lactique responsable de la déminéralisation de l'émail en se liant au calcium des cristaux d'hydroxyapatite (29, 32). Bien que *Streptococcus mutans* ne soit pas un colonisateur initial, il a été choisi dans cette étude pour sa capacité d'adhésion à la pellicule salivaire (29) et son importance dans la formation des lésions carieuses.

Dans un premier temps, nous avons choisi l'utilisation de la souche *S.mutans* CIP103220, congelée à -80°C à l'Institut de Science des Matériaux de Mulhouse (IS2M, CNRS, Mulhouse). Cette souche bactérienne nécessite l'utilisation d'un fluorochrome pour être observable par fluorescence au microscope confocal à balayage laser. Nous avons donc marqué ces bactéries au Syto 9 avant de les observer à la surface d'échantillons de résine composite. Toutefois les images obtenues (figure 12) n'ont pas pu être exploitées car les surfaces des échantillons de composite présentaient une fluorescence comparable à celle des bactéries marquées. Ce phénomène peut s'expliquer par l'absorption d'eau et autres liquides colorés dans les composites.

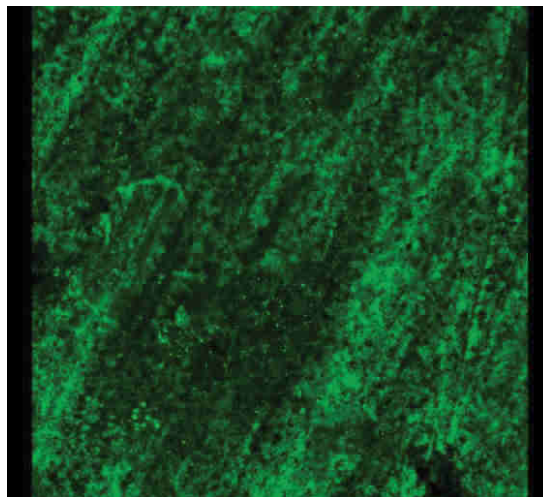


FIGURE 12 : ÉCHANTILLON DE COMPOSITE CLEARFIL MAJESTY ES-2 ENAMEL DE KURARAY, POLISSAGE P600, OBSERVE EN FLUORESCENCE AU MICROSCOPE CONFOCAL EN PRESENCE DE *S. MUTANS* CIP103220

Suite aux précédentes observations, nous avons naturellement opté pour l'utilisation d'une souche autofluorescente *Streptococcus mutans* AYBG854S. Celle-ci

nous a été expédiée par le Dr Nicolas Cottenhye et l'équipe du Pr Jean Bardeau de la faculté de médecine dentaire, de l'Université de Montréal au Québec.

Streptococcus Mutans AYBG854S est une souche bactérienne développée et décrite dans la publication du Pr Akihiro Yoshida (52). Elle présente l'intérêt d'être autofluorescente en présence de sucrose grâce à l'insertion plasmidique d'une séquence d'ADN codant pour la protéine GFP (Green Fluorescent Protein, marqueur de l'expression des gènes) et pour la résistance à l'érythromycine. La souche bactérienne possède ainsi une fusion *gtfB*-promoteur-*gfp* insérée dans un plasmide. Le gène *gtfB* code la production d'une glucosyltransférase (produite conjointement avec le gène *gtfC*), responsable de la synthèse de polysaccharides extra-cellulaires en présence de sucrose. Ces EPS assurent l'adhésion et l'attachement des bactéries aux surfaces dures. La résistance à l'érythromycine permet, quant à elle, de ne sélectionner que les bactéries ayant intégrées le plasmide contenant l'ADN qui code pour la GFP.

3. Conditions de culture bactérienne

Les souches de *Streptococcus mutans AYBG854S* ont été congelées et stockées en phase de croissance exponentielle à -80°C dans un milieu de culture TYE associé à 10 µg/mL d'érythromycine.

Lors de chaque manipulation, les bactéries ont été isolées à l'aide d'une anse sur une boîte de Pétri contenant de la gélose Todd Hewitt Broth (THB) associée à 10 µg/mL d'érythromycine. La boîte de Pétri a ensuite été placée dans une étuve à 37°C pendant 72h. Par la suite, une à cinq colonies bactériennes ont été prélevées à l'aide d'une anse puis inoculées dans 10 mL de salive artificielle (SA) supplémentée par 0,2 % de glucose. La composition de cette salive artificielle (voir tableau 3), encore appelée Basal Medium Mucine modified (BMM), est basée sur la publication de L.Wong et C.Sissons (53) et permet de simuler la formation d'une pellicule exogène acquise à la surface des échantillons.

Après une nuit d'incubation (overnight d'environ 16h) à 37°C, une seconde pré-culture composée à 10 % de la précédente a été réalisée avec de la salive artificielle et

0,5 % de sucrose. Celle-ci a été placée 4 heures dans une étuve à 37°C. Parallèlement, 6 échantillons de 3 rugosités différentes d'un même polymère ont été stérilisés comme décrit précédemment. Ainsi lors de chaque manipulation, deux séries de trois échantillons d'un même composite plus un témoin de wafer de silicium ont été utilisés (figure 13) :

- échantillon 1 : composite x, polis jusqu'au disque abrasif P600
- échantillon 2 : composite x, polis avec les polissoirs KompoLine de Komet
- échantillon 3 : composite x, polis avec le kit Enamel Plus Shiny de Micerium
- témoin : wafer de silicium

Composition (L ⁻¹ ; pH 7,0)	
Mucine gastrique de porc partiellement purifiée (type III)	2,5 g
Protéose peptone	10 g
Tryptone	5 g
Extrait de levure	5 g
Hémine	5 mg
Ménadione	1 mg
Urée	1 mM
L-Arginine	1 mM
KCl	1,1 g
CaCl ₂	110 mg
MgCl ₂ .6H ₂ O	40 mg
NaCl	0,6 g
NH ₄ Cl	0,1 g
KH ₂ PO ₄	0,5 g
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,7 g

TABEAU 3 : SALIVE ARTIFICIELLE (WONG & SISSIONS, 2001) ENRICHIE EN MUCINE. COMPOSITION PAR LITRE ET PH 7,0.

Un inoculum d'une densité optique de 0,01 a été préparée à partir de la seconde pré-culture et avec de la salive artificielle enrichie en sucrose (0,5 %). La densité optique du milieu a été déterminée grâce à un spectrophotomètre et la formule suivante :

$$Vo_1 = \frac{Vo_2 * Do_2}{Do_1}$$

Vo₁ : volume de la seconde pré-culture à prélever

Vo₂ : volume de SA, soit 16mL

Do₂ : densité optique de la SA

Do₁ : densité optique de la seconde pré-culture, soit 0,01

4 mL de la solution précédente a été versé dans chaque pétri dish contenant un échantillon ou témoin, puis placé en incubation pendant 3 heures à 37°C. Avant observation microscopique, les échantillons ont été soigneusement rincés avec de la salive artificielle sans mucine ni sucrose afin d'éliminer les bactéries non-adhérentes tout en maintenant le pH constant. Le flux de rinçage a été dirigé vers les parois des boîtes de Pétri de manière à limiter le détachement des bactéries de la surface du matériau.

En somme, ce protocole a été répété deux fois lors de chaque manipulation. Les deux séries d'échantillons ont été préparées avec un décalage de 2 heures afin de limiter la prolifération bactérienne sur les surfaces durant les phases d'acquisition d'image, et pour assurer la répétabilité de l'expérience. Au total, six séries d'échantillons sont observées par matériau et système de polissage.

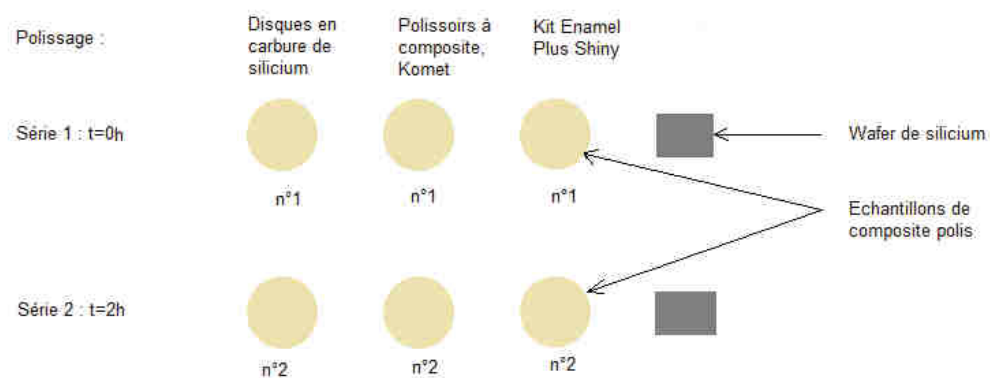


FIGURE 13 : PROTOCOLE DE CULTURE BACTERIENNE : SERIES D'ECHANTILLONS UTILISEES PAR MANIPULATION

4. Observation des bactéries adhérentes

Finalement, les échantillons en immersion ont été observés au microscope confocal à balayage laser (Carl Zeiss, LSM 700) équipé d'un objectif 63x à eau (W Plan Apochromat 63x/1 M27, distance de travail à 2,1 mm) disponible à l'Institut de Science des Matériaux de Mulhouse (IS2M, CNRS).

En microscopie confocale à balayage laser, la surface de l'échantillon est balayée en x et y sur un seul plan z à la fois afin d'obtenir une image 2D. Le plateau supportant l'objet est ensuite déplacé d'un pas sur l'axe z, et l'acquisition reprend. On obtient ainsi des tranches, appelées slices, qui peuvent être informatiquement assemblées pour former une image tridimensionnelle (z-stack).

Dans notre cas, les acquisitions ont été réalisées grâce au logiciel Zen en réflexion (laser à 405nm) et fluorescence (laser à 488nm), sur deux canaux d'une seule piste et à température ambiante. Nous avons veillé à garder des paramètres d'acquisition identiques durant toute l'étude (tableau 4). Six acquisitions tridimensionnelles en z-stack ont été réalisées sur chaque échantillon. Les zones d'observation ont été choisies aléatoirement, de gauche à droite et du haut vers le bas de l'échantillon, afin de ne pas mesurer deux fois une zone identique. Un pas vertical de 1 μm entre chaque slice a également été choisi afin de réaliser les acquisitions dans le temps imparti, car la diminution de l'espacement entre

les slices implique une augmentation du temps d'acquisition par image. Enfin, l'ordre d'observation des différents échantillons a été systématiquement modifié entre chaque série. Le temps d'acquisition ayant un impact sur la croissance bactérienne, nous avons ainsi limité ce biais.

Matériaux	Réflexion		Fluorescence	
	Puissance du laser	Gain	Puissance du laser	Gain
Wafer de silicium	2,0	350	26,0	800
Composite	2,0	600	26,0	800

TABEAU 4 : PARAMETRES D'ACQUISITION DU MICROSCOPE CONFOCAL A PARTIR DU LOGICIEL ZEN

5. Traitement des images pour le comptage bactérien

Les images 2D (slices) obtenues et assemblées par le logiciel Zen ont été traitées et converties en images binaires grâce au logiciel ImageJ (figure 14). Cette conversion a été nécessaire pour le comptage automatique des bactéries par le plugin 3D Object Counter (abrégé 3D OC). La méthodologie, déterminée à partir des images de wafer de silicium, a été la suivante :

- ouverture de l'image en stack (.ism) dans ImageJ,
- séparation des canaux et utilisation du canal 2 de fluorescence,
- augmentation du contraste et accentuation des détails à l'aide de la fonction *Sharpen*,
- soustraction du fond lié à l'autofluorescence du matériau grâce à la fonction *Subtract Background* (rolling ball radius : 10 pixels),
- réduction du bruit de fond avec la fonction Noise/Descpeckle,
- seuillage du stack et conversion en images binaires (Threshold, min : 13 ; max : 255 ; Black & White).

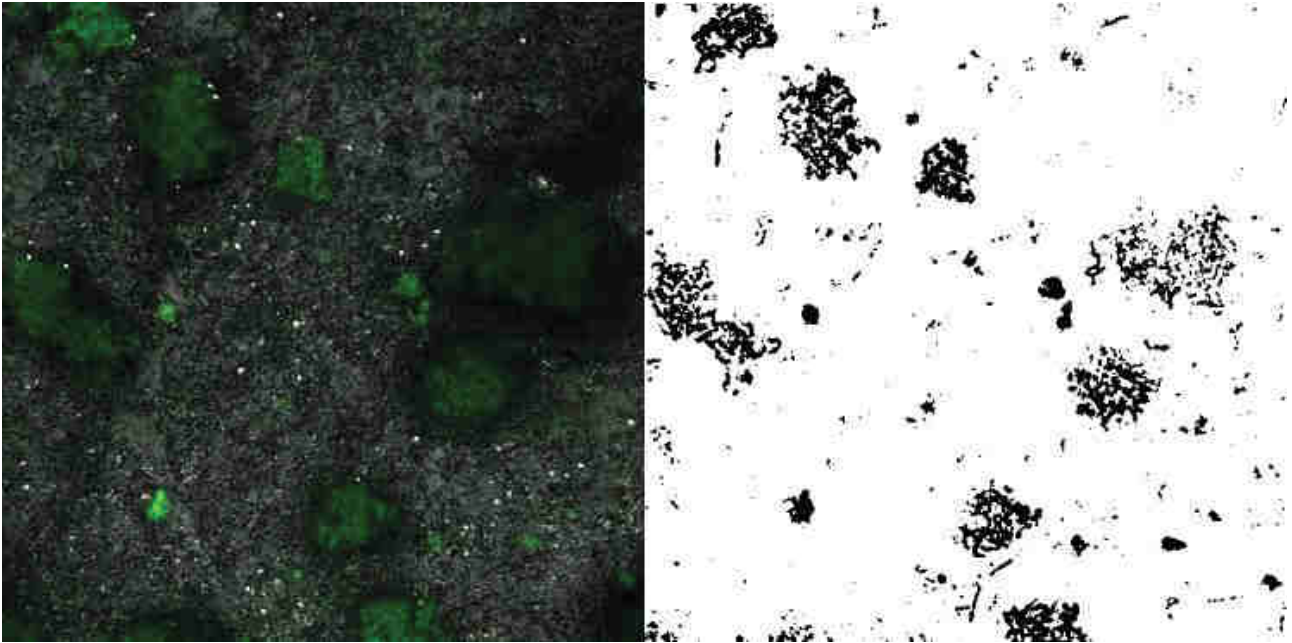


FIGURE 14 : IMAGE 2D (SLICE 25/28) A LA SURFACE DE G-AENIAL ANTERIOR POLI PAR ENAMEL PLUS SHINY (N°1) ET CONVERSION EN IMAGE BINAIRE

6. Analyse des acquisitions

L'observation des bactéries au microscope confocal à balayage laser a révélé deux organisations bactériennes distinctes (figure 15):

- bactéries en biofilms, petits agrégats ou chaînettes
- bactéries isolées.

L'espacement entre les slices et la présence de biofilms a nécessité une analyse et un comptage des bactéries en trois dimensions, à l'aide du plugin 3D Object Counter (54). Celui-ci permet de segmenter les objets (bactéries isolées ou agrégats) dans les trois dimensions de l'espace et de mesurer leur volume en pixel ou μm .

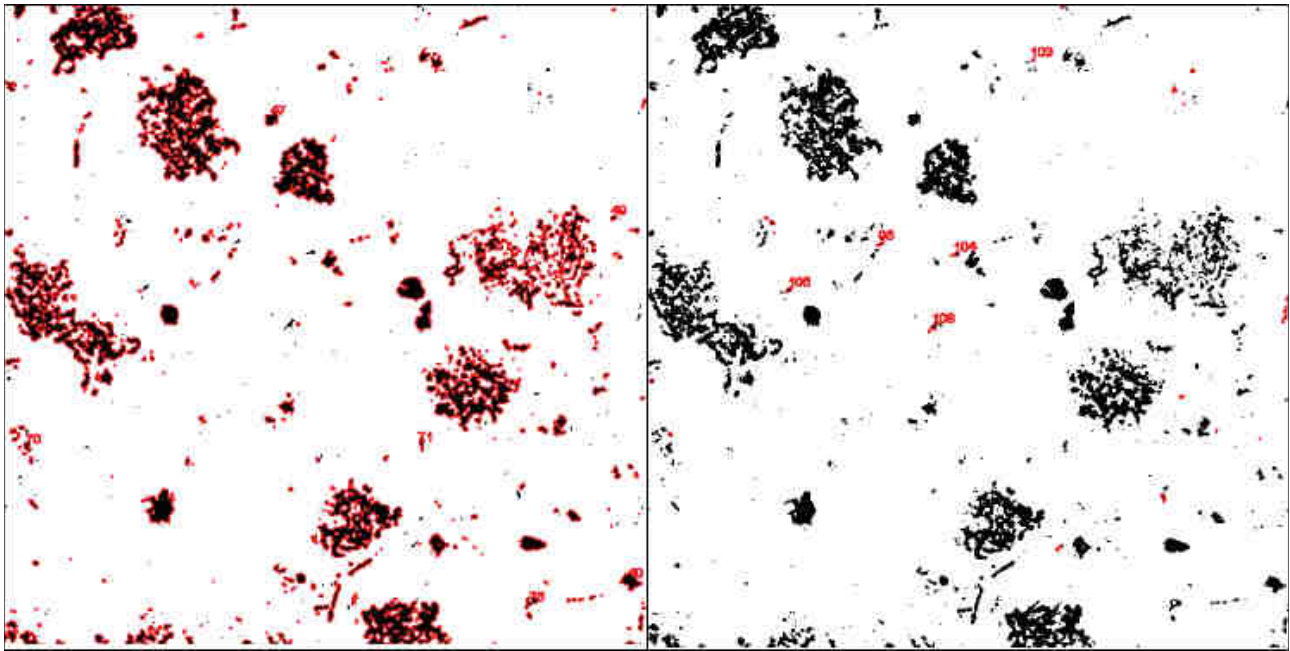


FIGURE 15 : IMAGES BINAIRE 2D (SLICE 25/28) DE G-AENIAL ANTERIOR POLI PAR ENAMEL PLUS SHINY (N°1)

Ainsi deux populations distinctes ont été comptabilisées : les bactéries organisées en agrégats et les bactéries isolées à la surface de l'échantillon. Pour réaliser cette distinction, un intervalle de taille a été estimé pour chaque population à partir du volume moyen de *S. mutans*, lui-même déterminé à la surface de wafer de silicium par 3D OC. Ce volume moyen a été calculé sur Excel en effectuant la moyenne du volume des objets comptés par 3D OC, en excluant les objets de grande taille. Ainsi, les objets dont la taille est comprise entre le double et la moitié du volume moyen ont été comptabilisés comme bactéries isolées. Les objets restants, et dont la taille est supérieure à cet intervalle, correspondent aux biofilms. Le nombre de bactéries composant ces amas a été obtenu en divisant le volume de l'agrégat par le volume moyen d'une bactérie en voxel.

F. Analyse statistique

Les résultats de profilométrie optique et les comptages bactériens ont été compilés sur Excel. Les bactéries dénombrées à la surface des échantillons ont été converties en nombre par mm^2 . L'ensemble des résultats a été statistiquement analysé grâce au logiciel SPSS statistics (Statistical Package for the Social Sciences, IBM), au moyen d'une

analyse de variance multivariée à deux facteurs (MANOVA factorielle). Un modèle linéaire général a été utilisé et le seuil de significativité a été fixé à 0,5% après ajustement de Bonferroni pour les comparaisons multiples.

VI. Résultats

Les statistiques sont l'ensemble des méthodes permettant de décrire et d'analyser les données recueillies. L'analyse statistique utilisée pour l'interprétation des observations se décompose en deux parties : les statistiques descriptives et les statistiques inférentielles. Les statistiques descriptives nous permettent de résumer et présenter les données recueillies, tandis que les statistiques inférentielles généralisent ou étendent les conclusions observées à l'ensemble d'une population.

A. Analyse de la rugosité de surface : étude comparée des systèmes de polissage

En raison de la disponibilité des matériaux, une seule résine composite a été sélectionnée pour la comparaison de l'ensemble des polissoirs décrits dans le tableau 8. Les valeurs moyennes de Ra du composite G-aenial anterior, après polissage à l'aide de différents systèmes, ont été analysées par statistiques descriptives et interférentielles. L'interprétation des résultats est basée sur l'analyse de 45 mesures.

1. Statistiques descriptives

Les statistiques descriptives permettent de synthétiser l'information contenue dans une série statistique et de suggérer des hypothèses relatives à la population dont est issu l'échantillon. Les principaux outils utilisés sont des tableaux, des graphiques ou des indicateurs (moyenne, etc.).

Les valeurs moyennes de Ra et les déviations standards, mesurées à la surface des échantillons de G-aenial anterior, sont répertoriées dans un tableau comparatif des systèmes de polissage (tableau 5).

Système de polissage	Moyenne	Ecart-type	N
P600	0,8199	0,22300	6
KompoLine	0,2110	0,00633	6
Enamel Plus Shiny	0,1605	0,02805	6
Sof-Lex	0,2169	0,07671	9
Compo Système	0,2777	0,05400	6
Maximus	0,1194	0,02572	6
Twist Dia	0,3621	0,01728	6
Total	0,3035	0,23301	45

TABLEAU 5 : TABLEAU DESCRIPTIF DES VALEURS DE RA (EN μm) OBTENUES POUR G-AENIAL ANTERIOR POLI PAR DIFFERENTS SYSTEMES

Les images tridimensionnelles représentatives des surfaces de G-aenial anterior, polies respectivement par les sept options de polissage, sont illustrées dans la figure 16. La rugosité de surface est représentée par les variations de couleurs correspondant à l'échelle d'intensité de pixels. Les creux à la surface des échantillons sont indiqués en noir tandis que la couleur des pics varie du brun au jaune selon leur hauteur en μm . Le polissage P600 a généré la surface la plus rugueuse avec la variation d'hauteur des pics et creux la plus importante. Les surfaces les plus lisses sont visibles après polissage par les systèmes Maximus (Kenda), Sof-Lex discs (3M Espe) et Enamel Plus Shiny (Micerium).

La distribution des données est également visible sur les graphiques 1 et 2. Ce sont des graphiques de type boîte à moustaches (box plot) permettant de comparer un même caractère entre plusieurs populations. Dans notre cas, le paramètre Ra de la rugosité de surface est comparé entre les différents polissages. La boîte à moustaches comprend les valeurs extrêmes (minimum et maximum) à ses extrémités et un rectangle, allant du premier au troisième quartile, qui est divisé par la médiane. Le premier quartile est la valeur de la série qui sépare les 25% inférieurs des données, alors que le troisième quartile est la valeur (75%) séparant les 25% supérieurs des données. La médiane quant

à elle divise l'ensemble des valeurs en deux parties égales. Pour finir, les valeurs éloignées sont symbolisées par un cercle et les valeurs extrêmes par une étoile.

D'après le graphique 1, le polissage P600 a produit les valeurs Ra les plus élevées. Ces valeurs sont également les plus dispersées avec une médiane située à 0,81 μm . Le second graphique permet de visualiser avec plus de précision la dispersion des valeurs Ra obtenues après utilisation des autres systèmes de polissage. Ainsi, les valeurs les plus faibles ont été mesurées sur les échantillons polis par le mono-polissoir Maximus (Kenda) dont la valeur médiane est 0,12 μm . Les valeurs Ra à la surface des échantillons polis par le kit Enamel Plus Shiny (Micerium), les disques papiers Sof-Lex (3M Espe) et les bi-polissoirs KompoLine (Komet) sont relativement proches. Enamel Plus Shiny semble toutefois plus performant avec une médiane à 0,15 μm , suivi par Sof-Lex dont la médiane est à 0,20 μm . Ce dernier présente toutefois la boîte à moustache la plus plate, synonyme d'une grande répétabilité des résultats, donc par extension peu opérateur dépendante.

La valeur seuil de $R_a=0,2 \mu\text{m}$ est ici atteinte pour tous les systèmes de polissage à l'exception du système à trois polissoirs (compo system, Komet) et des disques (Twist Dia, Kuraray).

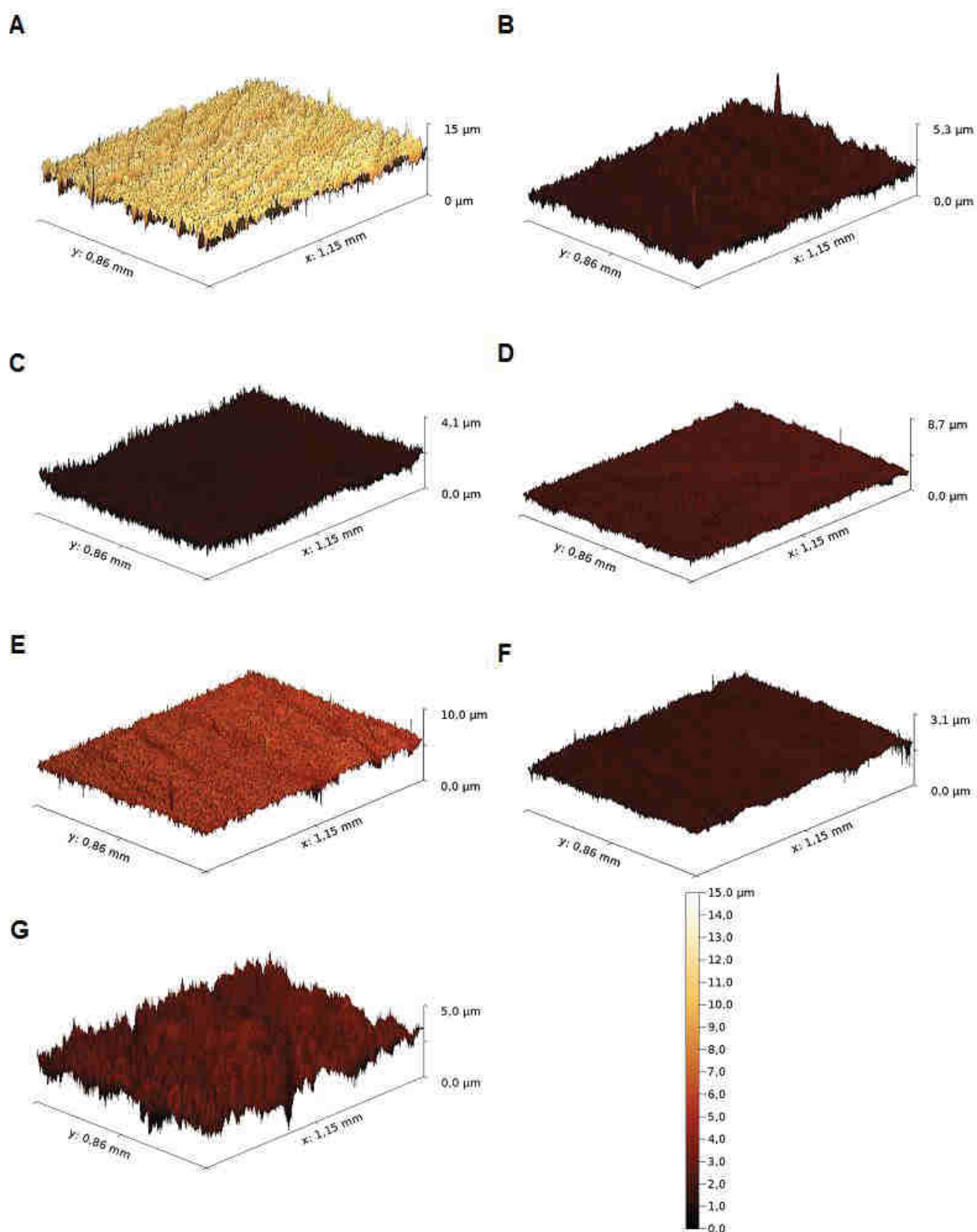
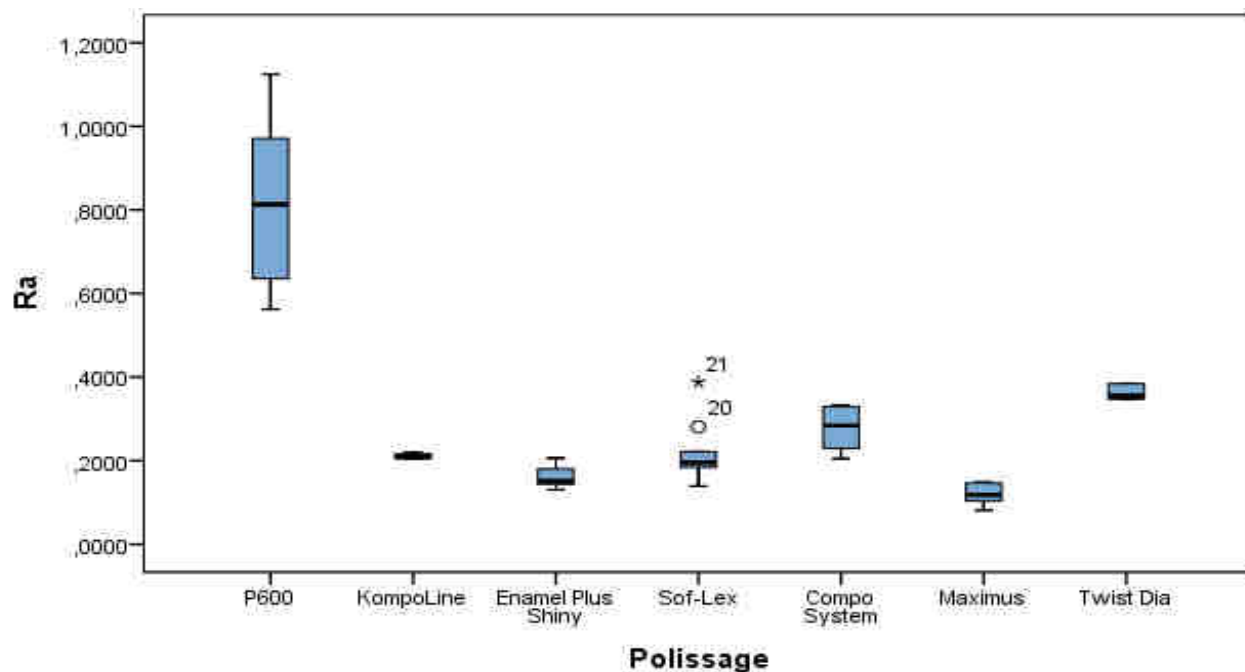
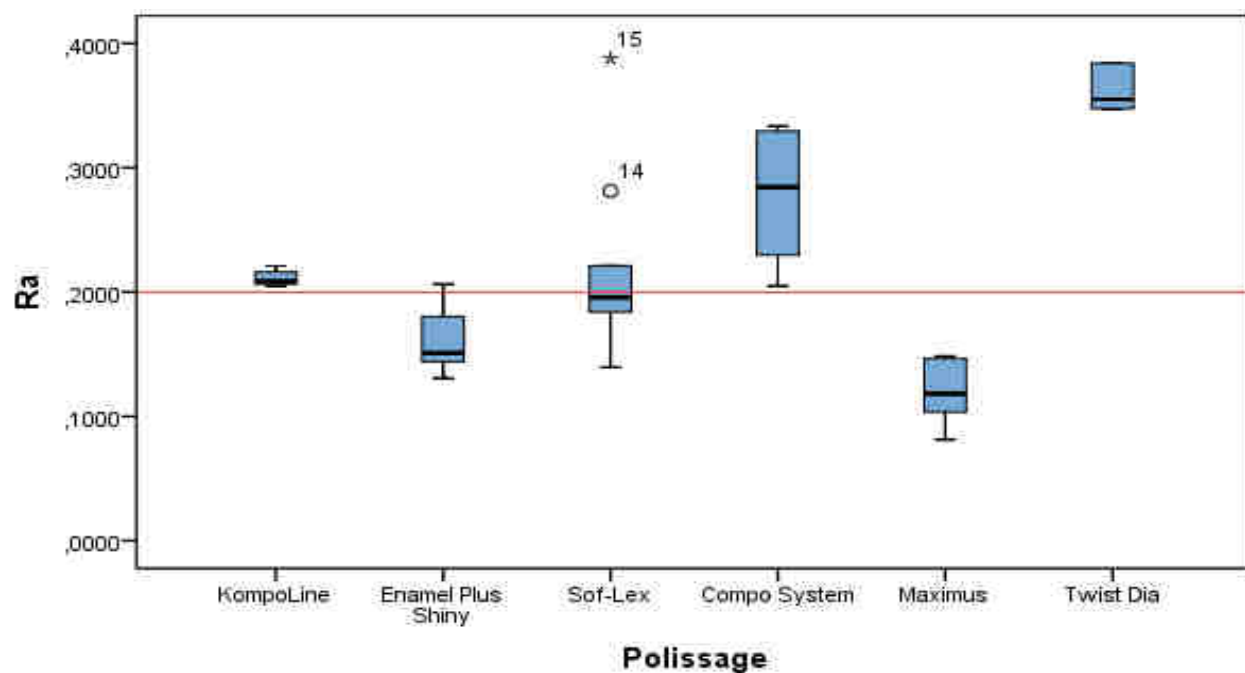


FIGURE 16 : VUES 3D DES SURFACES G-AENIAL ANTERIOR POLIES PAR - A. P600. B. KOMPOLINE. C. KIT ENAMEL PLUS SHINY. D. DISQUES SOF-LEX. E. COMPOSYSYSTEM. F. MAXIMUS. G. TWIST DIA. ECHELLE D'INTENSITE DE PIXELS.



GRAPHIQUE 1 : COMPARAISON DES VALEURS RA (EN μm) A LA SURFACE DE G-AENIAL ANTERIOR (GC) ENTRE LES DIFFERENTS SYSTEMES DE POLISSAGE. NB : * ET ° REPRESENTENT DES VALEURS ABERRANTES MESUREES.



GRAPHIQUE 2 : COMPARAISON DES VALEURS RA (EN μm) DE G-AENIAL ANTERIOR ENTRE LES DIFFERENTS POLISSAGE (SANS LE CONTROLE P600 EQUIVALENT D'UNE FINITION BAGUE JAUNE). LA HAUTEUR DES BOITES CARACTERISEE PAR LES VALEURS MAXIMALE ET MINIMALE PERMET AUSSI DE CARACTERISER LA VARIABILITE DES RESULTATS ET PAR EXTENSION LE CARACTERE OPERATEUR-DEPENDANT DU SYSTEME DE POLISSAGE.

2. Statistiques analytiques

Un test statistique (ou test d'hypothèse) est une méthode permettant, à partir des observations d'un ou plusieurs échantillons d'une population, d'accepter ou de rejeter avec un certain risque d'erreur une hypothèse portant sur la population. Il s'agit donc d'une analyse plus objective des observations que l'analyse graphique.

Dans notre étude, le test d'égalité des variances de Levene, testant l'hypothèse nulle que la variance des erreurs de la variable dépendante Ra est égale sur les différents groupes de polissage, est significatif ($p < 0,05$). Par conséquent, l'hypothèse d'homogénéité des variances est rejetée. Compte tenu du faible nombre d'observations, les résultats ont été plus judicieusement analysés par le test non-paramétrique de Kruskal-Wallis, au moyen de comparaisons par paire.

Les tests non paramétriques transforment les données quantitatives en rangs et élargissent le champ d'application des procédures statistiques. L'appellation test des rangs est souvent employée. Dans le test de Kruskal-Wallis, le rang moyen de chaque population est utilisé. Pour ce faire, chaque observation est remplacée par son rang dans la suite ordonnée de toutes les valeurs. Le rang moyen d'une population est la moyenne des rangs occupés dans le classement général par la série de données. Les rangs moyens correspondant à chaque système de polissage sont représentés sur le graphique en radar (graphique 3). L'hypothèse statistique est une hypothèse nulle pour laquelle tous les échantillons proviennent de la même population, c'est-à-dire à dire que le rang moyen de chaque polissage est proche du rang moyen théorique. Or, le résultat du test de Kruskal-Wallis est significatif, par conséquent la distribution des données n'est pas identique sur l'ensemble des polissages. Les résultats du test multiple de comparaisons par paire sont rapportés dans le tableau 6. Les différents systèmes de polissage sont comparés deux à deux sous l'hypothèse nulle que la distribution de l'échantillon 1 et de l'échantillon 2 soient identiques. Des différences significatives ($p < 0,05$), surlignées en jaune sur le tableau 6, ont été mesurées entre les différents systèmes. Ces différences significatives sont également représentées sur le graphique en radar (figure 14) par les lignes jaunes. Les polissoirs Maximus (Kenda) et le kit Enamel Plus Shiny (Micerium) ont les valeurs moyennes Ra les plus basses et présentent une différence significative

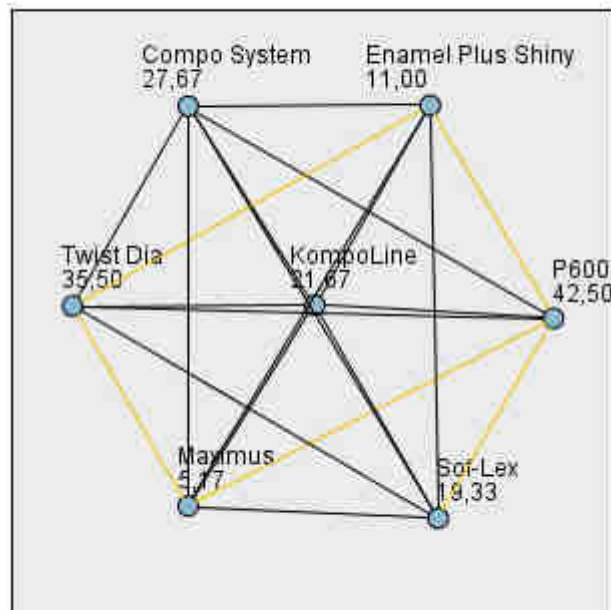
($p < 0,05$) avec les surfaces polis par Twist-Dia (Kuraray) et par les disques P600. Les surfaces polies par Sof-Lex discs (3M Espe) sont également significativement différentes ($p < 0,05$) de celles polies par les disques P600, mais aucune différence significative n'a été observée entre les autres systèmes de polissage.

Echantillon1-Echantillon2	Statistique de test	Erreur standard	Std. Statistique de test	Sig.	Sig.ajus.
Maximus-Enamel Plus Shiny	5,833	7,582	,769	,442	1,000
Maximus-Sof-Lex	14,167	6,922	2,047	,041	,854
Maximus-KompoLine	16,500	7,582	2,176	,030	,620
Maximus-Compo System	22,500	7,582	2,968	,003	,063
Maximus-Twist Dia	-30,333	7,582	-4,001	,000	,001
Maximus-P600	37,333	7,582	4,924	,000	,000
Enamel Plus Shiny-Sof-Lex	-8,333	6,922	-1,204	,229	1,000
Enamel Plus Shiny-KompoLine	10,667	7,582	1,407	,159	1,000
Enamel Plus Shiny-Compo System	-16,667	7,582	-2,198	,028	,587
Enamel Plus Shiny-Twist Dia	-24,500	7,582	-3,231	,001	,026
Enamel Plus Shiny-P600	31,500	7,582	4,155	,000	,001
Sof-Lex-KompoLine	2,333	6,922	,337	,736	1,000
Sof-Lex-Compo System	-8,333	6,922	-1,204	,229	1,000
Sof-Lex-Twist Dia	-16,167	6,922	-2,336	,020	,410
Sof-Lex-P600	23,167	6,922	3,347	,001	,017
KompoLine-Compo System	-6,000	7,582	-,791	,429	1,000
KompoLine-Twist Dia	-13,833	7,582	-1,824	,068	1,000
KompoLine-P600	20,833	7,582	2,748	,006	,126
Compo System-Twist Dia	-7,833	7,582	-1,033	,302	1,000
Compo System-P600	14,833	7,582	1,956	,050	1,000
Twist Dia-P600	7,000	7,582	,923	,356	1,000

Chaque ligne teste l'hypothèse nulle que les distributions de l'échantillon 1 et de l'échantillon 2 sont identiques.
Les significations asymptotiques (test bilatéraux) sont affichées. Le niveau de signification est ,05.

TABLEAU 6 : COMPARAISONS PAR PAIRE DES SYSTEMES DE POLISSAGE

Comparaisons par paire de Polissage



Chaque nœud affiche le rang moyen de Polissage.

GRAPHIQUE 3 : RANGS MOYENS DE CHAQUE SYSTEME DE POLISSAGE

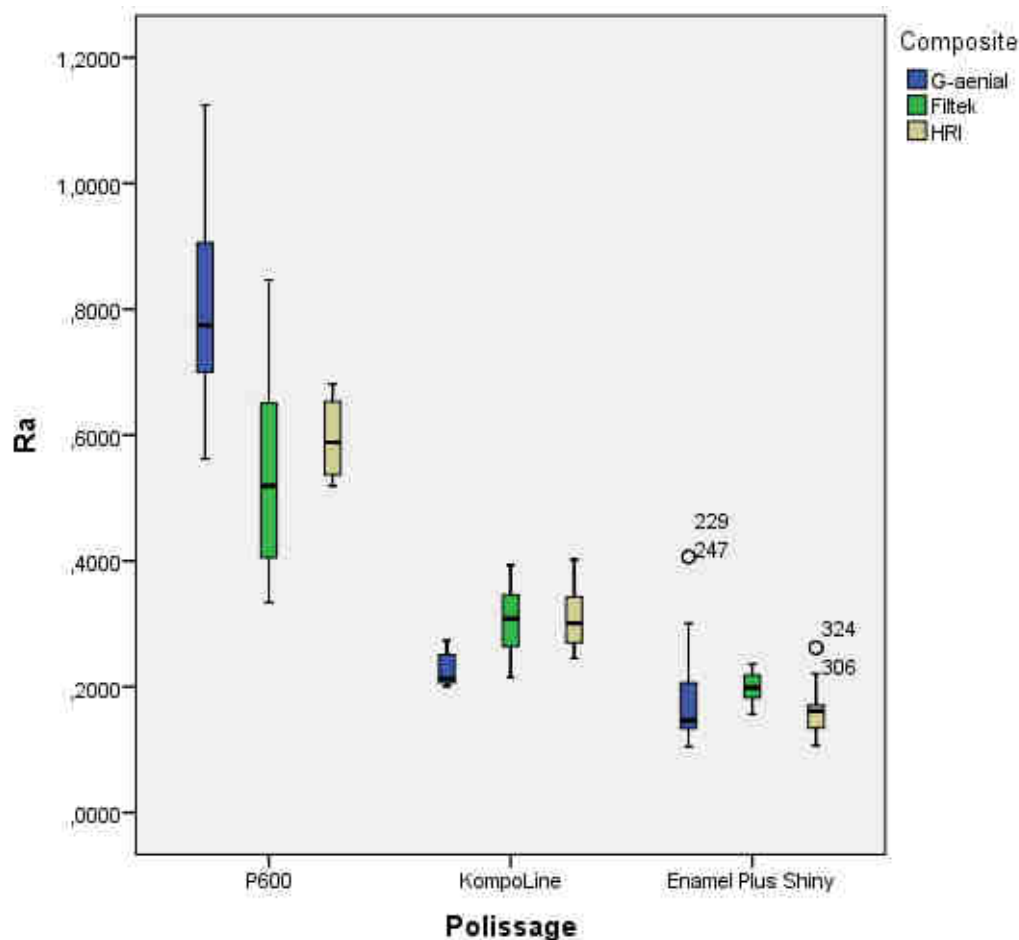
B. Analyse de la rugosité de surface et de l'adhésion bactérienne

1. Statistiques descriptives

Les valeurs moyennes et écart-types des variables *Ra*, *bactéries en biofilm* et *bactéries isolées* par composite et dispositif de polissage sont reportés dans le tableau 7. La distribution de ces valeurs est visualisable sur le graphique en boîte à moustache (graphique 4) et les diagrammes à bâtons (graphique 5). Une analyse de variance multivariée à deux facteurs (MANOVA factorielle) a été menée afin de tester l'effet des composites et des systèmes de polissage, ainsi que leur interaction sur une combinaison de plusieurs variables dépendantes.

Composite	Polissage	Ra		Bactéries en biofilm		Bactéries isolées	
		Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type
G-aenial	P600	0,815	0,149	2,47E+06	8,58E+05	5,34E+04	1,67E+04
	KompoLine	0,226	0,025	1,61E+06	7,65E+05	8,78E+04	3,60E+04
	Enamel Plus Shiny	0,179	0,074	1,45E+06	7,46E+05	1,02E+05	5,26E+04
	Total	0,407	0,306	1,85E+06	9,04E+05	8,12E+04	4,29E+04
Filtek	P600	0,534	0,155	2,73E+06	4,77E+05	2,49E+04	6,12E+03
	KompoLine	0,306	0,050	1,85E+06	6,22E+05	4,86E+04	1,18E+04
	Enamel Plus Shiny	0,199	0,022	1,25E+06	5,03E+05	5,96E+04	1,49E+04
	Total	0,346	0,169	1,94E+06	8,11E+05	4,44E+04	1,85E+04
HRI	P600	0,594	0,055	1,92E+06	8,34E+05	3,01E+04	2,12E+04
	KompoLine	0,306	0,043	1,17E+06	5,92E+05	6,01E+04	2,28E+04
	Enamel Plus Shiny	0,160	0,037	1,01E+06	6,20E+05	6,20E+04	1,99E+04
	Total	0,353	0,187	1,37E+06	7,91E+05	5,08E+04	2,57E+04
Total	P600	0,648	0,176	2,37E+06	8,12E+05	3,61E+04	2,01E+04
	KompoLine	0,279	0,055	1,55E+06	7,16E+05	6,55E+04	3,02E+04
	Enamel Plus Shiny	0,179	0,052	1,24E+06	6,51E+05	7,46E+04	3,86E+04
	Total	0,369	0,230	1,72E+06	8,72E+05	5,88E+04	3,47E+04

TABLEAU 7 : VALEURS MOYENNES ET ECART-TYPES DES VARIABLES DEPENDANTES PAR COMPOSITE ET POLISSAGE



GRAPHIQUE 4 : COMPARAISON DE LA DISTRIBUTION DES VALEURS Ra (EN µM) PAR COMPOSITE ET PAR SYSTEME DE POLISSAGE. LES ° REPRESENTENT DES VALEURS ABERRANTES.

Sur le graphique 4 des différences de rugosité sont observées entre chaque groupe de polissage mais aussi entre chaque composite. Les valeurs Ra les plus élevées sont attribuées au groupe P600, avec une distribution plus étalée que dans les autres groupes. A l'inverse, Enamel Plus Shiny semble être le système de polissage le plus performant. Des valeurs aberrantes ont été mesurées à la surface des échantillons de G-aenial anterior et HRI polis par le kit Enamel Plus Shiny (illustré par les °).

La variabilité des états de surface, selon la composition et le polissage des composites, est également visualisable sur les représentations tridimensionnelles des surfaces obtenues par profilométrie optique (figure 17-19).

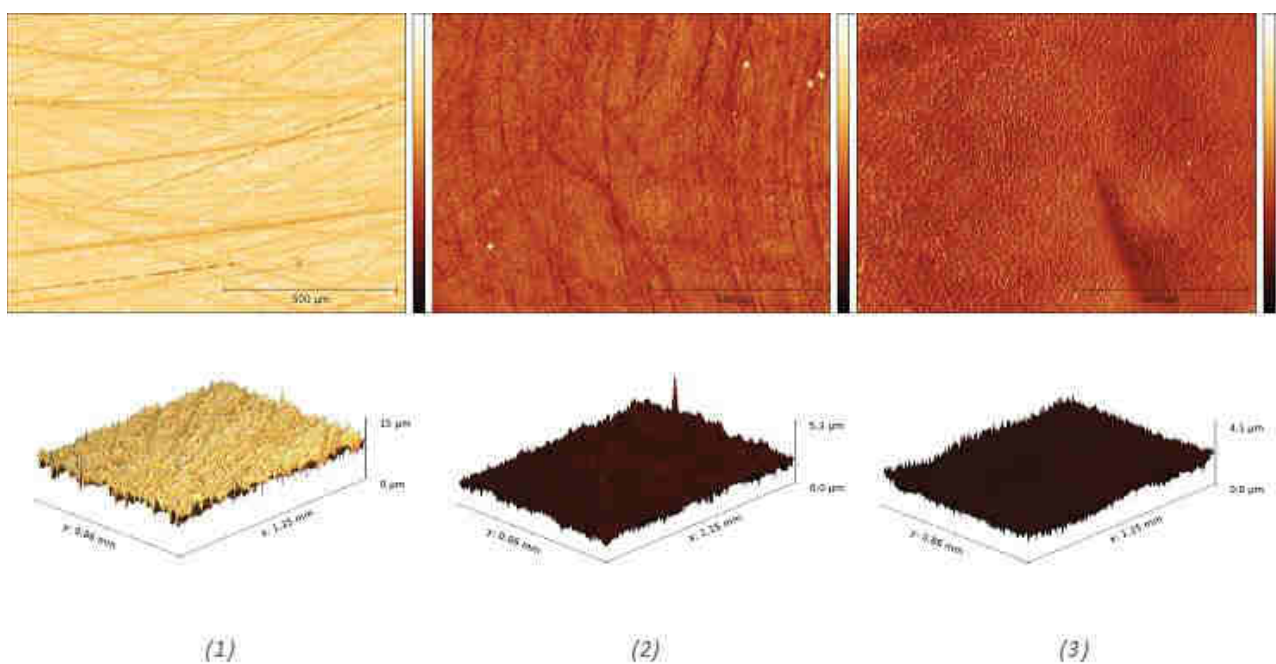


FIGURE 17 : REPRESENTATIONS 3D DES SURFACES DE G-AENIAL ANTERIOR – (1) POLISSAGE P600, (2) KOMPOLINE, (3) KIT ENAMEL PLUS SHINY

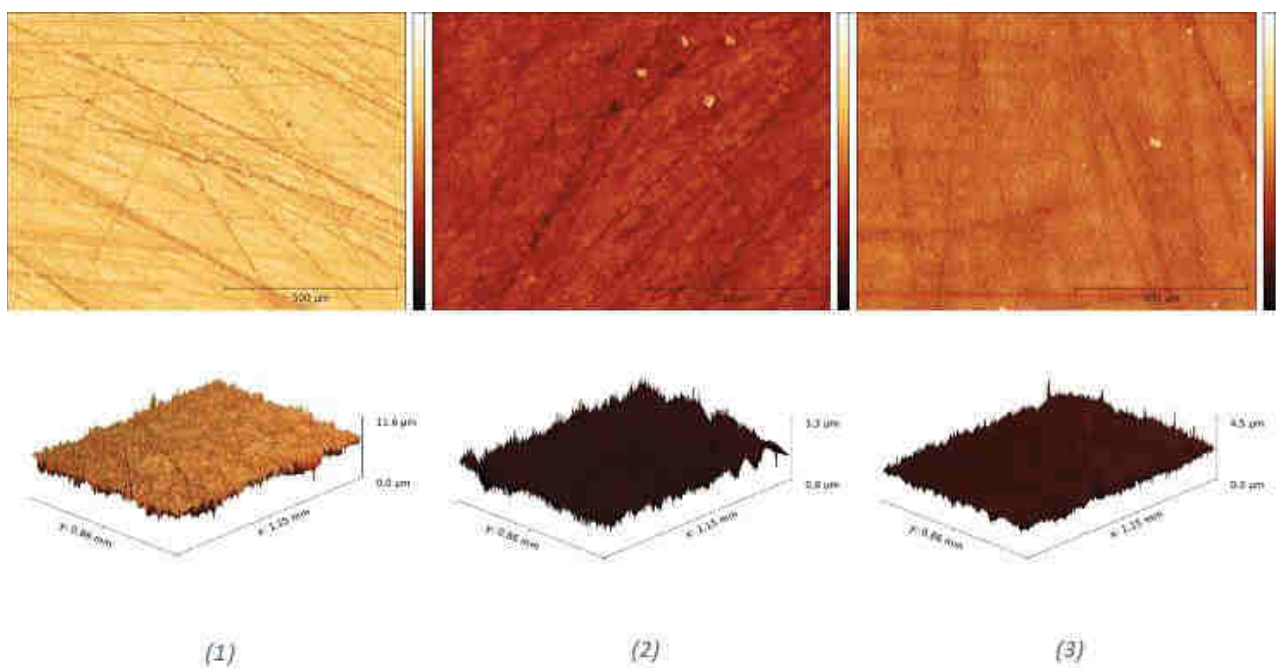


FIGURE 18 : REPRESENTATIONS 3D DES SURFACES DE FILTEK SUPREME XTE – (1) POLISSAGE P600, (2) POLISSOIRS KOMET, (3) KIT ENAMEL PLUS SHINY

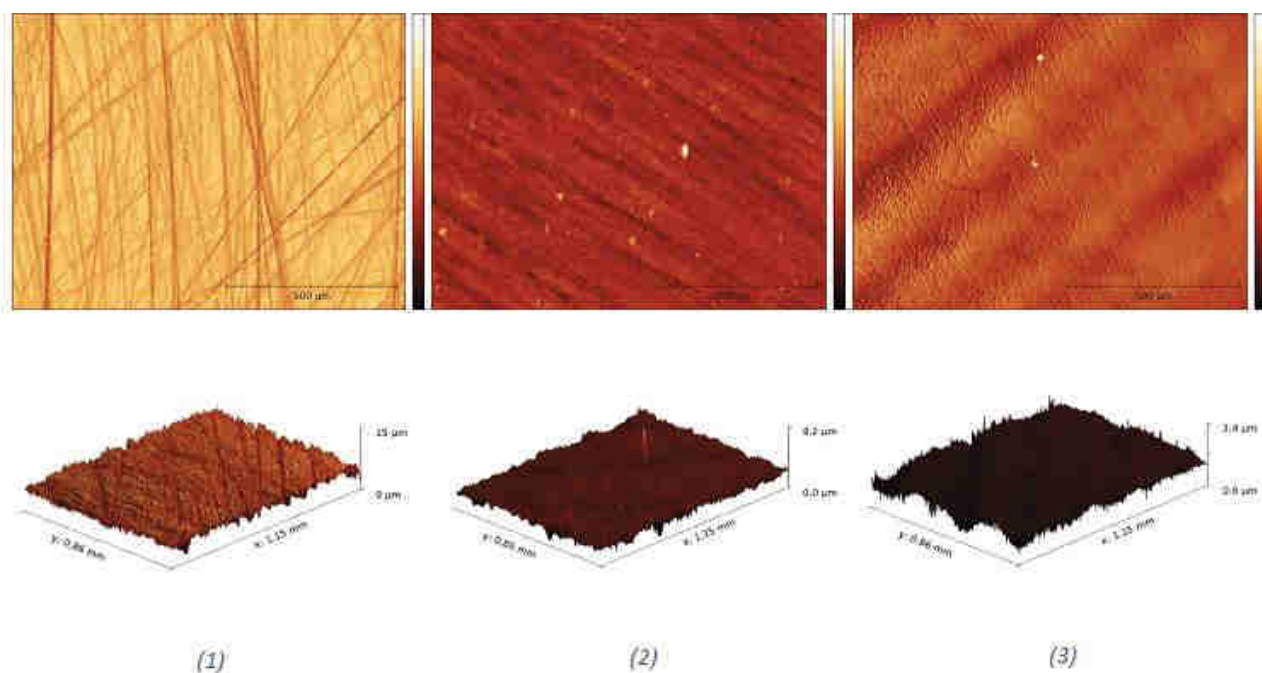
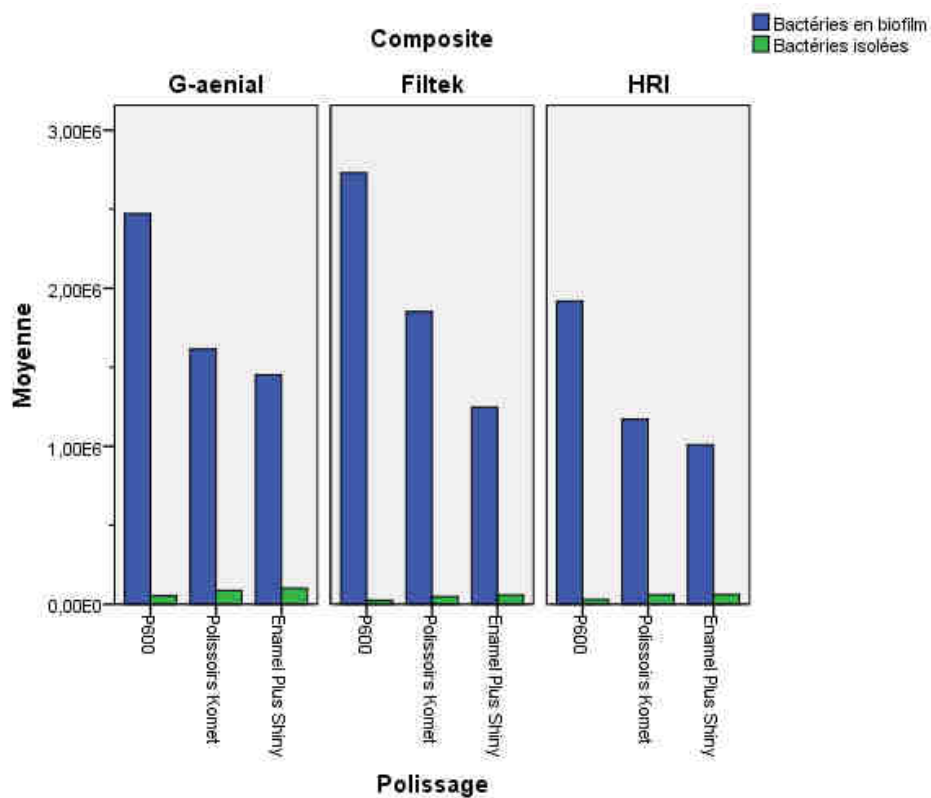


FIGURE 19 : REPRESENTATIONS 3D DES SURFACES DE HRI – (1) POLISSAGE P600, (2) KOMPOLINE, (3) KIT ENAMEL PLUS SHINY



GRAPHIQUE 5 : NOMBRES MOYENS DE BACTERIES PAR COMPOSITE ET POLISSAGE

Le graphique 5 montre que le nombre moyen de bactéries adhérentes est nettement supérieur à la surface des échantillons polis par le disque P600. Le kit Enamel Plus Shiny se distingue des autres polissages avec un nombre inférieur de bactéries adhérentes par mm². De la même manière, les surfaces des échantillons de HRI sont les moins colonisées parmi les trois composites testés.

2. Statistiques inférentielles

Avant de débiter la MANOVA, une analyse de corrélation des variables dépendantes a été menée sur SPSS (tableau 8). Celle-ci a abouti aux conclusions suivantes :

- Les trois variables sont modérément corrélées,
- Il existe une corrélation positive entre les valeurs de Ra et le nombre de bactéries en agrégat ($p < 0,001$),
- Il existe une corrélation négative entre les valeurs Ra et le nombre de bactéries isolées, ainsi qu'entre les deux populations bactériennes ($p < 0,001$).

Corrélations				
		Ra	Bactéries en bio-film	Bactéries isolées
Ra	Corrélation de Pearson	1	,467**	-,295**
	Sig. (bilatérale)		,000	,000
	N	324	324	324
Bactéries en biofilm	Corrélation de Pearson	,467**	1	-,356**
	Sig. (bilatérale)	,000		,000
	N	324	324	324
Bactéries isolées	Corrélation de Pearson	-,295**	-,356**	1

	Sig. (bilatérale)	,000	,000	
	N	324	324	324
**. La corrélation est significative au niveau 0.01 (bilatéral).				

TABLEAU 8 : TESTS STATISTIQUES DE CORRELATION SPSS

D'après les tests multivariés (annexe A) obtenus par l'analyse de variance multivariée, l'effet des composites et des systèmes de polissage sur la combinaison des variables dépendantes est significatif ($p < 0,001$). Il existe également une interaction significative entre les composites et les polissages ($p < 0,001$). Les tests univariés (ANOVA) (annexe B) mettent en évidence une différence significative entre les différents composites et les différents systèmes de polissage entre eux sur les trois variables dépendantes ($p < 0,001$). Leur interaction est significative sur la variable Ra ($p < 0,001$) et nécessite l'analyse de leurs effets simples selon un modèle emboîté. Ce modèle consiste à comparer deux systèmes de polissages lorsqu'ils sont utilisés sur les mêmes composites ou deux composites polis de la même manière.

D'après les comparaisons par paire (annexe C), les surfaces les plus lisses ont été obtenues lorsque les composites ont été polis par le kit Enamel Plus Shiny ($p < 0,001$). Cependant il n'existe aucune différence significative de rugosité entre les surfaces de G-aenial polies par le kit Enamel Plus Shiny et le kit KompoLine ($p > 0,05$). A l'opposé, les surfaces les plus rugueuses ont été mesurées après polissage au disque P600 ($p < 0,001$). Par ailleurs les valeurs de rugosité les plus faibles, après polissage au disque P600, ont été attribuées à Filtek Supreme XTE ($p < 0,05$) avec un Ra moyen de $0,53 \mu\text{m}$. G-aenial a été le composite le plus performant après utilisation des bi-polissoirs KompoLine ($p < 0,001$) (Ra moyen de $0,23 \mu\text{m}$), tandis qu'aucune différence significative n'a été mesurée entre les trois composites polis par le kit Enamel Plus Shiny ($p > 0,05$).

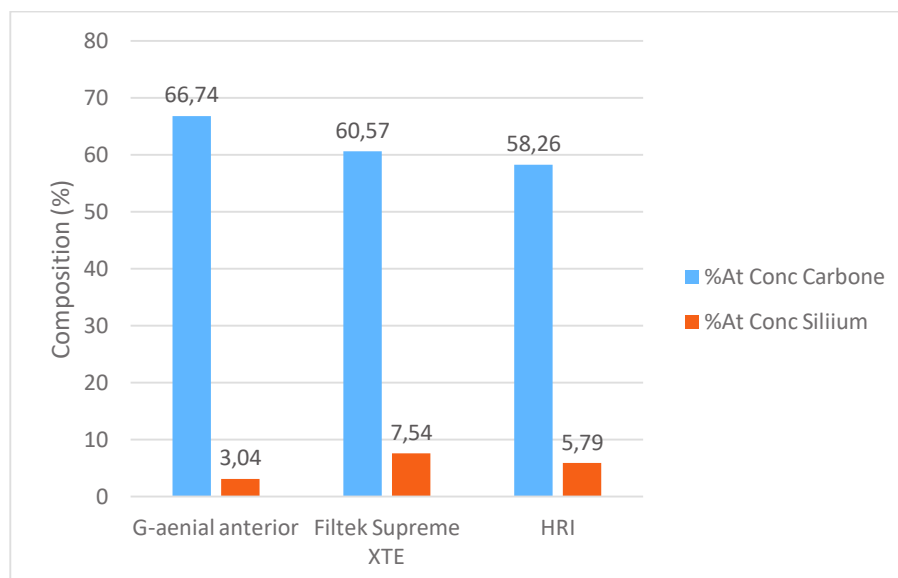
L'absence d'interaction significative entre les composites et les polissages sur le nombre de bactéries adhérentes, nous autorise à étudier les effets principaux de chaque facteur sur chaque variable dépendante (annexe D-E). Les comparaisons multiples indiquent que le nombre de bactéries en agrégat est significativement différent à la surface de HRI ($p < 0,001$), alors que G-aenial et Filtek présentent un nombre supérieur et similaire de bactéries adhérentes en amas à leurs surfaces ($p > 0,05$). Concernant les systèmes de

polissage, le nombre de bactéries en agrégat à la surface des échantillons est statistiquement différent entre chaque polissage ($p < 0,05$). Les meilleurs résultats avec un minimum d'adhésion bactérienne ont été obtenus respectivement après utilisation du kit Enamel Plus Shiny, de KompoLine et du polissage au disque P600.

A l'inverse, le minimum de bactéries isolées a été comptabilisé à la surface des échantillons de Filtek Supreme XTE et HRI polis par le disque P600. Les surfaces polies par le kit Enamel Plus Shiny exhibaient davantage de bactéries isolées qu'après utilisation des bi-polissoirs KompoLine ($p < 0,001$).

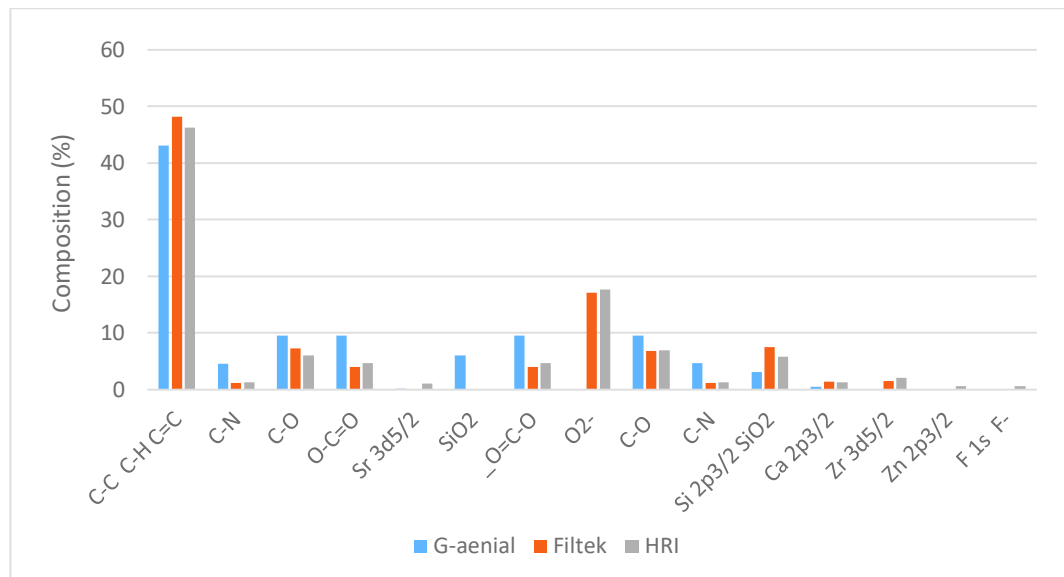
C. Analyse de la chimie de surface par XPS

Un échantillon de chaque composite, poli au disque en carbure de silicium P600, a été sélectionné aléatoirement pour l'analyse par spectroscopie des photoélectrons. Les résultats sont détaillés en annexe. Cette analyse ne permet pas de généraliser les résultats obtenus à l'ensemble de la population, mais on observe certaines tendances illustrées sur les graphiques 6 et 7.



GRAPHIQUE 6 : COMPARAISON ENTRE LE POURCENTAGE DE CARBONE ET SILICIUM DES DIFFERENTS COMPOSITES

Le graphique 6 a été réalisé en additionnant séparément les pourcentages de concentration atomique de carbone et de silicium. Les composites G-aenial et Filtek présentent davantage d'atomes de carbone à leur surface (respectivement 66,7% et 60,6% en concentration atomique) que HRI (58,26%).



GRAPHIQUE 7 : POURCENTAGES EN CONCENTRATION ATOMIQUE DES DIFFERENTS GROUPEMENTS FONCTIONNELS PAR COMPOSITE

L'histogramme 7 représente plus en détails les différents groupements fonctionnels situés à la surface des composites après polissage. La composition de la phase organique est relativement similaire entre les différents composites tandis qu'ils se distinguent par leur phase inorganique. Seul HRI présente des atomes de fluor et de zinc à la surface de l'échantillon.

VII. Discussion

Les polymères employés dans cette étude ont été sélectionnés selon leur composition afin de représenter les différentes classes de résines composites couramment utilisées par les chirurgiens-dentistes. La phase de finition, inhérente à la réalisation d'une restauration directe en résine composite, a été simulée sur la totalité des échantillons au moyen de disques en carbure de silicium de granulométries décroissantes. Ces granulométries correspondent aux fraises diamantées de bagues vertes, rouges et jaunes afin d'obtenir une finition équivalente à celle obtenue en clinique après le dégrossissage et modelage de la restauration.

L'état de surface des échantillons de résine composite a été évalué quantitativement grâce à la profilométrie optique à lumière blanche. L'attachement et la formation des biofilms de *Streptococcus mutans* à la surface des échantillons ont été observés par microscopie confocale. La concentration de *S. mutans* utilisée dans cette étude était d'environ $1,4 \times 10^5$ CFU/mL. Cette valeur correspond à un risque modéré de nouvelles caries causées par *S. mutans* (55, 56). Plusieurs mesures ont été réalisées à la surface de chaque échantillon afin d'obtenir un jeu de données suffisamment grand pour la réalisation de statistiques inférentielles. L'analyse de la variance à deux facteurs et multivariée nous a permis d'étudier les variations de rugosité et d'adhésion bactérienne en fonction des composites et dispositifs de polissage utilisés.

Dans la littérature, l'aptitude au polissage d'une résine composite dépend de la fraction, de la dimension et de la forme des particules minérales qui la composent (2, 6, 48-50, 57, 58). Les particules de fine taille et de forme arrondie ont un meilleur emboîtement que les particules anguleuses de grande taille (2, 11). La réduction de l'espace entre ces particules permet de protéger la matrice des phénomènes d'usure et de limiter l'apparition de particules saillantes à la surface des matériaux (6, 59). Ainsi les surfaces des composites à nanoparticules sont plus lisses que celles des composites hybrides qui possèdent des charges de plus grande dimension, et dont l'exfoliation laisse une surface plus rugueuse (6, 59).

Dans notre étude, il n'y a pas de corrélation positive entre la rugosité et la taille des particules. Les nanocomposites n'étaient pas systématiquement plus performants que le

composite microhybride, puisque celui-ci a été le plus lisse après utilisation du système en deux étapes de Komet ($p < 0,05$). Cette observation peut résulter de l'interaction significative entre les composites et les systèmes de polissage ($p < 0,05$) car l'aptitude au polissage d'un composite dépend de sa composition, mais aussi des particules abrasives et des procédures de polissage utilisées (47, 50, 58). Ces résultats concordent avec les observations de M.R.Kaizer *et al.* (58) au travers d'une revue de la littérature, comparant plusieurs études *in-vitro* sur la rugosité de surface des composites nanochargés et microhybrides. Aucune évidence solide n'a pu prouver que les nanocomposites ont une rugosité inférieure à celle des composites microhybrides après finition-polissage. Mais il est apparu clairement que les performances des matériaux sont affectées par les différents systèmes de polissage. C'est pourquoi dans notre étude, les dispositifs de polissage ont chacun généré des valeurs de rugosité différentes sur un même composite, excepté pour G-aenial anterior.

Concernant les nanocomposites, Filtek Supreme XTE présentait des surfaces sensiblement plus lisses que celles de HRI après polissage au disque P600. Ceci est en accord avec les résultats observés dans certaines études et peut être lié à la composition particulière de Filtek Supreme XTE (59). En effet c'est un composite nanochargé, dont les charges sont distribuées de deux façons au sein de la matrice : en particules isolées et dispersées de silice (20 nm) et zircone (4 à 11 nm) mais aussi sous forme de clusters. Les nanoclusters sont des grappes d'un diamètre de 0,6 à 10 μm de silice/zircone agglomérées. Les phénomènes d'usure et polissage à la surface de ces matériaux se produisent en arrachant une nanoparticule d'un nanocluster et non en arrachant le cluster entier (6). La surface obtenue est donc plus lisse que celle d'un composite hybride dont les particules de verre sont plus anguleuses et de plus grand diamètre (59).

Malgré tout, aucune différence significative n'a été trouvée entre les trois composites après polissage par le kit Enamel Plus Shiny. C'est également le système de polissage ayant produit les surfaces les plus lisses sur l'ensemble des composites ($p < 0,05$), avec une faible dispersion des valeurs de rugosité. Les bi-polissoirs Komet, quant à eux, ont obtenu des résultats équivalents après utilisation sur le composite G-aenial anterior, mais le polissage des nanocomposites a été moins efficace, avec des

valeurs de Ra intermédiaires. A l'opposé, les surfaces les plus rugueuses ont été mesurées après le polissage aux disques en carbure de silicium ($p < 0,05$).

La comparaison des résultats obtenus dans cette étude à ceux de la littérature est compliquée en raison des différents matériaux employés. Peu d'informations sont disponibles sur l'efficacité des systèmes de polissage à « trois-corps » comme Enamel Plus Shiny. De plus, la variabilité des protocoles expérimentaux (composites, systèmes de polissage, systèmes de mesure) limitent les comparaisons possibles (58).

Dans cette étude, tous les composites polis par les disques en carbure de silicium avaient une rugosité supérieure à $0,3 \mu\text{m}$. Les nanocomposites polis par le système en deux étapes de Komet avaient des rugosités proches de $0,3 \mu\text{m}$. Or, une étude clinique menée par C.S. Jones *et al.* (60) a démontré qu'il existe une valeur-seuil de $0,3 \mu\text{m}$, à partir de laquelle les patients sont capables de détecter la rugosité d'une surface avec la pointe de la langue. Par ailleurs, tous les composites polis par Enamel Plus Shiny avaient une rugosité moyenne inférieure à $0,2 \mu\text{m}$, valeur-seuil de l'adhésion bactérienne initiale rapportée par C.M. Bollen *et al.* (1). Ainsi les rugosités dont les valeurs Ra sont inférieures à ce seuil n'ont plus aucune influence sur l'adhésion bactérienne initiale.

Il existe dans cette étude une corrélation positive entre les valeurs de rugosité et le nombre de bactéries adhérentes. La diminution de la rugosité induit une diminution du nombre de bactéries adhérentes à la surface des échantillons. En effet, il y avait significativement moins de bactéries adhérentes à la surface des composites polis par Enamel Plus Shiny ($p < 0,05$). A contrario, les surfaces les plus colonisées par *Streptococcus mutans* étaient également les plus rugueuses, c'est-à-dire celles polies par les disques en carbure de silicium.

Parmi les composites, seul le nombre de bactéries à la surface de HRI était statistiquement différent des autres composites ($p < 0,05$). Filtek Supreme XTE et G-aenial anterior avaient significativement plus de bactéries à leurs surfaces, mais aucune différence significative n'a été mesurée entre eux. Or la rugosité des nanocomposites est similaire sur deux-tiers des échantillons. Par conséquent, la compréhension des performances de HRI ne peut se limiter à l'étude du paramètre Ra de la rugosité.

La valeur Ra est le paramètre le plus utilisé dans le domaine dentaire pour caractériser la rugosité d'une surface et permettre les comparaisons. Cependant elle ne décrit pas totalement la rugosité de la surface d'un matériau (39). D'autres paramètres d'amplitude et d'espacement devraient être étudiés pour mieux définir la topographie d'une surface et son influence sur l'adhésion bactérienne (61, 62).

Par ailleurs, il est communément admis que l'hydrophobicité d'une surface a un rôle dans l'adhésion bactérienne initiale. Dans l'environnement oral, les surfaces supra-gingivales hydrophobes sont moins colonisées que les surfaces hydrophiles car les flux salivaires détachent plus facilement les bactéries attachées aux matériaux hydrophobes (39). L'impact de l'énergie libre de surface sur la formation des biofilms persiste malgré la présence d'une pellicule salivaire car les propriétés sont transmises à cette pellicule (1, 63). Cependant l'effet de l'énergie libre sur l'adhésion bactérienne est moins important que celui de la rugosité de surface (33).

D'autres propriétés comme la composition chimique d'un matériau influencent également l'attachement des bactéries. Les composites examinés dans cette étude différaient tous les uns des autres par leur composition. L'analyse par XPS nous a permis d'obtenir des informations quantitatives quant à la composition de surface des échantillons. La couche superficielle des composites contenait 58 à 67% d'atomes de carbone liés par des liaisons simples et doubles à d'autres éléments. La plus forte concentration a été mesurée à la surface de G-aenial (66,7%) suivi par Filtek Supreme XTE (60,6%) et HRI (58,3%). Or les atomes de carbone et oxygène sont des constituants de la phase organique. Par conséquent la matrice organique est moins exposée à la surface de HRI.

Des études ont mis en évidence que certains monomères comme le TEGDMA favorisent la croissance bactérienne (64). Le TEGDMA, Bis-GMA et UDMA améliorent plus particulièrement l'activité de la glucosyltransférase des microorganismes cariogènes (64). Les glucosyltransférases sont des enzymes qui synthétisent des polysaccharides extracellulaires (EPS) constituant un facteur de virulence puisqu'ils participent à l'adhésion des bactéries sur les surfaces. De plus, le relargage de monomères laisse à la surface des composites des double-liaisons non liées facilitant l'attachement des bactéries. D'après les informations fournies par les fabricants, les trois polymères contiennent des monomères

d'UDMA et G-aenial anterior est le seul composite à ne pas contenir de Bis-GMA. Filtek Supreme XTE est, quant à lui, composé de monomères de BIS-EMA/TEGDMA/PEGDMA.

Dans une autre étude, A.Ionescu *et al.* (64) ont analysé la surface de quatre résines composites par XPS. Les échantillons étaient polymérisés contre une bande en acétate de cellulose transparente (Mylar strip) et seule la moitié avait été polie manuellement par des papiers de carbure de silicium et une pâte à polir. Les mesures par XPS indiquaient une augmentation du pourcentage de silicium et une diminution de la concentration de carbone à la surface des échantillons polies par rapport au second groupe. Les résultats suggéraient que la diminution du pourcentage de résine matricielle exposée induit une diminution de la formation des biofilms de *S. mutans* à la surface résines composites. Cette conclusion est en accord avec les résultats observés dans notre étude. Ainsi le pourcentage de carbone de HRI peut avoir un impact sur l'adhésion de *S.mutans* mais il n'explique pas la similitude des résultats obtenus entre Filtek Supreme XTE et G-aenial anterior.

Concernant la phase inorganique, les pourcentages en poids des charges contenues dans HRI et Filtek Supreme XTE sont respectivement 80% et 78,5%, d'après les renseignements fournis par les fabricants. L'analyse par XPS nous a également informés que la fraction de particules de silicium exposées à la surface du composite micro-hybride était plus faible que sur les nanocomposites. Parmi ces derniers, Filtek Supreme XTE avait un taux de silicium supérieur à HRI. Néanmoins d'autres éléments atomiques constituant les charges, comme la zircone ou le strontium, sont présents dans les composites. Par ailleurs, des atomes de Zinc et Fluor ont été détectés à la surface de HRI. Ces éléments atomiques ont des propriétés antibactériennes et peuvent expliquer la différence entre l'adhésion bactérienne sur HRI et les autres composites.

Toutefois les résultats de l'analyse par XPS sont à interpréter avec précaution. Les composites ont une matrice résineuse et des charges dont la dureté est différente (2). Ceci rend le polissage difficile et empêche une abrasion homogène du matériau (65). Ainsi lorsque les surfaces sont polies manuellement, elles présentent invariablement une hétérogénéité de surface pour une composition identique. Des études ont également montré que la pression appliquée lors du polissage influence l'état de surface des résines composites. Dans notre cas, les procédures de finition-polissage ont été réalisées par une

seule et même personne sur l'ensemble des échantillons afin de correspondre à la réalité clinique.

Le modèle *in-vitro* adopté dans ce travail a permis d'évaluer l'adhésion de *S.mutans* à pH neutre et en présence d'une pellicule exogène acquise à la surface des échantillons. La composition de la salive artificielle utilisée dans cette étude et décrite par L.Wong et C.H.Sissions (53), permet d'observer de manière réaliste la croissance *in-vitro* des microorganismes. Elle permet de simuler la formation d'une pellicule salivaire ou film de conditionnement à la surface des échantillons. Cette pellicule modifie l'état de surface et entraîne une réduction de la rugosité et influence l'adhésion de *S.mutans*.

Malgré tout, le modèle de développement bactérien utilisé dans cette étude reste une simplification des phénomènes survenant dans la cavité buccale. Il existe dans l'environnement oral des flux salivaires capables de transporter les microorganismes vers les surfaces dures tout en exerçant des forces de cisaillement à la surface des dents et matériaux de reconstitution. Ces forces limitent l'attachement des bactéries et les détachent des surfaces. De plus, la présence d'autres espèces bactériennes influence la formation des biofilms. A. Ionescu *et al.* (66) ont observé des résultats divergents selon le modèle *in-vitro* employé. Dans le cas du modèle mono-espèce et en absence de pellicule salivaire, la composition des charges avait un impact supérieur à la composition de la matrice sur la formation des biofilms. A l'inverse, les monomères présents dans les composites avaient un rôle plus important que les charges lorsqu'un modèle multi-espèces était employé. Les modifications de surface entraînées par la présence d'une pellicule exogène acquise et son rôle sur l'adhésion bactérienne sont encore mal connus. Les comparaisons avec d'autres études sur le sujet sont donc limitées par les différences existantes entre les modèles expérimentaux (pellicule salivaire, flux, espèces bactériennes et matériaux utilisés).

CONCLUSION

L'évolution des matériaux de restauration directe et des techniques de collage a grandement influencé la pratique moderne de l'Odontologie au cours des dernières décennies, avec l'émergence d'une philosophie d'économie tissulaire. En effet, les résines composites sont devenues des matériaux incontournables face à l'amalgame grâce à leurs propriétés biologiques, biomécaniques et esthétiques. Depuis leur apparition dans les années 60 avec la synthèse du Bis-GMA, leur composition a continuellement évolué afin de répondre aux exigences des professionnels de santé et des patients. De nouvelles classes de résines composites sont ainsi apparues au fil du temps, différant par les modifications apportées à la matrice ou bien par le type, la taille et la proportion des charges utilisées. La réduction de la taille des charges et l'augmentation de leur pourcentage au sein des matériaux grâce aux progrès technologiques, ont permis d'améliorer les propriétés notamment mécaniques des composites. Trois grandes classes de résines composites se distinguent : les composites macrochargés, les microchargés et les hybrides. Plus récemment, l'apport de la nanotechnologie a permis l'incorporation de nouveaux composés et de nanoparticules afin d'améliorer l'esthétique, l'état de surface et la résistance à l'usure des matériaux. Ces derniers sont appelés nanocomposites et se décomposent en trois groupes : les nanochargés, les hybrides nanochargés et les hybrides nanochargés complexes.

L'esthétique et la pérennité des restaurations en composites dans le milieu buccal dépendent grandement de la qualité de leur état de surface, en particulier de la rugosité. Cette dernière a un impact biologique majeur puisqu'elle favorise plus ou moins l'adhésion bactérienne et la formation de biofilms, responsables de lésions carieuses et maladies parodontales. La rugosité est classiquement exprimée par le paramètre d'amplitude R_a , dont la valeur de $0,2\ \mu\text{m}$ est le seuil défini dans la littérature, sous lequel la rugosité n'a plus d'influence sur la formation de la plaque dentaire.

A cet effet, les procédures de polissage ont un rôle capital puisqu'elles visent à diminuer la rugosité de surface, et ainsi améliorer la durabilité et l'esthétique des restaurations en termes de brillance. Il existe actuellement un vaste choix de techniques

de polissage (disques abrasifs, fraises diamantées, cupules siliconées, pâtes à polir, ...), à étapes multiples avec des granulométries décroissantes ou en une à deux étapes. Cependant il n'y a aucun consensus quant au système à privilégier car l'aptitude au polissage d'un composite dépend de la synergie d'action entre sa composition et le dispositif de polissage. La taille des particules abrasives, la pression exercée et la vitesse de rotation de l'instrument abrasif, mais également la différence de dureté entre les particules abrasives et les particules de charges influencent la qualité de la surface.

Deux études *in-vitro* sont présentées conjointement dans cet ouvrage et ont pour objectifs :

- d'une part, évaluer l'état de surface d'un composite microhybride en terme de rugosité après polissage par différentes approches techniques ;
- d'autre part, préciser le lien possible entre la rugosité de surface de différents composites (microhybride, nanochargé, hybride nanochargé) après trois polissages distincts (papiers en carbure de silicium, pointes siliconées en deux étapes, pâtes à polir), et sa propension à développer un biofilm.

La rugosité de surfaces des échantillons de résines composites a été mesurée par microscopie 3D, basé sur l'interférométrie en lumière blanche et la microscopie confocale. Le paramètre de rugosité R_a , qui est l'écart moyen arithmétique du profil évalué dans l'axe z , a été choisi afin de caractériser la rugosité de surface.

L'analyse comparative de l'état de surface du composite microhybride G-aenial anterior (GC) après polissage par différentes techniques (papiers en carbure de silicium, disques abrasifs, roues abrasives, pointes siliconées et pâtes à polir) nous permet d'avancer plusieurs conclusions. Tout d'abord, l'état de surface le plus rugueux est obtenu lorsque le composite microhybride est poli par les papiers en carbure de silicium. Puisque ces derniers correspondent aux granulométries des fraises diamantées de bague verte, rouge et jaune ; le polissage en clinique par fraises diamantées n'est pas satisfaisant car les valeurs de R_a sont nettement supérieures aux valeurs-seuil de l'adhésion bactérienne et de la perception orale ($R_a > 0,3 \mu m$). Les polissages les plus efficaces, avec des valeurs inférieures ou égales à $0,2 \mu m$, ont été obtenus avec les pâtes à polir Enamel Plus

Shiny (Micerium), les disques abrasifs Sof-Lex (3M) et le système en une étape Maximus (Kenda).

Les résultats de la seconde étude permettent de conclure que l'adhésion de *Streptococcus mutans* à la surface des résines composites est influencée par la rugosité et la composition des matériaux. La qualité de l'état de surface après polissage est dépendante de la composition des polymères et des systèmes de polissage. Il n'empêche que la rugosité de surface des trois composites étudiés (Filtek Supreme XTE, Enamel Plus HRI et G-aenial anterior) est similaire après utilisation du Kit Enamel Plus Shiny. Ce dernier présente les meilleurs résultats de polissage sur l'ensemble des composites, et génère parallèlement le minimum d'adhésion bactérienne avec des valeurs Ra inférieures ou égales à 0,2 µm. Les surfaces polies par les papiers en carbure de silicium sont les plus rugueuses sur l'ensemble des composites et affichent le maximum de rétention bactérienne. Parallèlement, l'incorporation de nanoparticules n'est pas suffisante pour réduire la colonisation bactérienne puisque des résultats similaires sont observés entre Filtek Supreme XTE et G-aenial anterior. Le composite ayant retenu le moins de bactéries est Enamel Plus HRI, malgré des valeurs de rugosité similaires, voire supérieures, à celles des autres composites. Ces performances peuvent être attribuées au pourcentage de charges dans Enamel Plus HRI (80 % en poids) qui est supérieur aux autres composites.

En conclusion, l'adhésion de *Streptococcus mutans* diffère en fonction de la composition des résines composites et de leur polissage. La qualité du polissage détermine la pérennité d'une restauration en composite puisqu'une diminution de la rugosité induit une diminution de l'adhésion bactérienne. Mais d'autres paramètres telles que la proportion de matrice ou de charges exposées à la surface, voire de groupements fonctionnels, peuvent influencer la propension des matériaux à développer un biofilm.

Références bibliographiques

1. Bollen C, Lambrechts P, Quirynen M. *Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature*. Dent Mater. 1997; 13(4): 258-69.
2. Anusavice K, Shen C, Rawls H. *Philips' science of dental materials*. 12 ed. St. Louis: Saunders; 2013. 571 p.
3. Vreven J, Raskin A, Sabbagh J, Vermeersch G, Leloup G. *Résines composites*. EMC (Elsevier SAS, Paris). 2005; Odontologie: 23-065-E-10.
4. Cramer N, Stansbury J, Bowman C. *Recent Advances and Developments in Composite Dental Restorative Materials*. J Dent Res. 2011; 90(4): 402-16.
5. Klapdohr S, Moszner N. *New Inorganic Components for Dental Filling Composites*. Monatsh Chem. 2004; 136(1): 21-45.
6. Berthault G, Durand A, Lasfargues J, Decup F. *Les nouveaux composites : évaluation et intérêts cliniques pour les restaurations en technique directe*. Revue d'odonto-stomatologie. 2008; 37: 177-97.
7. Baroudi K, Mahmoud S. Improving Composite Resin Performance Through Decreasing its Viscosity by Different Methods. Open Dent J. 2015. p. 235-42.
8. Gupta SK, Saxena P, Pant VA, Pant AB. Release and toxicity of dental resin composite. Toxicol Int. 2012. p. 225-34.
9. Strnad G, Kovacs M, Andras E, Beresescu L. *Effect of Curing, Finishing and Polishing Techniques on Microhardness of Composite Restorative Materials*. Procedia Technology. 2015; 19: 233-8.
10. Khurshid Z, Zafar M, Saad Q, Sana S, Mustafa N, AbuReqaiba A. *Advances in Nanotechnology for Restorative Dentistry*. Materials. 2015; 8(2): 717-31.
11. Zimmerli B, Strub M, Jeger F, Stadler O, Lussi A. *Composite materials: composition, properties and clinical applications. A literature review*. Schweiz Monatsschr Zahnmed. 2011; 120(11): 972-86.
12. Ferracane JL. *Resin composite--state of the art*. Dent Mater. 2010; 27(1): 29-38.
13. Moszner N, Klapdohr S. *Nanotechnology for dental composites*. Int J Nanotechnol. 2004; 1(1-2): 130-56.
14. Kim J, Kim L, Kim C. *Size control of silica nanoparticles and their surface treatment for fabrication of dental nanocomposites*. Biomacromolecules. 2007; 8(1): 215-22.

15. Jandt KD, Sigusch BW. *Future perspectives of resin-based dental materials*. Dent Mater. 2009; 25(8): 1001-6.
16. R G. *Nanocomposites - A review*. Journal of Dentistry and Oral Biosciences. 2011; 2(3).
17. Ozak ST, Ozkan P. Nanotechnology and dentistry. Eur J Dent. 2013. p. 145-51.
18. Sideridou I, Achilias DS, Kyrikou E. *Thermal expansion characteristics of light-cured dental resins and resin composites*. Biomaterials. 2004; 25(15): 3087-97.
19. Porto ICCdM, de Aguiar FHB, Brandt WC, Liporoni PCS. *Mechanical and physical properties of silorane and methacrylate-based composites*. Journal of Dentistry. 2013; 41(8): 732-9.
20. Abuelenain D, Neel E, Al-Dharrab A. *Surface and Mechanical Properties of Different Dental Composites*. Austin J Dent. 2015; 2(2): 1019.
21. Kim K-H, Ong JL, Okuno O. *The effect of filler loading and morphology on the mechanical properties of contemporary composites*. J Prosthet Dent. 2002; 87(6): 642-9.
22. Manhart J, Kunzelmann KH, Chen HY, Hickel R. *Mechanical properties and wear behavior of light-cured packable composite resins*. Dental Materials. 2000; 16(1): 33-40.
23. Mallineni SK, Nuvvula S, Matinlinna JP, Yiu CK, King NM. *Biocompatibility of various dental materials in contemporary dentistry: a narrative insight*. J Investig Clin Dent. 2012; 4(1): 9-19.
24. Imazato S. *Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems*. Dent Mater. 2003; 19(6): 449-57.
25. Wiegand A, Buchalla W, Attin T. *Review on fluoride-releasing restorative materials--fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation*. Dent Mater. 2006; 23(3): 343-62.
26. Imazato S, Russell RR, McCabe JF. *Antibacterial activity of MDPB polymer incorporated in dental resin*. J Dent. 1995; 23(3): 177-81.
27. Kasraei S, Sami L, Hendi S, AliKhani MY, Rezaei-Soufi L, Khamverdi Z. *Antibacterial properties of composite resins incorporating silver and zinc oxide nanoparticles on Streptococcus mutans and Lactobacillus*. Restor Dent Endod. 2014; 39(2): 109-14.
28. Garnier M. DJ. Dictionnaire illustré des termes de médecine. 28 ed. France 2004 mai 2004. 1046 p.
29. Forssten SD, Björklund M, Ouwehand AC. *Streptococcus mutans, Caries and Simulation Models*. Nutrients. 2010. p. 290-8.

30. Hannig C, Hannig M. *The oral cavity--a key system to understand substratum-dependent bioadhesion on solid surfaces in man*. Clin Oral Investig. 2009; 13(2): 123-39.
31. Ploux L, Ponche A, Anselme K. *Bacteria/Material Interfaces: Role of the Material and Cell Wall Properties*. Journal of Adhesion Science and Technology. 2010; 24(13-14): 2165-201.
32. Nicolas G, Lavoie M. *Streptococcus mutans et les streptocoques buccaux dans la plaque dentaire*. Canadian Journal of Microbiology. 2011; 57(1): 1-20.
33. Quirynen M, Bollen CM. *The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature*. J Clin Periodontol. 1995; 22(1): 1-14.
34. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. *Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development*. Clin Oral Implants Res. 2006; 17 Suppl 2: 68-81.
35. Anselme K, Davidson P, Popa AM, Giazzon M, Liley M, Ploux L. *The interaction of cells and bacteria with surfaces structured at the nanometre scale*. Acta Biomater. 2010; 6(10): 3824-46.
36. Simain F, Rompen E, Heinen E. *Biofilms bactériens et médecine dentaire*. Rev Med Liege. 2010; 65(10): 569-73.
37. Katsikogianni M, Missirlis YF. *Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions*. Eur Cell Mater. 2004; 8: 37-57.
38. Whitehead KA, Verran J. *Fouling, Cleaning and Disinfection in Food Processing The Effect of Surface Topography on the Retention of Microorganisms*. Food and Bioproducts Processing. 2006; 84(4): 253-9.
39. Song F, Koo H, Ren D. *Effects of Material Properties on Bacterial Adhesion and Biofilm Formation*. J Dent Res. 2015; 94(8): 1027-34.
40. Yamamoto K, Ohashi S, Taki E, Hirata K. *Adherence of oral streptococci to composite resin of varying surface roughness*. Dent Mater J. 1996; 15(2): 201-4.
41. Barbour ME, O'Sullivan DJ, Jenkinson HF, Jagger DC. *The effects of polishing methods on surface morphology, roughness and bacterial colonisation of titanium abutments*. J Mater Sci Mater Med. 2007; 18(7): 1439-47.
42. Beyth N, Bahir R, Matalon S, Domb AJ, Weiss EI. *Streptococcus mutans biofilm changes surface-topography of resin composites*. Dent Mater. 2007; 24(6): 732-6.
43. Renner LD, Weibel DB. *Physicochemical regulation of biofilm formation*. MRS Bull. 2011; 36(5): 347-55.

44. Hauser-Gerspach I, Kulik EM, Weiger R, Decker EM, Von Ohle C, Meyer J. *Adhesion of Streptococcus sanguinis to dental implant and restorative materials in vitro.* Dent Mater J. 2007; 26(3): 361-6.
45. Lichter JA, Thompson MT, Delgadillo M, Nishikawa T, Rubner MF, Van Vliet KJ. *Substrata mechanical stiffness can regulate adhesion of viable bacteria.* Biomacromolecules. 2008; 9(6): 1571-8.
46. Cottenye N, Anselme K, Ploux L, Vebert-Nardin C. *Vesicular Structures Self-Assembled from Oligonucleotide-Polymer Hybrids: Mechanical Prevention of Bacterial Colonization Upon their Surface Tethering Through Hybridization.* Advanced Functional Materials. 2012; 22(23): 4891-8.
47. Jefferies SR. *Abrasive finishing and polishing in restorative dentistry: a state-of-the-art review.* Dent Clin North Am. 2007; 51(2): 379-97, ix.
48. Chan KH, Mai Y, Kim H, Tong KC, Ng D, Hsiao J. *Review: resin composite filling.* Materials. 2010; 3(2): 1228-43.
49. Patel B, Chhabra N, Jain D. *Effect of different polishing systems on the surface roughness of nano-hybrid composites.* J Conserv Dent. 2016; 19(1): 37-40.
50. Nair VS, Sainudeen S, Padmanabhan P, Vijayashankar LV, Sujathan U, Pillai R. *Three-dimensional evaluation of surface roughness of resin composites after finishing and polishing.* J Conserv Dent. 2016. p. 91-5.
51. Bruker. *Comparing 3D Optical Microscopy Techniques for Metrology Applications.* Application Note 503. 2014.
52. Yoshida A, Kuramitsu HK. *Streptococcus mutans biofilm formation: utilization of a gtfB promoter-green fluorescent protein (PgtfB::gfp) construct to monitor development.* Microbiology. 2002; 148(Pt 11): 3385-94.
53. Wong L, Sissons C. *A comparison of human dental plaque microcosm biofilms grown in an undefined medium and a chemically defined artificial saliva.* Arch Oral Biol. 2001; 46(6): 477-86.
54. Bolte S, Cordelieres FP. *A guided tour into subcellular colocalization analysis in light microscopy.* J Microsc. 2007; 224(Pt 3): 213-32.
55. Leal SC, Mickenautsch S. *Salivary streptococcus mutans count and caries outcome - a systematic review* 2010; 3(4):[137-47 pp.]. Available from: http://reference.sabinet.co.za/webx/access/electronic_journals/mident/mident_v3_n4_a1.pdf.
56. Pannu P, Gambhir R, Sujlana A. *Correlation between the salivary Streptococcus mutans levels and dental caries experience in adult population of Chandigarh, India.* Eur J Dent. 2013. p. 191-5.

57. St Germain H, Samuelson BA. *Surface characteristics of resin composite materials after finishing and polishing*. Gen Dent. 2015; 63(2): 26-32.
58. Kaizer MR, de Oliveira-Ogliari A, Cenci MS, Opdam NJ, Moraes RR. *Do nanofill or submicron composites show improved smoothness and gloss? A systematic review of in vitro studies*. Dent Mater. 2014; 30(4): e41-78.
59. de Moraes RR, Goncalves Lde S, Lancellotti AC, Consani S, Correr-Sobrinho L, Sinhoreti MA. *Nanohybrid resin composites: nanofiller loaded materials or traditional microhybrid resins?* Oper Dent. 2009; 34(5): 551-7.
60. Jones CS, Billington RW, Pearson GJ. *The in vivo perception of roughness of restorations*. Br Dent J. 2004; 196(1): 42-5; discussion 31.
61. Whitehead KA, Verran J. *The Effect of Surface Topography on the Retention of Microorganisms*. Food and Bioproducts Processing. 2006; 84(4): 253-9.
62. Park JW, Song CW, Jung JH, Ahn SJ, Ferracane JL. *The effects of surface roughness of composite resin on biofilm formation of Streptococcus mutans in the presence of saliva*. Oper Dent. 2012; 37(5): 532-9.
63. Kim H-Y, Yeo I-S, Lee J-B, Kim S-H, Kim D-J, Han J-S. *Initial in vitro bacterial adhesion on dental restorative materials*. 35(10): 773.
64. Ionescu A, Wutscher E, Brambilla E, Schneider-Feyrer S, Giessibl FJ, Hahnel S. *Influence of surface properties of resin-based composites on in vitro Streptococcus mutans biofilm development*. European Journal of Oral Sciences. 2012; 120(5): 458-65.
65. Kumari CM, Bhat KM, Bansal R. *Evaluation of surface roughness of different restorative composites after polishing using atomic force microscopy*. J Conserv Dent. 2016; 19(1): 56-62.
66. Ionescu A, Brambilla E, Wastl DS, Giessibl FJ, Cazzaniga G, Schneider-Feyrer S, et al. *Influence of matrix and filler fraction on biofilm formation on the surface of experimental resin-based composites*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 2015; 26(1): 1-7.

ANNEXES

Figure 1 : composition d'une résine composite (image par MEB extraite de « Restaurations esthétiques en céramique collée », O.Etienne, 2017)	7
Figure 2 : formule développée du Bis-GMA	8
Figure 3 : formule développée de l'UDMA	9
Figure 4 : représentation schématique des principales classes de composites. Au centre, le pourcentage de charges. A droite, la distribution des tailles des charges (en μm) (VREVEN J. et al., 2005)	18
Figure 5 : étapes dans la formation d'un biofilm tel que la plaque dentaire (Adaptée de G.Nicolas et C.Lavoie, 2010 (32)).....	33
Figure 6 : finition-polissage des résines composites : choix d'un abrasif inadapté (coupe transversale). A. Surface avant polissage. B. Surface après polissage.	43
Figure 7 : technique de préparation des échantillons (coupe transversale)	50
Figure 8 : coffret 4652 KompoLine, Komet (source : http://cms.kometdental.de)	52
Figure 9 : kit de polissage Enamel Plus Shiny, Micerium.....	53
Figure 10 : fenêtre « Statistiques » extraite de Gwyddion, échantillon G-aenial anterior poli par le système Enamel Plus Shiny (n°1, zone 1)	58
Figure 11 : image tridimensionnelle de la surface de G-aenial anterior polis par le kit Enamel Plus Shiny (n°1, zone 1)	58
Figure 12 : échantillon de composite Clearfil Majesty ES-2 Enamel de Kuraray, polissage P600, observé en fluorescence au microscope confocal en présence de <i>S. mutans</i> CIP103220.....	60
Figure 13 : protocole de culture bactérienne : séries d'échantillons utilisées par manipulation	64
Figure 14 : image 2D (slice 25/28) à la surface de G-aenial anterior poli par Enamel Plus Shiny (n°1) et conversion en image binaire	66
Figure 15 : images binaire 2D (slice 25/28) de g-aenial anterior poli par Enamel Plus Shiny (n°1).....	67
Figure 16 : vues 3d des surfaces G-Aenial Anterior polies par - A. P600. B. KompoLine. C. kit Enamel Plus Shiny. D. disques Sof-Lex. E. CompoSystem. F. Maximus. G. Twist Dia. Echelle d'intensité de pixels.....	72

Figure 17 : représentations 3D des surfaces de G-aenial anterior – (1) polissage P600, (2) KompoLine, (3) kit Enamel Plus Shiny	79
Figure 18 : représentations 3D des surfaces de Filtek Supreme XTE – (1) polissage P600, (2) Polissoirs Komet, (3) kit Enamel Plus Shiny	79
Figure 19 : représentations 3D des surfaces de HRI – (1) polissage P600, (2) KompoLine, (3) kit Enamel Plus Shiny	80
Graphique 1 : comparaison des valeurs Ra (en μm) à la surface de G-aenial anterior (GC) entre les différents systèmes de polissage. NB : * et ° représentent des valeurs aberrantes mesurées.	73
Graphique 2 : comparaison des valeurs Ra (en μm) de G-aenial anterior entre les différents polissage (sans le contrôle P600 équivalent d'une finition bague jaune). La hauteur des boîtes caractérisée par les valeurs maximale et minimale permet aussi de caractériser la variabilité des résultats et par extension le caractère opérateur-dépendant du système de polissage.	73
Graphique 3 : rangs moyens de chaque système de polissage.....	76
Graphique 4 : comparaison de la distribution des valeurs Ra (en μm) par composite et par système de polissage. Les ° représentent des valeurs aberrantes.....	78
Graphique 5 : nombres moyens de bactéries par composite et polissage	80
Graphique 6 : comparaison entre le pourcentage de carbone et silicium des différents composites.....	83
Graphique 7 : pourcentages en concentration atomique des différents groupements fonctionnels par composite	84
Tableau 1 : composition des composites	50
Tableau 2 : composition des systèmes de polissage	54
Tableau 3 : salive artificielle (Wong & Sissions, 2001) enrichie en mucine. Composition par litre et pH 7,0.	62
Tableau 4 : paramètres d'acquisition du microscope confocal à partir du logiciel Zen.....	65
Tableau 5 : tableau descriptif des valeurs de Ra (en μm) obtenues pour G-aenial anterior poli par différents systèmes	70
Tableau 6 : comparaisons par paire des systèmes de polissage.....	75

A. Tests statistiques multivariés par SPSS (MANOVA)

Tests multivariés							
Effet		Valeur	D	ddl de l'hypothèse	Erreur ddl	Sig.	Eta au carré partiel
Ordonnée à l'origine	Trace de Pillai	,972	3560,984	3,000	313,000	,000	,972
	Lambda de Wilks	,028	3560,984	3,000	313,000	,000	,972
	Trace de Hotelling	34,131	3560,984	3,000	313,000	,000	,972
	Plus grande racine de Roy	34,131	3560,984	3,000	313,000	,000	,972
Composite	Trace de Pillai	,466	31,815	6,000	628,000	,000	,233
	Lambda de Wilks	,573	33,457	6,000	626,000	,000	,243
	Trace de Hotelling	,675	35,111	6,000	624,000	,000	,252
	Plus grande racine de Roy	,550	57,536	3,000	314,000	,000	,355
Polissage	Trace de Pillai	,874	81,291	6,000	628,000	,000	,437
	Lambda de Wilks	,127	188,058	6,000	626,000	,000	,643
	Trace de Hotelling	6,841	355,740	6,000	624,000	,000	,774
	Plus grande racine de Roy	6,839	715,845	3,000	314,000	,000	,872
Composite * Polissage	Trace de Pillai	,457	14,157	12,000	945,000	,000	,152
	Lambda de Wilks	,558	17,022	12,000	828,412	,000	,177
	Trace de Hotelling	,764	19,853	12,000	935,000	,000	,203
	Plus grande racine de Roy	,728	57,306	4,000	315,000	,000	,421

B. Tests statistiques univariés par SPSS (ANOVA)

Tests des effets inter-sujets							
Source	Variable dépendante	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.	Eta au carré partiel
Modèle corrigé	Ra	14,898	8	1,862	272,521	,000	,874
	Bactéries en biofilm	99305204950 927,560	8	12413150618 865,945	26,756	,000	,405
	Bactéries isolées	17450456985 2,279	8	21813071231 ,535	32,148	,000	,449
Ordonnée à l'origine	Ra	44,052	1	44,052	6446,676	,000	,953
	Bactéries en biofilm	95699405035 6223,100	1	95699405035 6223,100	2062,770	,000	,868
	Bactéries isolées	11185842878 76,060	1	11185842878 76,060	1648,577	,000	,840
Composite	Ra	,237	2	,118	17,317	,000	,099
	Bactéries en biofilm	20663508877 578,855	2	10331754438 789,428	22,270	,000	,124
	Bactéries isolées	83499465609 ,455	2	41749732804 ,727	61,531	,000	,281
Polissage	Ra	13,130	2	6,565	960,767	,000	,859
	Bactéries en biofilm	74726426925 917,970	2	37363213462 958,984	80,535	,000	,338
	Bactéries isolées	87324325734 ,643	2	43662162867 ,321	64,350	,000	,290
Composite * Polissage	Ra	1,531	4	,383	56,001	,000	,416
	Bactéries en biofilm	39152691474 31,070	4	97881728685 7,768	2,110	,079	,026
	Bactéries isolées	3680778508, 181	4	920194627,0 45	1,356	,249	,017

Erreur	Ra	2,152	315	,007			
	Bactéries en biofilm	14613995170 8578,120	315	46393635463 0,407			
	Bactéries isolées	21373219647 5,225	315	678514909,4 45			
Total	Ra	61,102	324				
	Bactéries en biofilm	12024392070 15729,500	324				
	Bactéries isolées	15068210542 03,564	324				
Total corrigé	Ra	17,050	323				
	Bactéries en biofilm	24544515665 9505,700	323				
	Bactéries isolées	38823676632 7,503	323				

C. Tests des effets simples du facteur polissage sur la variable dépendante Ra par SPSS

Comparaisons par paire							
Variable dépendante: Ra							
Polissage	(I) Composite	(J) Composite	Différence des moyennes (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance de la différence à 95%	
						Borne inférieure	Limite supérieure
P600	G-aenial	Filtek	,282	,019	,000	,235	,329
		HRI	,222	,019	,000	,175	,269
	Filtek	G-aenial	-,282	,019	,000	-,329	-,235
		HRI	-,060	,019	,007	-,107	-,013
	HRI	G-aenial	-,222	,019	,000	-,269	-,175
		Filtek	,060	,019	,007	,013	,107
KompoLine	G-aenial	Filtek	-,080	,019	,000	-,127	-,033
		HRI	-,080	,019	,000	-,127	-,034
	Filtek	G-aenial	,080	,019	,000	,033	,127
		HRI	,000	,019	1,000	-,047	,046
	HRI	G-aenial	,080	,019	,000	,034	,127
		Filtek	,000	,019	1,000	-,046	,047
Enamel Plus Shiny	G-aenial	Filtek	-,020	,019	,906	-,067	,027
		HRI	,019	,019	,958	-,027	,066
	Filtek	G-aenial	,020	,019	,906	-,027	,067
		HRI	,040	,019	,129	-,007	,086
	HRI	G-aenial	-,019	,019	,958	-,066	,027
		Filtek	-,040	,019	,129	-,086	,007

D. Tests des effets simples du facteur composite sur la variable dépendante Ra par SPSS

Comparaisons par paire							
Variable dépendante: Ra							
Composite	(I) Polissage	(J) Polissage	Différence des moyennes (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance de la différence à 95%	
						Borne inférieure	Limite supérieure
G-aenial	P600	KompoLine	,589	,019	,000	,543	,636
		Enamel Plus Shiny	,636	,019	,000	,589	,683
	KompoLine	P600	-,589	,019	,000	-,636	-,543
		Enamel Plus Shiny	,047	,019	,051	,000	,094
	Enamel Plus Shiny	P600	-,636	,019	,000	-,683	-,589
		KompoLine	-,047	,019	,051	-,094	,000
Filtek	P600	KompoLine	,228	,019	,000	,181	,275
		Enamel Plus Shiny	,334	,019	,000	,288	,381
	KompoLine	P600	-,228	,019	,000	-,275	-,181
		Enamel Plus Shiny	,107	,019	,000	,060	,154
	Enamel Plus Shiny	P600	-,334	,019	,000	-,381	-,288
		KompoLine	-,107	,019	,000	-,154	-,060
HRI	P600	KompoLine	,287	,019	,000	,240	,334
		Enamel Plus Shiny	,434	,019	,000	,387	,481
	KompoLine	P600	-,287	,019	,000	-,334	-,240
		Enamel Plus Shiny	,147	,019	,000	,100	,194
	Enamel Plus Shiny	P600	-,434	,019	,000	-,481	-,387
		KompoLine	-,147	,019	,000	-,194	-,100

E. Tests de comparaisons multiples par SPSS (suite MANOVA)

Comparaisons multiples								
Bonferroni								
Variable dépendante	(I) Composite	(J) Composite	Différence des moyennes (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95%		
						Borne inférieure	Limite supérieure	
Bactéries en biofilm	G-aenial	Filtek	-97876,723147	92689,8806485	,875	-320965,896474	125212,450179	
		HRI	480030,719900*	92689,8806485	,000	256941,546573	703119,893226	
	Filtek	G-aenial	97876,723147	92689,8806485	,875	-125212,450179	320965,896474	
		HRI	577907,443047*	92689,8806485	,000	354818,269720	800996,616373	
	HRI	G-aenial	-480030,719900*	92689,8806485	,000	-703119,893226	-256941,546573	
		Filtek	-577907,443047*	92689,8806485	,000	-800996,616373	-354818,269720	
	Bactéries isolées	G-aenial	Filtek	36798,1611*	3544,72720	,000	28266,5905	45329,7317
			HRI	30404,7586*	3544,72720	,000	21873,1880	38936,3292
Filtek		G-aenial	-36798,1611*	3544,72720	,000	-45329,7317	-28266,5905	
		HRI	-6393,4025	3544,72720	,217	-14924,9731	2138,1681	
HRI		G-aenial	-30404,7586*	3544,72720	,000	-38936,3292	-21873,1880	
		Filtek	6393,4025	3544,72720	,217	-2138,1681	14924,9731	
En fonction des moyennes observées.								
Le terme d'erreur est Carré moyen(Erreur) = 678514909,446.								
*. La différence des moyennes est significative au niveau ,05.								

F. Tests de comparaisons multiples par SPSS (suite)

Comparaisons multiples							
Bonferroni							
Variable dépendante	(I) Polissage	(J) Polissage	Différence des moyennes (I-J)	Erreur standard	Sig.	Intervalle de confiance à 95%	
						Borne inférieure	Limite supérieure
Bactéries en biofilm	P600	KompoLine	827964,005243*	92689,8806485	,000	604874,831916	1051053,178569
		Enamel Plus Shiny	1137669,604529*	92689,8806485	,000	914580,431202	1360758,777855
	KompoLine	P600	-827964,005243*	92689,8806485	,000	-604874,831916	1051053,178569
		Enamel Plus Shiny	309705,599286*	92689,8806485	,003	86616,425960	532794,772613
	Enamel Plus Shiny	P600	-1137669,604529*	92689,8806485	,000	-914580,431202	1360758,777855
		KompoLine	-309705,599286*	92689,8806485	,003	-532794,772613	-86616,425960
Bactéries isolées	P600	KompoLine	-29380,5945*	3544,72720	,000	-37912,1651	-20849,0239
		Enamel Plus Shiny	-38468,9296*	3544,72720	,000	-47000,5002	-29937,3590
	KompoLine	P600	29380,5945*	3544,72720	,000	20849,0239	37912,1651
		Enamel Plus Shiny	-9088,3351*	3544,72720	,032	-17619,9057	-556,7645
	Enamel Plus Shiny	P600	38468,9296*	3544,72720	,000	29937,3590	47000,5002
		KompoLine	9088,3351*	3544,72720	,032	556,7645	17619,9057
En fonction des moyennes observées.							
Le terme d'erreur est Carré moyen(Erreur) = 678514909,446.							
*. La différence des moyennes est significative au niveau ,05.							