

FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE DE STRASBOURG

Doyen : Professeur Corinne TADDEI-GROSS

Doyens honoraires : Professeur Robert FRANK

Professeur Maurice LEIZE

Professeur Youssef HAIKEL

Professeurs émérites : Professeur Henri TENENBAUM

Responsable des Services Administratifs : Mme Françoise DITZ-MOUGEL

Professeurs des Universités

Vincent BALL	Ingénierie Chimique, Energétique - Génie des Procédés
Agnès BLOCH-ZUPAN	Sciences Biologiques
François CLAUSS	Odontologie Pédiatrique
Jean-Louis DAVIDEAU	Parodontologie
Youssef HAÏKEL	Odontologie Conservatrice - Endodontie
Olivier HUCK	Parodontologie
Marie-Cécile MANIERE	Odontologie Pédiatrique
Florent MEYER	Sciences Biologiques
Maryline MINOUX	Odontologie Conservatrice - Endodontie
Anne-Marie MUSSET	Prévention - Epidémiologie - Economie de la Santé - Odontologie Légale
Corinne TADDEI-GROSS	Prothèses
Béatrice WALTER	Prothèses
Matthieu SCHMITTBUHL	Sciences Anatomiques et Physiologiques, Occlusodontiques - Biomatériaux - Biophysique - Radiologie

Délégation (Juin 2024)

Maîtres de Conférences

Youri ARNTZ	Biophysique moléculaire
Sophie BAHU-GROSS	Chirurgie Buccale - Pathologie et Thérapeutique - Anesthésiologie et Réanimation
Yves BOLENDER	Orthopédie Dento-Faciale
Fabien BORNERT	Chirurgie Buccale - Pathologie et Thérapeutique - Anesthésiologie et Réanimation
Abdessahmad BOUKARI	Chirurgie Buccale - Pathologie et Thérapeutique - Anesthésiologie et Réanimation
Claire EHLINGER	Odontologie Conservatrice - Endodontie
Olivier ETIENNE	Prothèses
Florence FIORETTI	Odontologie Conservatrice - Endodontie
Catherine-Isabelle GROS	Sciences Anatomiques et Physiologiques - Biophysique - Radiologie
Sophie JUNG	Sciences Biologiques
Nadia LADHARI	Sciences Anatomiques et Physiologiques, Occlusodontiques - Biomatériaux - Biophysique

Disponibilité (Nov. 2020)

Davide MANCINO	Odontologie Conservatrice - Endodontie
Damien OFFNER	Prévention - Epidémiologie - Economie de la Santé - Odontologie Légale
Catherine PETIT	Parodontologie
François REITZER	Odontologie Conservatrice - Endodontie
Martine SOELL	Parodontologie
Marion STRUB	Odontologie Pédiatrique
Xavier VAN BELLINGHEN	Prothèses
Delphine WAGNER	Orthopédie Dento-Faciale

Délégation (Août 2021)

Etienne WALTMANN	Prothèses
------------------	-----------

Equipes de Recherche

Nadia JESSEL	INSERM / Directeur de Recherche/Directrice d'UMR
Philippe LAVALLE	INSERM / Directeur de Recherche
Pierre SCHAAF	UdS / Professeur des Universités / Directeur d'UMR
Bernard SENGER	INSERM / Directeur de Recherche

À monsieur le professeur **Youssef HAIKEL**,

Pour le grand honneur que vous m'accordez à présider ce jury, j'ai toujours eu plaisir à échanger avec vous. Apprendre à vos côtés était une chance que je mesure, merci d'avoir toujours été compréhensif et à l'écoute. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect pour tout ce que vous m'avez apporté durant ces études.

À madame le professeur **Maryline MINOUX**,

C'est avec grand plaisir que je vous livre les résultats de mon travail. Votre intégrité m'a toujours poussé à m'améliorer. C'est une qualité que je m'efforce de mettre en application quotidiennement. Vous m'avez permis plus d'une fois de faire mes preuves. Je vous remercie pour l'assurance et la rigueur que vous avez su me donner.

À monsieur le professeur **Olivier HUCK**,

Vous me faites le privilège de siéger parmi ce jury. C'est grâce à vous si j'ai eu la chance de vivre une formidable aventure à l'étranger pendant plusieurs mois qui m'a changé plus que je ne l'aurais imaginé. Pour votre bonne humeur et votre humour qui ont su me donner le sourire à chaque fois que je vous croisais. Pour l'honneur et le plaisir que vous me faites, veuillez trouver ici l'expression de mon admiration profonde.

À mon Directeur de thèse, le Docteur **François REITZER**

Si j'en suis là c'est grâce à toi, tu as su me montrer qu'au-delà d'un travail, notre métier est avant tout une passion. Merci pour toutes ces expériences que nous avons partagées ensemble, pour toutes ces années où j'ai progressé en me sentant considéré comme un égal. Tu m'as montré que transmettre le savoir est une des plus nobles applications de notre métier. Merci pour tout le temps que tu as pu nous consacrer. Je n'oublierais jamais ces années passées sous ton aile. Si nous avons parfois si bien réussi c'est parce que nous avons à cœur de te rendre fier.

Merci à tout le département Icube UMR 7357 MMB pour son aide dans la réalisation des tests, en particulier au professeur Nadia BAHLOULI et à Jihed ZGHAL.

Merci au laboratoire INSERM UMRS 1121 pour l'aide à la réalisation et à l'analyse des échantillons, merci beaucoup à Naji KHAROUF sans qui tout ce travail n'aurait surement pas vu le jour, merci à Eric MATHIEU et à Bernard SENGERN pour leur aide. Encore merci à François REITZER pour son implication dans ce manuscrit de thèse.

Merci à mes deux maîtres de stages les docteurs Pierre KELLER et Ali SALEHI qui m'ont accueilli dans leur cabinet à bras ouverts.

Aux docteurs Benoit VERGNET et Jean Nicolas HASSON, merci de m'avoir si bien intégré dans ce cabinet où je me sens depuis le début comme à la maison.

À ma famille, merci d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir fait confiance. C'est un plaisir que d'être retourné auprès de vous.

À mes amis, merci pour tous ces moments qui ont fait que ces années d'études débordent de souvenirs merveilleux.

À Amine, merci d'avoir partagés avec moi tellement de bons moments pendant ces études, on va continuer cette belle amitié quand on sera voisin dans le Haut-Rhin !

À Jordan, c'est juste incroyable de t'avoir rencontré. Tonic Brain ton intransigeance n'a pas toujours été facile, mais c'est pour ça qu'on s'entend si bien ! On s'est aussi bien battu que sur un terrain de Hand, sans oublier les concours à deux de 8 heures du matin à 18 heures ... T'es vraiment une inspiration pour moi.

À Alexandra, les études m'ont offert beaucoup de belles surprises et de joies mais notre rencontre est de loin la plus belle des choses qui me soit arrivée. Chaque moment que nous passons ensemble me prouve à quel point nous nous sommes bien trouvés, je t'aime.

UNIVERSITE DE STRASBOURG

FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année 2020

N°43

THESE

Présentée pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire
le 9 octobre 2020

par

Gautier RAPP

Né le 16 mars 1994 à MULHOUSE

**ÉTUDE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DE L'APPLICATION ACTIVE DU
PROMOTEUR D'ADHÉSION SUR LA PERFORMANCE D'UN ADHÉSIF
UNIVERSEL**

JURY

Président : Professeur Youssef HAÏKEL
Assesseurs : Professeur Maryline MINOUX
Professeur Olivier HUCK
Docteur François REITZER

LISTE DES FIGURES	5
LISTE DES TABLEAUX	8
LISTE DES ABREVIATIONS	9
INTRODUCTION	10
CHAPITRE I : ÉTAT DE LA QUESTION : LE COLLAGE ET SES INTERFACES ...	12
1. Histologie de la dent	13
1.1. La dentine	13
1.1.1. Organisation de la dentine.....	13
1.1.2. Composition de la dentine.....	13
1.2. L'Email	14
1.2.1. Composition de l'email.....	14
1.2.2. Organisation de l'email.....	15
1.3. La boue dentinaire	16
2. Le mordançage.....	17
2.1. Durée de mordançage.....	18
2.2. Mordançage actif ou passif.....	19
3. Le collage	19
3.1. Les adhésifs en dentisterie.....	19
3.1.1. Évolution des systèmes adhésifs	19
3.1.1.1. Les systèmes MR (mordançage rinçage)	19
3.1.1.2. MR 3.....	20
3.1.1.3. MR 2.....	21
3.1.1.4. Les systems SAM (systems auto-mordançants)	21
3.1.1.5. SAM 2.....	22
3.1.1.6. SAM 1.....	22
3.1.1.7. Les adhesifs universels.....	22
3.1.1.7.1. Adhésif universel Prime and bond active ®.....	23

3.2. Evolution des composants adhésifs	25
3.2.1. 10 MDP PP.....	25
3.2.2. PENTA.....	25
3.2.3. HEMA.....	25
3.2.4. UDMA.....	26
3.2.5. Bis GMA.....	26
3.2.6. TEGDMA.....	26
CHAPITRE II : METHODES.....	27
1. Microscopie confocale.....	28
2. Microscopie électronique à balayage (MEB)	29
3. Spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX)	30
4. Tests de rupture.....	31
4.1. Test de cisaillement.....	32
4.2. Test de traction.....	32
CHAPITRE III : ANALYSE QUALITATIVE DE LA SURFACE DENTINAIRE APRES MORDANÇAGE.....	35
1. Introduction.....	36
2. Analyse qualitative de la surface dentinaire après traitement (EDX).....	38
3. Conclusion.....	38
CHAPITRE IV : INCIDENCE DE LA CINETIQUE D'APPLICATION DU PROMOTEUR D'ADHESION SUR LES FORCES RETENTIVES D'UN ADHESIF UNIVERSEL SUR LA DENTINE.....	39
1. Introduction.....	40
2. Matériel et méthodes.....	41
2.1. Préparation des échantillons.....	41
3. Tests	49
3.1. Tests de force d'adhésion à la traction (μ TBS)	49
3.2. Préparation et observation des échantillons au MEB.....	50

3.3. Analyse statistique.....	50
4. Résultats.....	50
4.1. Test de traction.....	50
4.2. Analyse du type de rupture au MEB.....	52
5. Discussion.....	53
6. Conclusions.....	55

CHAPITRE V : INCIDENCE DE LA CINETIQUE D'APPLICATION DU PROMOTEUR D'ADHESION SUR LES FORCES RETENTIVES D'UN ADHESIF UNIVERSEL SUR L'EMAIL.....56

1. Introduction.....	57
2. Matériel et méthode.....	58
2.1. Préparation des échantillons.....	58
3. Test de cisaillement et analyse des échantillons.....	61
3.1. Tests de cisaillement.....	61
3.2. Observation par microscopie optique afin de déterminer le profil de rupture.....	62
3.3. Analyses statistiques.....	62
4. Résultats.....	63
4.1. Test de cisaillement.....	63
4.2. Analyse au microscope optique du profil de rupture	63
4.3. Analyse de l'interface email-adhésif au MEB.....	64
5. Discussion.....	66
6. Conclusion	68

CONCLUSION.....69

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....73

ANNEXES82

Table des Figures

Figure 1 : Image de MEB illustrant la trajectoire complexe des prismes au niveau des deux tiers de l'émail de la dent

Figure 2 : Images MEB de l'émail initial et de l'émail final

Figure 3 : Image MEB de dentine recouverte de boue dentinaire

Figure 4 : Image MEB de dentine préparée à l'acide orthophosphorique 36%

Figure 5 : Molécule de 10 MDP et de PENTA

Figure 6 : Structure de l'agent de couplage de la molécule Active-Guard®

Figure 7 : Schéma d'un microscope confocal. (Figure issue de : Allais M. thèse 2018(1))

Figure 8 : Représentation schématique d'un MEB. (Figure issue de : Allais M. thèse 2018 (1))

Figure 9 : Chaîne de mesure analogique en EDS (Maurice et al 1978) et éclaté d'un détecteur SiLi (doc. Gresham) (2)

Figure 10 : Exemple de tests de cisaillement sur un échantillon. (3)

Figure 11 : Exemple de fabrication d'échantillons sticks. (4)

Figure 12 : Echantillons de μ TBS Stick, Haltère et Sablier (5)

Figure 13 : Images MEB (A) groupe témoin (GI) dentine inaltérée, (B) acide phosphorique sous forme de gel 15 s (GII), (C) acide phosphorique sous forme liquide 15 s (GIII), (D) acide polyacrylique sous forme liquide 15 s (GIV).). Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

Figure 14 : Image MEB du groupe II avec des débris de silices visibles. Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

Figure 15 : Préparation des échantillons de dentine. Iconographie personnelle

Figure 16 : Préparations des groupes d'échantillons. Iconographie personnelle

Figure 17 : Les échantillons sont sectionnés afin d'obtenir les sticks. Iconographie personnelle

Figure 18 : Sticks obtenus avant les tests de micro-traction. Iconographie personnelle

Figure 19 : Préparation des sticks. Iconographie personnelle

Figure 20 : Exemple de composition d'un stick. Iconographie personnelle

Figure 21 : Observation au microscope optique grossissement X 50 de l'absence de fracture ou de présence d'email. Iconographie personnelle

Figure 22 : Mesure de la section de la section de chaque échantillon au pied à coulisse. Iconographie personnelle

Figure 23 : Insertion du stick dans le support en fibre de verre. Iconographie personnelle

Figure 24 : Le stick dans les mors de la machine avant les tests de traction. Iconographie personnelle

Figure 25 : Réalisation des supports de stick en vue des μ TBS.

Figure 26 : image au Microscope électronique à balayage d'une interface d'échantillon (G2) après tests de traction. Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

Figure 27 : Illustration d'un échantillon (G3) au microscope électronique à balayage après une rupture mixte. Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

Figure 28 : Image MEB d'une rupture cohésive, et mixte. Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

Figure 29 : Préparation des échantillons pour l'email. Iconographie personnelle

Figure 30 : contrôle au microscope optique des échantillons d'email. Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

Figure 31 : Préparation des groupes d'échantillons d'email. Iconographie personnelle

Figure 32 : Échantillons prêt au test de cisaillement Iconographie personnelle-laboratoire Icube UMR 7357 MMB

Figure 33 : Images MEB rupture adhésive, et cohésive (Grossissement x50). Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

Figure 34 : Image au microscope électronique de l'interface email-adhésif (G1). Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

Figure 35 : Image au microscope électronique de l'interface email (G2). Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

Figure 36 : Image au microscope électronique de l'interface email-adhésif (G3). Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

Liste des tableaux :

Tableau 1 : pourcentage en masse du calcium de chaque groupe. Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121

Tableau 2 : Composition chimique du Prime&Bond Active.

Tableau 3 : Résultats des ruptures à la micro-traction parmi les échantillons de dentine. Iconographie personnelle.

Tableau 4 : Résultats des ruptures au cisaillement parmi les échantillons d'émail. Iconographie personnelle.

Liste des Abréviations :

C : Carbone

N : Azote

O : Oxygène

P : Phosphate

Ca : Calcium

MEB : Microscope électronique à balayage

EDX : Energy dispersive X-Ray analysis

SBS : Shear bond strength (Test de cisaillement)

TBS : Tensile bond strength (Test de traction)

μTBS : Micro Tensile bond strength (Micror test de traction)

MR : Système adhésif mordantage rinçage

SAM : Système automordant

MCPM : Phosphate de calcium monohydraté

MDP : Methacryloyloxydecyl Dihydrogen Phosphate

PENTA : Dipentaerythriol penta acrylate monophosphate

HEMA : Hydroxyéthyl méthacrylate

UDMA : Diméthacrylate d'uréthane

Bis GMA : Bisphénol A glycidyle méthacrylate

TEGDMA : Triéthylène Glycol Diméthacrylate

GPDM : glycero-phosphate diméthacrylate

INTRODUCTION

La pratique de la dentisterie est devenue aujourd'hui aussi passionnante que complexe. En effet, les découvertes constantes dans le domaine médical nous amènent à continuellement actualiser nos connaissances pratiques et théoriques. Car, si en matière de connaissance pratique les formations permettent de développer la technique nécessaire, la formation théorique, elle, est tout autant, voir plus importante.

La connaissance des produits et matériaux (que ce soit médicamenteux ou utilisés en pratique dentaire) et leurs interactions entre eux est un des piliers du succès thérapeutique.

Le développement des produits, leur complexification et leur arborescence peut amener un chirurgien-dentiste à réaliser des choix thérapeutiques qui ne seront pas optimum pour le patient (par exemple, le choix d'un type de céramique, de matériaux de reconstruction ou de matériaux d'empreinte).

De plus, la volonté constante d'optimiser les actes quotidiens à un impact sur le développement des produits. En effet, si les chirurgiens-dentistes plaident en faveur d'une simplification des protocoles, les fabricants réaliseront des produits qui correspondront à leur demande.

La connaissance des matériaux et protocoles que nous utilisons quotidiennement ainsi que leur utilisation optimale est essentielle. C'est pourquoi il a été tenté, dans ce travail d'explorer des pistes sur lesquelles un consensus n'a pas encore été clairement exprimé. Afin de comprendre au mieux les nouveaux adhésifs qui seront nos outils de demain dans notre pratique quotidienne, des études ont été réalisées pour quantifier leur performance en fonction du protocole appliqué.

Ce travail scientifique a pour objectif d'approfondir le protocole d'application d'acide orthophosphorique sur l'émail et la dentine en vue de l'application d'un adhésif universel.

Ainsi, dans notre première partie nous rappellerons l'histologie de la dent ainsi que ses limites attenantes. Nous développerons les protocoles de mordantage actuels, ainsi que les différents adhésifs et leurs composants.

Dans une deuxième partie, nous développeront les méthodes utilisées pour les diverses études présentées dans ce travail de thèse.

La troisième partie présentera une étude qualitative des tissus durs minéralisés dentaires selon le protocole de mordançage. Cette étude qualitative est à l'origine des études quantitatives présentées dans les parties suivantes.

La quatrième partie est une étude qui vise à comprendre si la façon de mordancer la dentine a un impact sur les performances des adhésifs universels.

Enfin, une dernière partie présentera les résultats de tests effectués sur l'émail pour tenter, comme pour la dentine, de connaître l'impact d'un mordançage actif.

Chapitre I :
ÉTAT DE LA QUESTION
Le collage et ses
interfaces

1. Histologie de la dent

Les tissus durs minéralisés sont composés d'émail et de dentine. L'émail, d'origine épithélial, est extrêmement rigide et acellulaire. Il est supporté par la dentine, un tissu plus souple et moins minéralisé. Ces dents sont liées à l'os grâce à un tissu conjonctif qui comprend le cément, le ligament parodontal et l'os alvéolaire. Ce complexe offre une attache suffisamment souple pour répartir les forces de mastication.

Les dents sont, d'un point de vue anatomique constituées d'une couronne et d'une racine, la jonction entre les deux étant dénommée la jonction amélo-cémentaire. Même si les dents ont des tailles et des formes variables, histologiquement, elles sont similaires.

1.1 La dentine

La dentine est un tissu minéralisé, innervé et avasculaire qui encapsule la chambre pulpaire.

1.1.1. Organisation de la dentine

La dentine est constituée d'une partie minérale : de l'hydroxyapatite, et d'une partie organique surtout composée de collagène fibrillaire. La présence de tubuli dentinaires confère à la dentine une perméabilité. Les cellules qui sont à l'origine de la formation de la dentine sont enclavées dans ces tubuli. Ces cellules sont appelées odontoblastes. La dentine possède un rôle extrêmement important, car grâce à son élasticité élevée, elle permet d'éviter que l'émail ne se brise sous les forces occlusales. Grâce aux tubuli dentinaire, la dentine va être sensible aux stimuli. (6) Elle va également être capable de se réparer, les odontoblastes et les cellules pulpaires peuvent apposer des couches de dentine quand cela est nécessaire.

1.1.2. Composition de la dentine

La dentine est composée à 70% de matière inorganique, principalement de l'hydroxyapatite, à 20% de matière organique et à 10% d'eau.

La partie organique est composée principalement de protéines collagéniques de type I (85%), et de type III et V en faible quantité. (7).

Des protéines non collagéniques sont aussi présentes : sialophosphoprotéine dentinaire, phosphoprotéine matricielle dentinaire-1, sialoprotéine osseuse, ostéopontine, phosphoglycoprotéine extracellulaire matriciel.

Les protéines non collagéniques permettent la minéralisation de la dentine après leur fixation sur les fibres de collagène. Elles entraînent le dépôt de l'hydroxyapatite à l'intérieur et à la surface des fibres de collagène.

1.2. L'Email

L'émail est le tissu calcifié le plus dur de l'organisme. Les améloblastes sont à l'origine de sa formation, puis une fois que la dent a fait son éruption, ces cellules sont perdues. L'émail n'a donc pas, contrairement à la dentine, la capacité intrinsèque d'être renouvelée.

1.2.1. Composition de l'émail

L'émail est composé à 96 % de la matière inorganique, ce sont les cristaux d'hydroxyapatite. (8)

L'émail mature est composé de 96% de matières minérales et de 4% de matière organique et d'eau. La composante minérale est de l'hydroxyapatite (comme pour la dentine). La composition minérale très élevée rend l'émail très dur mais très cassant. La phase organique (4%) est composée de protéines. La protéine principale est l'amélogénine (et ses nombreuses isoformes), l'améloblastine et l'enameline sont également présentes. Ces protéines sont responsables de l'apposition des couches d'émail.

D'autres protéines sont présentes à différents stades de maturation de l'émail afin de dégrader les protéines ayant participé à l'apposition des couches d'émail une fois leur travail terminé.

1.2.2. Organisation de l'émail

L'organisation de l'émail est faite sous forme de prismes et de substance inter prismatique, la zone où les cristaux d'émail prismatiques et interprismatiques se touchent est appelée gaine prismatique. Les barres d'émail ne possèdent pas, contrairement à ce qui a longtemps été pensé, de géométrie régulière, elles ne sont hexagonales qu'au moment de leur maturation. (Figure 1 A).

Ces prismes sont constitués de cristaux d'hydroxyapatite de 60 à 70 nm de large et de 25 à 30 nm d'épaisseur, leur longueur quant à elle est remarquable, certaines études affirment que la longueur des cristaux d'hydroxyapatite traverserait tout l'épaisseur de l'émail.

L'émail est donc composé de prismes d'émail entourés de substance inter prismatique. À la surface de l'émail, il y a de l'émail aprismatique externe qui correspond à une phase de maturation post-sécretoire. Au contact de la dentine, de l'émail aprismatique interne est présent (Figure 2). (8)

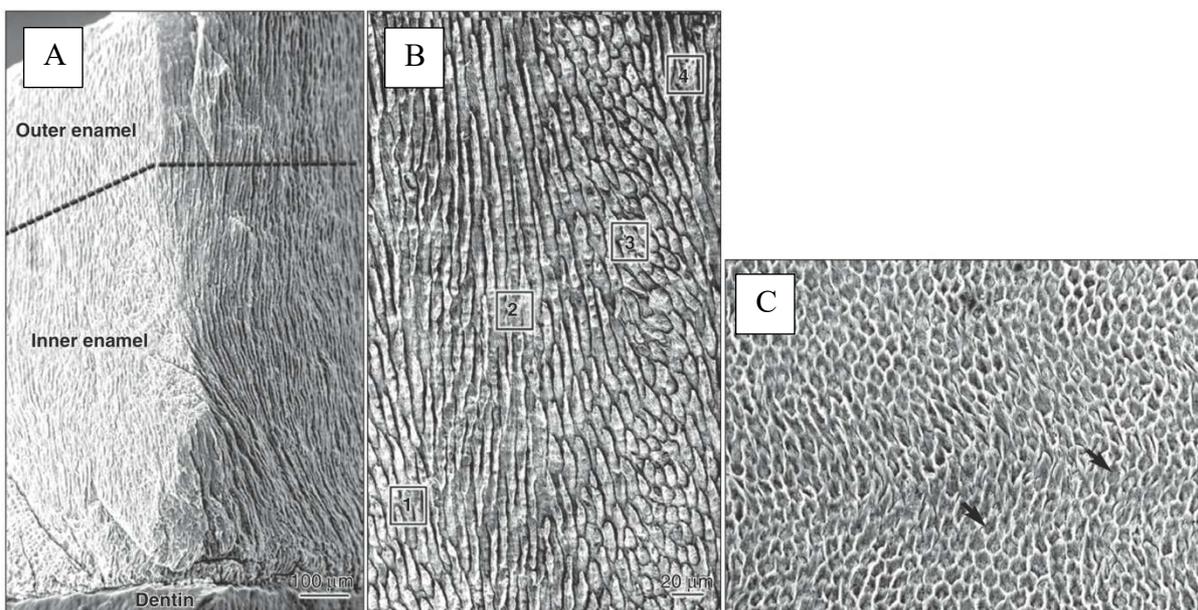


Figure 1 : A et B, image de microscope électronique à balayage illustrant la trajectoire complexe des prismes au niveau des deux tiers de l'émail de la dent. B, les prismes sont organisés en groupes de différentes orientations. Quatre groupes

adjacents sont visibles. **C**, sur cet échantillon fracturé, il y'a des prismes fracturés au milieu de substance inter prismatique. (8)

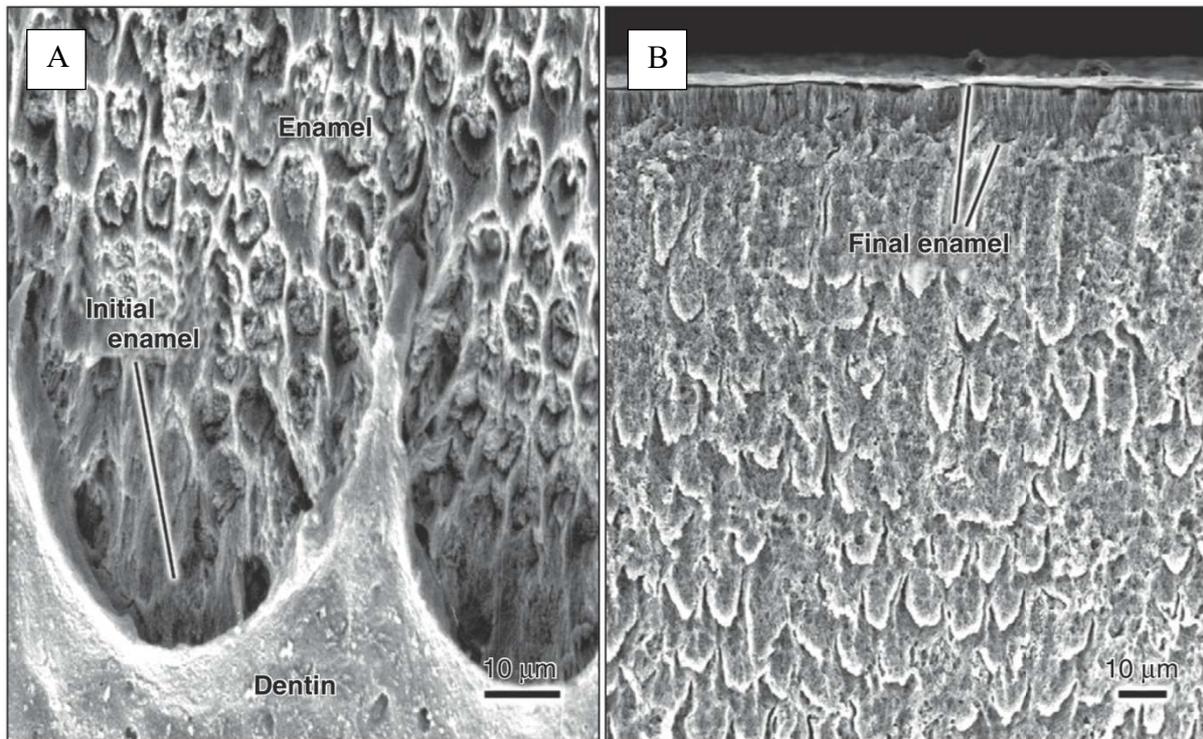


Figure 2 : Images MEB **A** montre de l'émail initial, **B** de l'émail final, les deux sont aprismatique, par conséquent les deux ne contiennent pas de prisme d'émail. (8)

1.3. La boue dentaire

La boue dentaire où « smear layer » en anglais apparait au niveau des surfaces dentaires après qu'elles aient été préparées par les instruments rotatifs. Son épaisseur est variable (1 à 3 µm). La boue dentinaire, au niveau de la dentine, se loge dans les tubuli dentinaires créant ainsi des bouchons dentinaires qui réduisent le potentiel adhésif (Figure 3). (9)

Toutefois, certains adhésifs se lient à l'hydroxyapatite et forment des sels de calcium. Lors du nettoyage de la couche de boue dentinaire, une partie du calcium et du phosphate de la surface dentinaire sont retirés, cela diminue le potentiel de l'adhésif universel. (10)

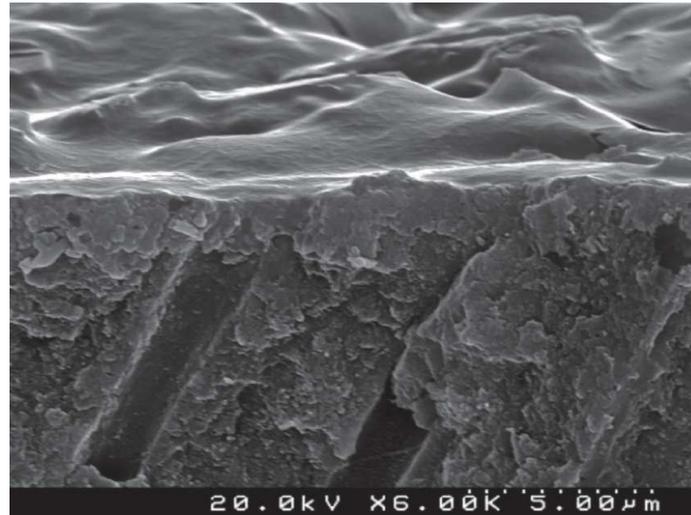


Figure 3 : image au microscope électronique à balayage de dentine recouverte de boue dentinaire (grossissement x 6000). (11)

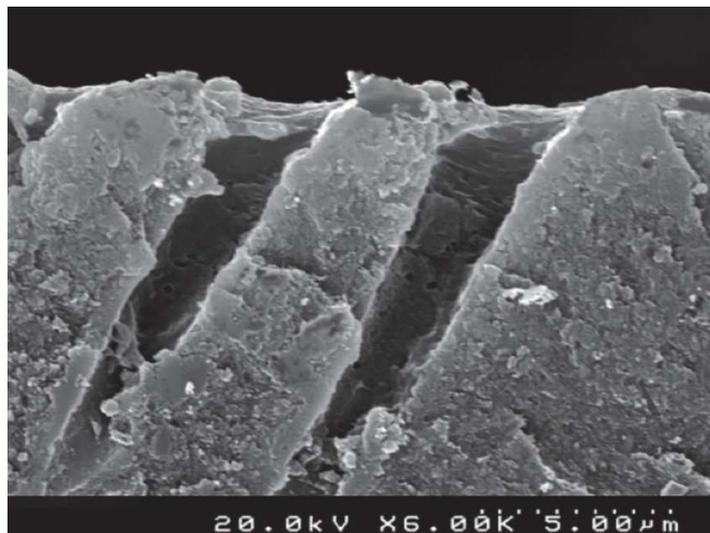


Figure 4 : Image au microscope électronique à balayage de dentine préparée à l'acide orthophosphorique 36% (grossissement 6000x). (11)

2. Le mordantage

Il existe trois stratégies de mordantages :

Le mordantage total correspond à une technique de mordantage dans laquelle l'émail est mordancé pendant 30 secondes et la dentine pendant 15 secondes. Il est

admis qu'avec un mordantage comme celui-ci, les valeurs d'adhésion des adhésifs sont optimales. Ce type de mordantage s'emploie avec un adhésif type MR.

Le mordantage sélectif, dans lequel l'émail est mordancé pendant 30 secondes. Et la dentine ne l'est pas du tout. Cela va permettre de diminuer les sensibilités post-opératoires en laissant la boue de fraisage recouvrir la surface dentinaire. Ce mordantage va surtout s'employer avec des adhésifs auto-mordant ou avec des adhésifs universels.

Le mordantage de la dent uniquement par l'adhésif. C'est une stratégie qui n'est réalisable qu'avec des adhésifs *self-etch* (SAM ou adhésifs universels). Ils s'utilisent sans agent de mordantage à proprement parler puisque ce sont les monomères acides, contenus dans le système adhésif, qui vont déminéraliser et infiltrer la dentine et l'émail.

2.1. Durée de mordantage

Le temps de mordantage est crucial. Les effets de l'acide orthophosphorique ne sont pas les mêmes sur l'émail et la dentine. Les objectifs attendus de la part du mordantage sont différents en fonction des adhésifs qui sont appliqués. En effet, les fabricants d'adhésifs universels recommandent soit une application en mordantage total ou en *self-etch* de la part de l'adhésif. Étant donné l'importance de la boue dentinaire après le passage des instruments rotatifs, un mordantage sur la dentine de 3 secondes est effectué sur la dentine, ceci dans le but de diminuer la couche de boue dentinaire sans la retirer entièrement afin de permettre aux monomères acides de se lier aux cristaux d'hydroxyapatite.

Plusieurs études récentes sont en faveur d'une diminution du temps de mordantage de la dentine. Shafiei *et al.* (12) montrent une amélioration de l'adhésion avec un temps de mordantage de 5 ou 10 secondes plutôt que 15 secondes. Takamizawa *et al.* (13) montrent une amélioration significative de l'adhésion avec des temps de 3 ou 10 secondes par rapport à un mordantage de 30 secondes. Pour Sardella *et al.* (14) la réduction de moitié du temps de mordantage sur une dentine déciduale (7 secondes au lieu de 15) avant application d'un adhésif universel augmente significativement l'adhésion.

2.2. Mordançage actif ou passif

Le conditionnement tissulaire par mordançage se fait de manière passive (application de l'acide et attente) ou active (application de l'acide en frottant). L'hypothèse principale est que aucune différence ne sera observée entre les différents protocoles de mordançage.

3. Le collage

3.1. Les adhésifs en dentisterie

3.1.1. Évolution des systèmes adhésifs

3.1.1.1. Les systèmes MR (mordançage rinçage)

Ce sont les systèmes adhésifs qui utilisent systématiquement un pré-mordançage à l'acide ortho phosphorique de 30 secondes avant l'application d'autres produits.

Le mordançage se fait à l'aide d'un gel, la plupart du temps, d'acide orthophosphorique pendant 30 secondes au niveau de l'émail et 15 secondes au niveau de la dentine.

Les temps d'application de l'acide varient en fonction de la concentration de l'acide (généralement entre 30 et 37%). Le mordançage de l'émail entraîne l'apparition de rétentions favorables à l'ancrage micro-mécanique de l'adhésif.

Si le mordançage est bien appliqué sur l'émail et que sa concentration est suffisante (supérieure à 20%) alors, l'aspect de l'émail est mat et crayeux. Cela permet de contrôler que le mordançage est bien effectué sur chaque zone.

Sur la dentine, les effets du mordançage sont différents. L'attaque acide va non seulement permettre le nettoyage de l'essentiel des boues dentinaires, mais également l'ouverture des tubuli dentinaires ainsi que la déminéralisation partielle de la dentine péri et inter-tubulaire.

La zone superficielle de dentine déminéralisée est un enchevêtrement de fibrilles de collagènes qui sont inondées et réparties dans l'eau lorsque l'acide est rincé.

La partie de dentine, sur laquelle l'acide est appliqué et rincé, est donc à peu près constituée de $\frac{3}{4}$ d'eau et $\frac{1}{4}$ de collagène. Pour pouvoir infiltrer cette zone de dentine, il faut donc des produits hydrophiles. Malheureusement, les monomères

méthacryliques qui permettent une copolymérisation suffisante avec le matériau de restauration sont hydrophobes. Et si la surface de la dent est entièrement desséchée (surtout au niveau de la dentine) cela entraîne une fusion des fibrilles protéiques.

La surface dentinaire devient donc collapsée par les fibrilles de collagène et ne permet plus une bonne infiltration de la résine.

Les différents systèmes adhésifs tentent de répondre au mieux à ces problématiques.

3.1.1.2. MR 3

Un système adhésif amélo-dentaire MR 3 se décompose en trois temps opératoires. Le mordantage est suivi par l'application d'un primaire, puis par l'application d'une résine liante (adhésif) qui sera polymérisée.

Après l'application du mordantage, le rinçage et le séchage de ce dernier, le primaire est appliqué.

Le primaire

Souvent qualifié d'agent de couplage, le primaire permet d'assurer la liaison entre une surface dentaire hydrophile et une résine sus-jacente hydrophobe. Les primaires contiennent de l'eau, des monomères hydrophiles et des solvants organiques. Un des monomères les plus couramment employé est l'HEMA (hydroxy-éthyl méthacrylate). C'est le seul méthacrylate à être entièrement soluble dans l'eau. Grâce au solvant présent dans le primaire, l'évaporation de l'eau sera facile. Si l'eau est encore présente, elle va entraîner des lacunes ainsi qu'une diminution du taux de conversion des monomères de résine. (15)

La résine adhésive

La troisième étape du système MR 3 consiste à appliquer de la résine adhésive hydrophobe plus ou moins chargée, qui va se lier au primaire sous-jacent et qui permet une rétention de la résine grâce à un clouage micromécanique.

Si les étapes sont bien menées, après la copolymérisation avec le composite, une interphase étanche entre le composite et la dentine intacte est créée. Cette interphase est constituée d'une couche hybride inter et péri-tubulaire et de brides résineuses intra-tubulaires.

La couche hybride et les tags (brides de résine)

La couche hybride est formée par 2 types de polymères : les macromolécules de l'adhésif, qui sont des polymères de synthèse et les fibres de collagène, qui sont d'origine naturelle. Grâce à l'infiltration de la résine dans les tubuli dentinaires, cette adhésion est comparable à un velcro. Les brides résineuses intra-canalculaires jouent aussi un rôle important dans l'adhésion dentinaire.

3.1.1.3. MR 2

Il s'agit d'un mordantage suivi de l'application d'un produit unique. C'est-à-dire que des éléments du primaire et de la résine adhésive sont mélangés en un seul flacon. Des monomères hydrophobes sont ainsi mélangés à des monomères hydrophiles, des solvants, des charges et des amorceurs de polymérisation. La présence de solvants, généralement de l'alcool ou de l'acétone, permet d'activer la pénétration du liquide et favorise l'évaporation de l'excès d'eau.

Le gain de temps et la simplification apparente dû fait de l'absence d'application de primaire, par rapport aux MR3 est illusoire. Tout le problème réside dans le degré d'humidité de la dentine mordancée. Si la dentine est trop humide avant l'application de l'adhésif, le joint n'est plus étanche, c'est le « sur-mouillage ». (16) Si au contraire elle est séchée à l'excès, le collagène de la dentine va s'effondrer et donc, comme évoqué précédemment, la résine ne pourra pas infiltrer correctement le réseau de collagène. Sur l'émail il y a moins de risques opératoires. L'émail peut être séché sans que cela n'impacte trop l'adhésion.

3.1.1.4. Les systèmes SAM (systèmes auto-mordant)

Les systèmes auto-mordant contiennent de l'eau et des monomères acides qui déminéralisent et infiltrent l'émail et la dentine. Pour la dentine, une dissolution de la phase minérale de la boue dentinaire est observée. Les ions calcium et phosphate ainsi libérés vont se lier à l'adhésif. À l'aide de leurs groupements carboxyles ou phosphates, des monomères vont former des liaisons chimiques avec l'hydroxyapatite. Ainsi, la cohésion de la résine est supérieure une fois la polymérisation faite. Avec cette attaque acide légère, la boue dentinaire ne va pas être totalement éliminée, mais elle va pouvoir être infiltrée par la résine. Une fois

polymérisée, la zone hybride contient donc des protéines de la dentine et de la boue dentinaire. L'acidité des monomères des SAM est comprise entre 0,8 et 2,5. La couche hybride est donc de faible épaisseur par rapport à celle qui est obtenue avec un mordantage préalable à l'acide orthophosphorique.

3.1.1.5. SAM 2

Le système SAM 2 est composé d'une solution de primaire acide et d'un second flacon contenant une résine hydrophobe. Le primaire acide déminéralise et infiltre les tissus dentaires calcifiés. Après séchage, une résine hydrophobe est appliquée.

3.1.1.6. SAM 1

Le système SAM1 est composé d'un seul flacon. A lui seul, il va remplir les rôles de mordantage, de primaire et d'adhésif. L'avantage principal est de simplifier la procédure clinique. Cela permet de diminuer les erreurs liées au protocole de collage (sur ou sous mordantage, excès ou manque d'humidité, etc). La limite de ces produits réside dans le fait qu'ils contiennent à la fois de l'eau, des monomères hydrophiles, des solvants et des monomères hydrophobes. Du fait de la présence de ces multiples produits, ils peuvent être sujet à des séparations de phase si l'évaporation de l'eau n'est pas suffisante.

3.1.1.7. Les adhésifs universels

Les adhésifs universels ont la possibilité d'être utilisé avec ou sans mordantage préalable. Ils laissent ainsi au praticien la possibilité de choisir en fonction de la situation.

Contrairement aux adhésifs type SAM, un monomère fonctionnel est présent. Il assure une liaison mécanique ainsi qu'une liaison chimique. Le monomère le plus courant est le 10-MDP (10 Methacryloyloxydecyl Dihydrogen Phosphate), il va coller naturellement à l'hydroxyapatite à l'aide du groupement phosphate et forme ainsi des sels de calcium.

3.1.1.7.1. Adhésif universel prime and bond active® de chez Dentsply

L'adhésif universel prime and bond de dentsply contient des monomères acides (Figure 5) comme le 10-MDP (10-méthacryloyloxydecyl dihydrogène phosphate) à gauche et le PENTA (Dipentaerythriol penta acrylate monophosphate) à droite qui possèdent des doubles liaisons réactives en vert et des groupements acides en rouge. Le PENTA présente certains avantages. Son cœur hydrophile et ses 5 doubles liaisons par molécule lui permettent un grand potentiel de diffusion et une mouillabilité accrue.

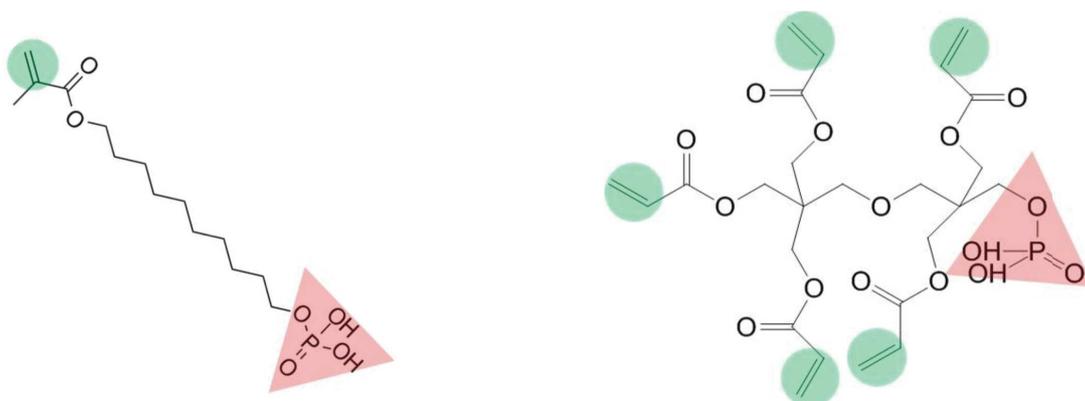


Figure 5 : représentation d'une molécule de 10 MDP (10-méthacryloyloxydecyl dihydrogène phosphate) à gauche et de PENTA (Dipentaerythriol penta acrylate monophosphate) à droite. (17)

La combinaison du MDP et du PENTA permet d'obtenir un pH d'environ 2.5. En plus de l'équilibre hydrophile/hydrophobe de la formule, un contrôle du pH est essentiel pour les adhésifs universels, cela permet la compatibilité avec les autres résines. (18) Ces deux monomères mordantent la surface dentaire et permettent la libération d'ions calciums. Ces ions vont ensuite intégrer la couche hybride en formant des complexes irréversibles calcium-phosphate.

Classiquement, pour les résines acryliques adhésives un mélange de deux parties A et B est retrouvé :

- A) un réticulant tel que le bisGMA (Bisphenol A diglycidyl methacrylate) ou UDMA (urethane diméthacrylate).

- B) un diluant réactif comme l'HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate) ou le TEGDMA (triéthylène glycol diméthacrylate).

Le rôle des réticulants hydrophobes (A) est d'assurer une durabilité au long terme et une longévité clinique en formant un réseau dense et stable. Le rôle des diluants réactifs hydrophiles (B) est de réduire la viscosité et d'augmenter la solubilité de la matrice de A. Le fait d'avoir un mélange A+B entraîne des désavantages, un d'entre eux étant la possibilité de se retrouver avec 2 phases séparées si de l'eau contamine la surface dentaire.

Le prime and bond active contient à la place de A et B une molécule réticulante bifonctionnelle qui possède des fonctions N-allyl avec un haut degré de réactivité à la polymérisation ainsi qu'une très faible viscosité. Elle est appelée active guard™ (Figure 6).

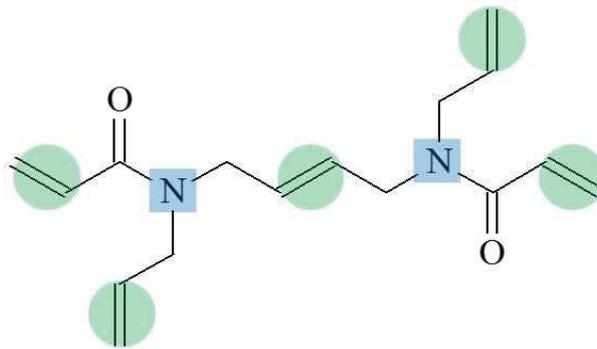


Figure 6 : Structure de l'agent de couplage, segment de la molécule Active-Guard. Les doubles liaisons réactives et les centres N-allyl sont marqués. (17)

Enfin, la présence de solvant accélère l'évaporation de l'eau. Mais il n'existe pas un solvant parfait pour tous les adhésifs. Le solvant doit être choisi une fois la composition générale de l'adhésif faite afin de déterminer le temps d'évaporation nécessaire. (19)

Parmi les solvants, l'eau est un incontournable, il permet de ioniser les groupements phosphates des monomères acides et donc permettre l'action *self-etch* de ces systèmes. Un deuxième solvant est nécessaire afin de permettre l'évaporation de l'eau avant la photo polymérisation.

L'isopropanol est entièrement soluble dans l'eau, et ce, peu importe les proportions. Il est moins hydrophile et un peu plus visqueux que l'éthanol mais en tant que solvant secondaire, il offre un équilibre entre polarité et mouillabilité. Il permet aussi une bonne

conservation du mélange. L'adhésif universel Prime & Bond de Dentsply II ne contient donc pas d'HEMA, UDMA, TEGDMA ou de Bisphenol. (17)

3.2. Évolution des composants adhésifs

Différents monomères peuvent être contenus dans un système adhésif amérodentinaire. Ces derniers peuvent entrer dans la composition du système pour leurs propriétés physiques (rigidité, élasticité) ou pour leur capacité à mouiller ou à se lier au substrat. Ces monomères sont souvent associés pour combiner les avantages de chaque molécule tout en minimisant les inconvénients.

3.2.1. 10 MDP

Acide 10-méthacryloyloxydecyl dihydrogène phosphate

Il a été créé par Fusayama en 1979 (20) c'est un mono ester d'acide phosphorique à faible concentration. Il possède une chaîne de molécules organiques hydrophobes et deux groupements fonctionnels terminaux. L'un déminéralise la dentine et se lie à la partie minérale (hydroxyapatite) et l'autre polymérise avec les monomères de la résine.

3.2.2. PENTA

Dipentaerythriol penta acrylate monophosphate

Le PENTA fait partie des composants du prime and bond active®, il a un cœur hydrophile et cinq doubles liaisons par molécule lui permettant un grand potentiel de diffusion et une mouillabilité accrue.

3.2.3. HEMA

Hydroxyéthyl méthacrylate

Il s'agit d'une molécule hydrophile qui infiltre la dentine déminéralisée partiellement réhydratée. Il est soluble dans l'eau et l'acétone, mais il est peu stable en présence d'eau (il s'hydrolyse en éthylène glycol et acide méthacrylique). (21) (22)

L'HEMA stabilise le réseau de collagène. Il possède une faible viscosité. Si sa concentration est élevée, la vitesse de polymérisation diminue ainsi que la densité de réticulation. (23) (24)

3.2.4. UDMA

Diméthacrylate d'uréthane

Étant donné que le mordantage acide de la dentine diminue son module d'élasticité (25), certains monomères comme l'UDMA confèrent une élasticité à l'adhésif. Il va ainsi diminuer les contraintes à l'interface.

Puisque l'UDMA n'est pas soluble dans l'eau, il doit être inclus dans un solvant.

3.2.5. Bis GMA

Bisphénol A glycidyle méthacrylate

Le Bis GMA est connu du grand public car il est actuellement pointé du doigt en tant que perturbateur endocrinien. C'est pourtant un monomère de réticulation très polyvalent. Il est présent dans de nombreux systèmes adhésifs. Il a une forte réactivité à la polymérisation et une haute viscosité. Il n'est pas très soluble dans l'eau. (24)

3.2.6. TEGDMA

Triéthylène Glycol Diméthacrylate

Sa viscosité est faible, sa présence permet d'améliorer la solubilité de l'adhésif dans l'eau. Il n'est pas très stable dans l'eau, et sera rapidement hydrolysé dans un milieu acide et à température ambiante. (23) (24)

Chapitre II :

Méthodes

1. Microscope confocal

Le microscope confocal est utilisé dans les études biomédicales, il a une profondeur de champs d'environ 400 nm. C'est un microscope photonique composé d'une source de lumière, d'un trajet optique réglable et de capteurs (photomultiplicateurs).

L'échantillon n'est pas éclairé par un faisceau de lumière, mais par un éclairage ponctuel (S) grâce à un faisceau laser focalisé par une première lentille, un miroir dichroïque ainsi que l'objectif (tracé bleu sur la figure 7).

Il va fonctionner comme un microscope à fluorescence classique, les échantillons doivent être marqués avec des fluorochromes qui vont être activés par le laser correspondant. Les émissions renvoyées par les fluorochromes excités sont reçues par les capteurs, l'image ainsi obtenue sera retransmise point par point sur l'écran. Pour permettre l'observation de la zone éclairée uniquement, un *pin hole* ou sténopé permet de ne laisser passer que la lumière en provenance du point focal S (tracé vert sur la Figure 7).

Les images de fluorescence obtenues ne sont composées uniquement de la fluorescence émise au plan focal. Cela permet une bonne résolution sans traitement. (26)

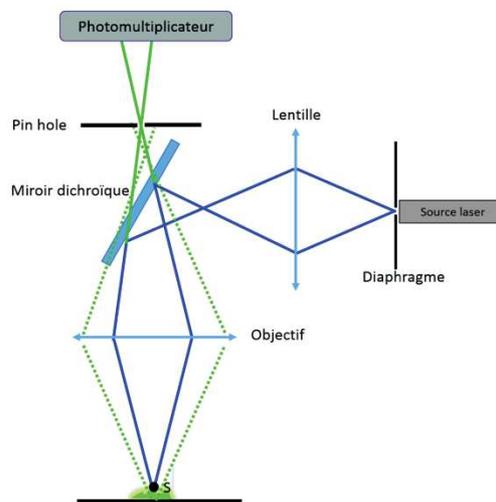


Figure 7 : Schéma d'un microscope confocal. Le tracé bleu représente le chemin du faisceau laser focalisé qui éclaire l'échantillon. Le tracé vert en pointillés représente la fluorescence parasite induite par l'éclairement de l'échantillon. Elle est arrêtée grâce au pin hole et seule la fluorescence émise par le point éclairé par le laser

arrive au photomultiplicateur (tracé vert) (Figure issue de : Allais M. thèse 2018(1)) (27).

2. Microscope électronique à balayage (MEB)

Le microscope électronique à balayage (MEB) utilise un faisceau d'électrons produits par un canon à électrons. Des lentilles électromagnétiques vont focaliser le faisceau sur l'échantillon, ce faisceau très fin d'électrons de tension réglable entre 0,1 et 30 kilovolts (kV) va permettre d'obtenir l'image. Le contact entre l'échantillon et les électrons va provoquer la formation d'électrons secondaires qui ont une énergie plus faible. Ces électrons secondaires sont amplifiés et convertis en signal électrique après avoir été recueillis par un détecteur (Figure 8). Cela va être fait pour chaque point de l'échantillon grâce à un balayage du microscope. L'ensemble des signaux permet de reconstruire la composition de l'échantillon et va ainsi donner une image en relief.

Pour que les échantillons soient analysés au MEB, ils doivent être déshydratés et traités afin de les rendre conducteur. Afin d'améliorer la qualité des images obtenues, une métallisation préalable des échantillons peut être réalisée.

La résolution du microscope électronique à balayage est de 1 nanomètre.

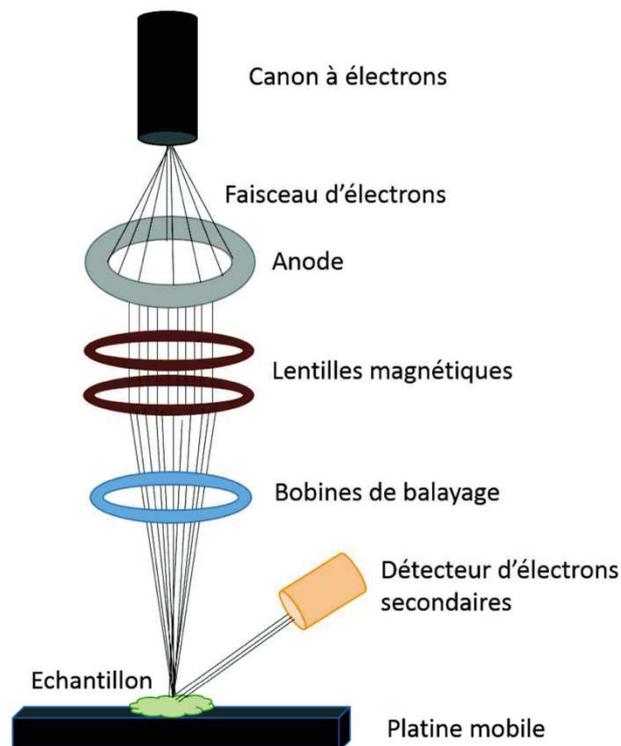


Figure 8 : Représentation schématique d'un microscope électronique à balayage. Le faisceau électronique est produit par un canon à électrons entre une cathode et une anode. Le faisceau d'électrons est ensuite focalisé grâce à des lentilles magnétiques. Le faisceau interagit ensuite avec l'échantillon produisant des électrons secondaires qui sont détectés par un détecteur d'électrons secondaires. (27) (Figure issue de : Allais M. thèse 2018 (1))

3. Spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX)

L'EDX ou microanalyse à rayons X dispersive en énergie couplée au microscope électronique à balayage (MEB) permet la détermination de la composition chimique de la surface examinée. Elle analyse les rayons X produits par l'échantillon qui se trouve exposé au faisceau d'électron du MEB. Le rayonnement émis lors de l'interaction entre les rayons X et la matière est transmis sous forme de spectre, les pics d'intensités caractéristiques des éléments métalliques et minéraux apparaissent alors.

(27)

La microanalyse X permet une analyse élémentaire, en détectant les raies X des éléments. Elle analyse avec une résolution dans l'espace de l'ordre de $1 \mu\text{m}^3$. C'est une analyse à la fois qualitative et quantitative.

Principe de la spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX) :

Quand le faisceau d'électron va entrer en collision avec l'échantillon, des électrons seront éjectés. L'atome va ensuite se ioniser en réalisant une transition d'un électron d'un niveau externe vers la lacune. Cette énergie va être libérée sous forme d'un photon X ou d'un électron Auger. Les photons X sont caractéristiques de la transition et donc de l'élément concerné.

Les raies caractéristiques des éléments vont être indexées en énergie (eV) ou en longueur d'onde (Å ou nm) d'après la relation $\lambda = hc/E$, (λ longueur d'onde, h constante de Planck, c vitesse de la lumière et E énergie cinétique)

Le spectromètre à sélection d'énergie (EDS).

Il s'agit d'une diode SiLi (silicium-lithium) qui est couplée à un analyseur multicanal, cela permet de faire le classement des photons X en fonction de leur énergie (Figure 9).

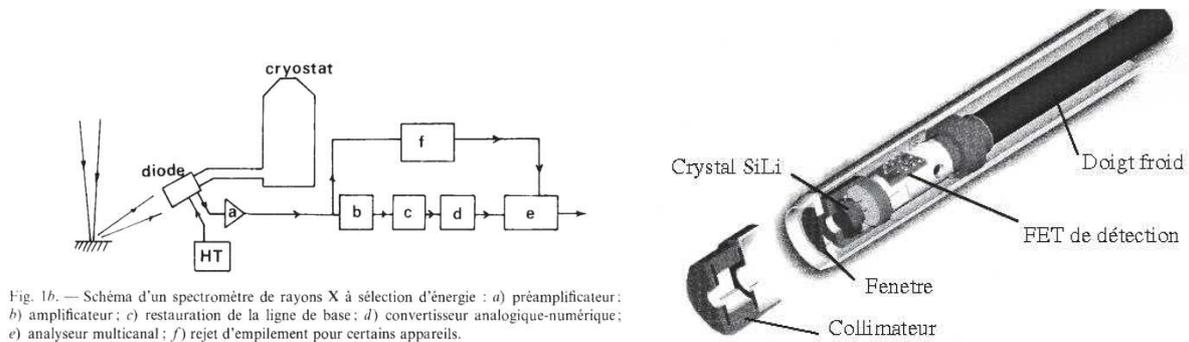


Figure 9 : Chaîne de mesure analogique en EDS (Maurice et al 1978) et éclaté d'un détecteur SiLi (doc. Gresham). (2)

Grâce à ce phénomène l'analyse de plusieurs structure est possible :

- Une surface globale pouvant varier de quelques mm à quelques μm de côté.
- Un point, dont la position est choisie par l'utilisateur. La plage analysée sera alors de l'ordre du micron-cube pour des échantillons épais, indépendamment du diamètre du faisceau d'électrons, de par la diffusion des électrons dans le matériau. (2)

4. Tests de rupture

Pour étudier les hypothèses avancées, des tests standardisés sont nécessaires. Ceux utilisés pour démontrer la ténacité des adhésifs sont généralement des tests permettant la rupture de cette interface. Il existe deux types de tests principaux, les tests de tractions et ceux de cisaillement. Ces tests sont divisés en deux catégories, les tests macro et les tests micro. L'appartenance à l'un ou l'autre groupe se fait par la surface de l'interface testée. Un test de ténacité est dit macro si l'interface testée est de plus de 3 mm^2 . Il sera qualifié de micro si l'interface est inférieure à cette valeur. Depuis 1995, l'utilisation des tests micro s'est répandue aux dépens des tests macro. (28)

4.1. Test de cisaillement

Lors de la réalisation de tests de cisaillement, une force est appliquée perpendiculairement à l'interface entre les deux matériaux. Un des matériaux est fermement fixé et l'autre est poussé jusqu'à la rupture de l'interface (Figure 10). Ce test permet de mimer une force appliquée au niveau des dents antérieures, par exemple pour des facettes ou bien des brackets orthodontiques. En effet, ces réalisations sont soumises à des forces de cisaillements. Lors de la mastication pour les facettes, et lors des mouvements orthodontiques pour les brackets. Les tests de cisaillement sont recommandés pour les échantillons fragiles comme les verres ionomères ou l'émail qui risqueraient d'être endommagés par les manipulations induites par d'autres tests tels ceux de micro-traction.

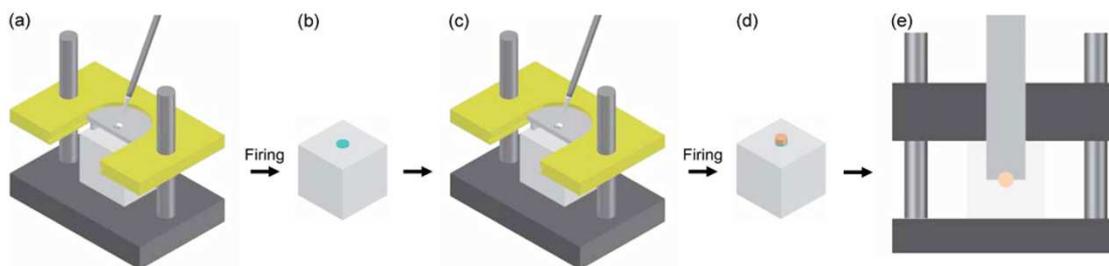


Figure 10 : exemple de tests de cisaillement sur un échantillon. (d) le plot est collé sur le support, (e) une lame vient presser le plot jusqu'à son décrochage. (3)

4.2. Test de traction (TBS)

Les tests de tractions mesurent la force nécessaire à l'arrachement de l'adhésif dans le grand axe de l'échantillon (Figure 11).

Les tests de résistance à la traction et en particulier ceux qualifiés de micro (μ TBS) sont de plus en plus utilisés dans le domaine scientifique. Ce sont les tests les plus appropriés pour mesurer des forces d'adhésion à la dentine (5) (29) (30). La méthode de test μ TBS a été introduite par Sano *et al.* en 1994 (31). Il a été observé que la force de résistance à la traction augmentait de manière inversement proportionnelle avec la surface de l'interface testée, et cela de pour des interfaces de 0.25 à 12 mm².

C'est un des tests les plus répandu car il permet d'obtenir un grand nombre de résultats à partir d'une seule dent. Pour réaliser ce test, des sticks sont fabriqués et chaque extrémité est collée sur les mords d'une machine de traction.

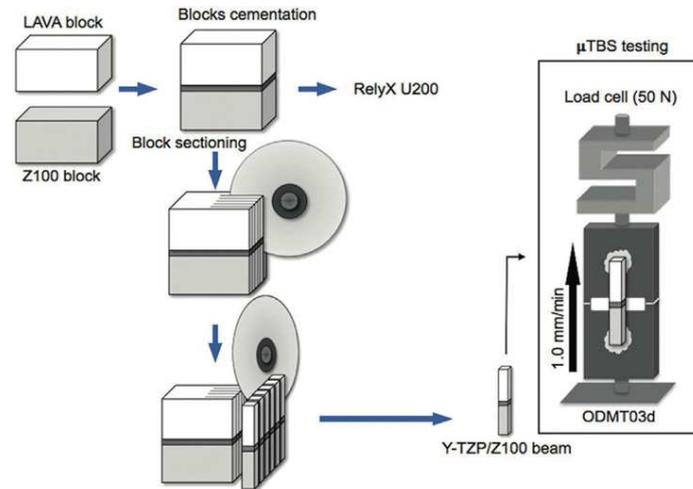


Figure 11 : exemple de fabrication d'échantillons en sticks en vue de tests de μ TBS.
(4)

La forme des sticks peut varier, elle peut soit être en forme d'allumettes (section carrée) soit retravaillée pour être en forme de sablier voir même en forme d'haltère (Figure 12). D'après une étude de Ghassemieh *et al.* (32), un test expérimental d'éléments finis confirme que la forme « sablier » présente les valeurs de tractions les plus basses ; et que la forme « stick » et « haltères » ne présentent pas de différences significatives. (33) (34) (35). Malgré tout, il est recommandé de préparer des sticks de forme classique afin de diminuer les risques de stress lors des manipulations. (30)

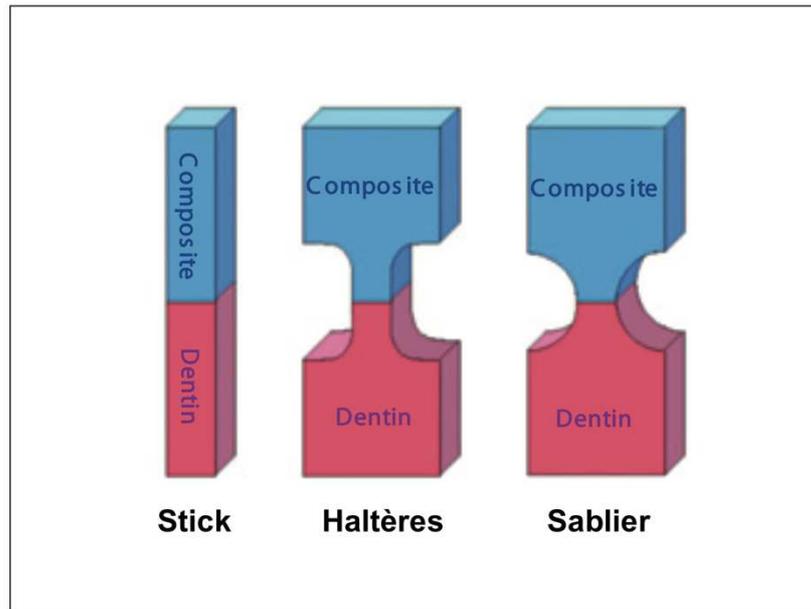


Figure 12 : exemples d'échantillons de μ TBS Stick, Haltère et Sablier. (5)

Des sticks simples ont été réalisés. Il s'agit de la forme d'échantillon qui permet de réduire au maximum le temps de traitement. En effet, pour obtenir des formes de sablier ou des haltères les sticks subissent à nouveau des stress par un usinage supplémentaire.

La fixation des échantillons sur la machine de traction est très importante. Classiquement, l'échantillon est collé de part et d'autre par une de ses faces. Cela entraîne une traction-flexion de l'échantillon et donc cela va biaiser les résultats. Dans le cas idéal, les tests sont réalisés en traction pure. Des porte échantillons sur mesure ont donc été réalisés pour chaque échantillon. Bien que chronophage, ils permettent l'obtention de valeurs plus justes. (36)

Chapitre III :
Analyse qualitative de la
surface dentinaire après
mordançage

1. Introduction

Une étude menée par Kharouf *et al.* sur l'analyse de la composition chimique de la surface dentinaire après différents traitements par acide est à l'origine de nos réflexions. Cette étude a permis d'analyser plusieurs effets du mordantage sur les caractéristiques chimiques et physiques de la dentine.

L'acide orthophosphorique sous forme de gel et de liquide a été utilisé, ses effets sur la modification du collagène sont connus (37). Les effets de l'acide polyacrylique ont également été observés sur les échantillons. La surface dentinaire est observée au MEB afin de déterminer les changements de microstructure. La composition chimique est analysée à l'EDX (38) (39).

L'étude est menée sur des disques de dentines issues de molaires maxillaires passés au papier de verre 320 afin de reproduire une boue dentinaire. Les disques sont répartis en quatre groupes (GI, GII, GIII et GIV). Le groupe I est un groupe témoin, la dentine n'a subi aucun traitement. Le groupe II est mordancé à l'acide phosphorique 37% sous forme de **gel** pendant 15 secondes. Le groupe III est mordancé à l'acide phosphorique 37% sous forme **liquide** pendant 15 secondes. Le groupe IV est mordancé à l'acide polyacrylique 25% en le frottant à la *micro-brush* pendant 15 secondes.

Après les manipulations, les dents sont rincées puis métallisées avant d'être observées au MEB. L'analyse chimique est faite à l'aide d'un EDAX Octane plus sur 10 zones de $443 \mu\text{m}^3$ pour chaque échantillon.

Les données récoltées sont interprétées à l'aide de Sigma Plot (Version, 11.2). Un test de Variance Anova One Way est utilisé pour comparer les pourcentages en masse de calcium.

Quand les surfaces dentinaires de chaque groupe sont observées, une épaisse couche de boue dentinaire est visible sur la dentine du groupe I (Figure 13A). Le groupe II présente des tubuli larges bien ouverts (Figure 13B). Le groupe III montre aussi une dissolution de la boue dentinaire avec en plus une présence accrue de fibres

de collagènes (Figure 13C). Le groupe IV quant à lui a des bouchons dentinaires dans ces tubuli (Figure 13D).

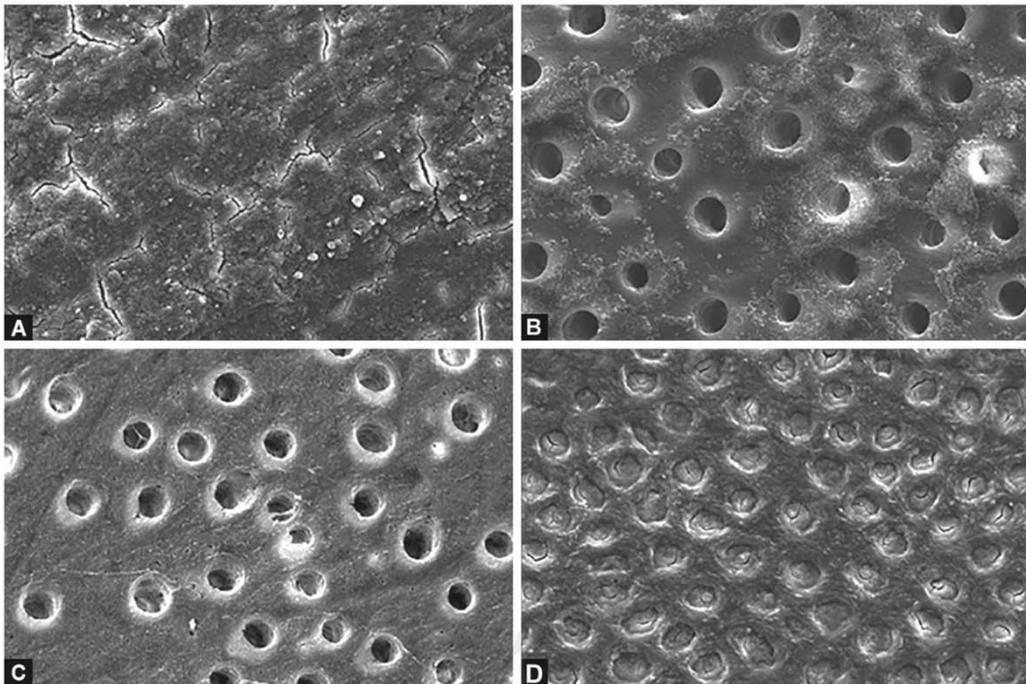


Figure 13 : Images MEB (A) groupe témoin (G1) dentine inaltérée, (B) acide phosphorique sous forme de gel 15 s (GII), (C) acide phosphorique sous forme liquide 15 s (GIII), (D) acide polyacrylique sous forme liquide 15 s (GIV). Iconographie personnelle – INSERM UMRS 1121.

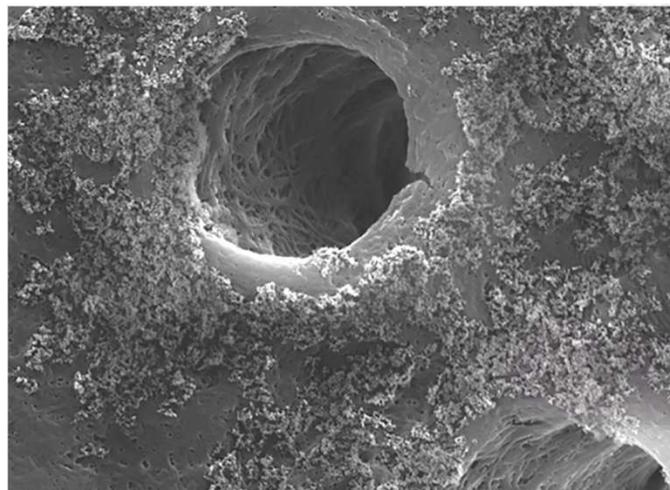


Figure 14 : grossissement important du groupe II, les débris de silices dû à la formulation de l'acide en gel sont visibles. Iconographie personnelle – INSERM UMRS 1121.

2. Analyse qualitative de la surface dentinaire après traitement (EDX)

Le pourcentage en masse de calcium à la surface dentinaire dans chaque groupe est exposé dans le tableau 1. Tous les pourcentages de calcium des échantillons sont significativement différents entre eux. Seul le groupe II présente à sa surface des particules de silice. Cela vient du fait que la silice est utilisée comme agent épaississant dans les formulations en gel (Figure 13 B) (Figure 14). L'utilisation d'acide pour déminéraliser la dentine charge positivement le collagène, cela rendant les fibres de collagène particulièrement sensibles aux nano particules négatives de silices. (40) En ce qui concerne la déminéralisation, une profondeur de 6 μm pour l'acide phosphorique sous forme de gel (GII) est relevée, et de 4,5 μm pour les groupes GIII et GIV.

La composition chimique du groupe témoin (GI) est : C, N, O, P et Ca. Après les traitements acides, le calcium a diminué dans les trois groupes (GII, GIII et GIV), cela est apparemment due à la dissolution d'hydroxyapatite à la surface dentinaire.

	Groupe I	Groupe II	Groupe III	Groupe IV
Ca masse (%)	23.48 \pm 2.45	6.95 \pm 1.64	5.25 \pm 1.17	17.19 \pm 3.54

Tableau 1 : pourcentage en masse du calcium (moyenne \pm écart type) sur la surface dentinaire mordancé avec les 3 groupes d'acide et le groupe contrôle (mesuré sur 10 zones de 443 μm^2 chacune. Iconographie personnelle.

3. Conclusion

D'après les résultats, la composition chimique ainsi que la morphologie de la dentine varient en fonction de la formulation de l'acide appliqué. Les caractéristiques spécifiques à chaque traitement de surface ont des répercussions cliniques notamment sur les processus d'adhésion. Les études qui suivent tenteront de donner une réponse quant à l'intérêt de l'activation du mordantage en pratique dentaire.

Chapitre IV :
Incidence de la cinétique
d'application du
promoteur d'adhésion sur
les forces rétentives d'un
adhésif universel sur la
dentine

1. Introduction

La composition et la structure de la matrice amélaire et dentinaire sont différentes. De ce fait, les mécanismes d'adhésion pour ces deux tissus sont intrinsèquement différents. (41) Coller à la dentine a donc été considéré comme plus délicat en raison de la complexité de sa composition et de son histologie. (42) D'après les recommandations des fabricant, les systèmes universels peuvent être utilisés en mode *self-etch*, ou bien en mode MR 2 après l'application d'un mordantage total. (43) Le mordantage de la dentine à l'aide d'acide ortho phosphorique à 37% pendant 15 secondes enlève quasiment tout composant minéral, expose le collagène et permet une meilleure interaction entre le collagène et les monomères. Les adhésifs utilisés en mode *self-etch* vont attaquer le substrat avec leurs monomères acides faibles. Ils vont ensuite se lier aux particules libres de la boue dentinaire. (44)

Le mordantage sélectif est une approche visant à améliorer la liaison entre la résine et la dentine en préservant les cristaux d'hydroxyapatites au sein des espaces intra-fibrillaires du collagène. (45) (46) Les adhésifs universels utilisés en mode *self-etch* démontrent une adhésion à la dentine au long court supérieure au mordantage rinçage. (47) (48) Un mordantage sélectif de 3 secondes à l'acide ortho phosphorique 37% permet d'améliorer la performance d'adhésion. (49) (38) L'acide orthophosphorique 37% est l'acide le plus utilisé dans le mordantage du substrat dentaire en dentisterie restauratrice. (50) À l'heure actuelle, il n'existe pas d'étude sur le protocole d'application de l'acide en mode mordantage rinçage, s'il doit être frotté ou juste posé sur la surface dentaire avant le rinçage et l'adhésion.

Le but de cette étude *in vitro* est de comparer la ténacité d'un adhésif universel sur la dentine après trois traitements de surface différents. Deux traitements en mordantage rinçage et un traitement où l'adhésif est appliqué en *self-etch*. L'hypothèse nulle est qu'il n'y a pas de différences entre les forces de traction obtenues après les trois différents protocoles d'adhésion.

2. Matériel et méthodes

2.1. Préparation des échantillons

Au total, 18 molaires maxillaires sans lésions carieuses ont été sélectionnées. Ces dents ont ensuite été rincées avec du sérum physiologique et conservées dans de l'éthanol à 5% à 4°C. Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique médical de la faculté d'odontologie et de l'hôpital universitaire de Strasbourg (protocole no. 2019-05).

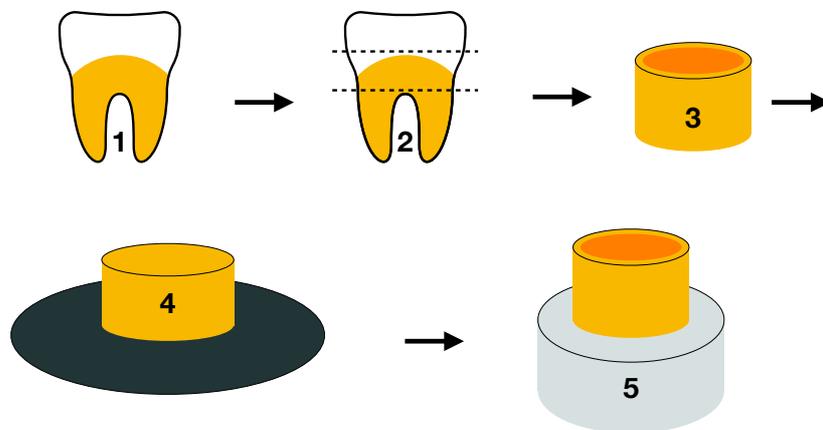


Figure 15 : Préparation des échantillons ; 1 dent de sagesse saine. 2 Section de la surface coronaire et des racines. 4 polissage de la surface dentinaire au grain 600. 5 Collage de l'échantillon sur un socle de résine. Iconographie personnelle.

Les dents extraites sont divisées trois groupes. Le site d'adhésion dentinaire est préparé en sectionnant la dent, la racine est éliminée et l'échantillon est collé sur un cylindre de résine (BIOCRYL, Scheu dental, Allemagne). Une deuxième section perpendiculaire à l'axe longitudinal de la dent est réalisée afin d'obtenir une surface dentinaire plane. La surface dentinaire est ensuite abrasée au grain 600 (ce qui correspond à une fraise grain moyen (38) (51) à l'aide d'un papier abrasif (Escil, Chassieu, France) pendant 30 secondes sous irrigation (Figure 15). Ceci dans le but d'obtenir une surface la plus plane possible avec une microgéographie de surface la plus proche de celle obtenue après un passage de fraise diamantée bague verte.

Le premier groupe (G1) est composé de 6 dents sur lesquelles le protocole Self-etch est réalisé en utilisant l'adhésif universel (Prime & Bond® active – P&Ba; Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Germany) (Tableau 2).

Matériel et fabricant	Composition	pH	Instructions d'utilisation
Prime&Bond Active (P&Ba) Dentsply Sirona; Konstanz, Allemagne	Bisacrylamide 1 (25–50%), 10-MDP (10–25%), bisacrylamide 2 (2.5–10%), 4-(diméthylamino) benzonitrile (0.1–1%), dipentaérythritol pentacrylate phosphate (PENTA), propan-2-ol (10–25%), eau (20%)	2.5	Appliquer l'adhésif et frotter (20 s), léger souffle d'air (5 s), polymériser (20 s)

Tableau 2 : Composition chimique du Prime&Bond Active ainsi que les indications d'emploi.

Le deuxième groupe (G2) est composé de 6 dents sur lesquelles le protocole mordantage-rinçage (ou etch-and-rinse) a été réalisé (mordantage par l'acide orthophosphorique 37% (ITENA, Villepinte, France) pendant 3 secondes puis rinçage abondant à l'eau pendant 30 secondes). (38) Le troisième groupe (G3), est composé de 6 dents sur lesquelles le protocole mordantage rinçage a été réalisé en frottant de l'acide orthophosphorique pendant 3 secondes à l'aide d'une *micro-brush*, avant de le rincer pendant 15 secondes. Le mordantage est dit « actif » sur ce groupe (Figure 16).

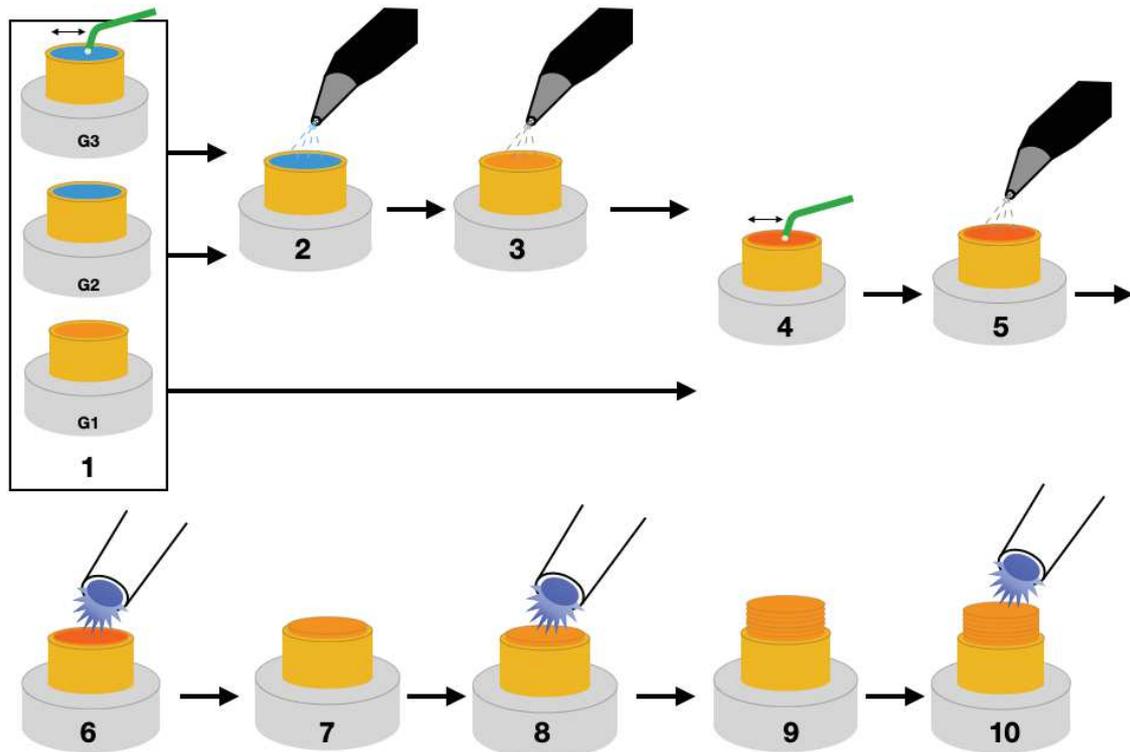


Figure 16 : 1 préparation des échantillons selon leur groupe (G1, G2, G3), 2, rinçage 15 s, 3 air 5 s, 4 adhésif 20 s, 5 air 5s, 6 polymérisation 20 s, 7 couches de composite de 1 mm polymériser 20 s, 8 une nouvelle couche de composite est polymérisée pendant 20 s, 9 Rajouts de couches de composite de 1 mm jusqu'à arriver à une épaisseur de composite de 8 mm, 10 chaque couche est polymérisée pendant 20 s avant le rajout de la couche de composite suivante. Iconographie personnelle.

Après le conditionnement de surface de chacun de ces groupes, le protocole d'adhésion est le même pour chaque échantillon, il s'agit de celui recommandé par le fabricant, à savoir (20 secondes de frottement de l'adhésif, 5 secondes d'évaporation des solvants à l'aide d'air comprimé et 20 secondes de polymérisation à l'aide d'une lampe d'une puissance supérieure à 500mW/cm²). La lampe utilisée pour la polymérisation est une lampe radii-cal (SDI, Australie).

Les échantillons de chaque groupe sont préparés pour les tests de μ TBS (Micro tensile bond strength). Des couches successives de composite (Ceram X, Dentsply Sirona, York, USA) d'1 mm d'épaisseur ont été appliquées sur les surfaces jusqu'à arriver à

une hauteur d'environ 8 mm. Chaque couche est polymérisée pendant 20 secondes afin de respecter les recommandations du fabricant. Les échantillons sont ensuite gardés dans de l'eau distillée dans un incubateur à 37° pendant 24 heures. Cette étude respecte l'organisation standard internationale (norme ISO TR 11405).

Les échantillons sont montés un par un dans l'étau d'une scie diamantée sur banc à réglage micrométrique (Bronwill, Rochester, NY) et plusieurs passages successifs de la scie diamantée sont réalisés sous une irrigation abondante. D'abord dans l'axe X et ensuite dans l'axe Y. Nous désirons obtenir des échantillons de 1mm² de section, et la scie a une épaisseur d'environ 200 µm. Donc entre chaque passage de la scie, l'échantillon est déplacé de 1250 µm. Les 50 µm permettent de compenser les éventuelles vibrations de la scie. L'échantillon est donc sectionné plusieurs fois dans un même sens, puis il est tourné de 90° et sectionné à nouveau (Figure 17).

Un total de 15 à 20 bâtons par échantillon sont obtenus (Figure 18).



Figure 17 : Les échantillons sont sectionnés afin d'obtenir les sticks. Iconographie personnelle.



Figure 18 : sticks obtenus avant les tests de micro-traction. Iconographie personnelle.

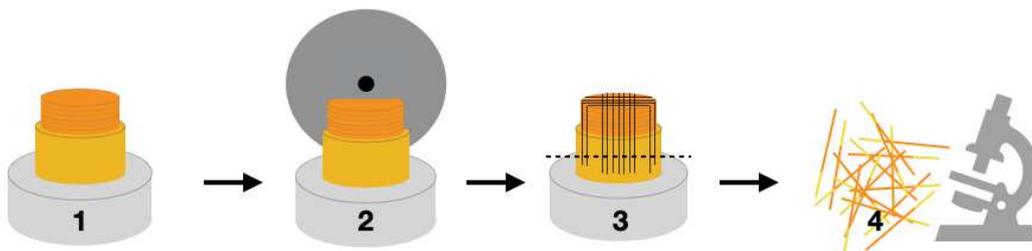


Figure 19 : 2 découpe des échantillons en allumettes, 3 séparation du socle, 4, observation au microscope optique de la qualité des échantillons. Iconographie personnelle.



Figure 20 : Exemple de composition d'un stick. Iconographie personnelle.

Les échantillons sont maintenus dans l'eau jusqu'aux tests de tractions. Les sticks sont ensuite sélectionnés après analyses au microscope optique (ZEISS, West Germany) avec un grossissement X 50 (Figure 21) afin de s'assurer de l'absence de fissure et de la présence de tissu uniquement dentinaire au niveau de l'interface.

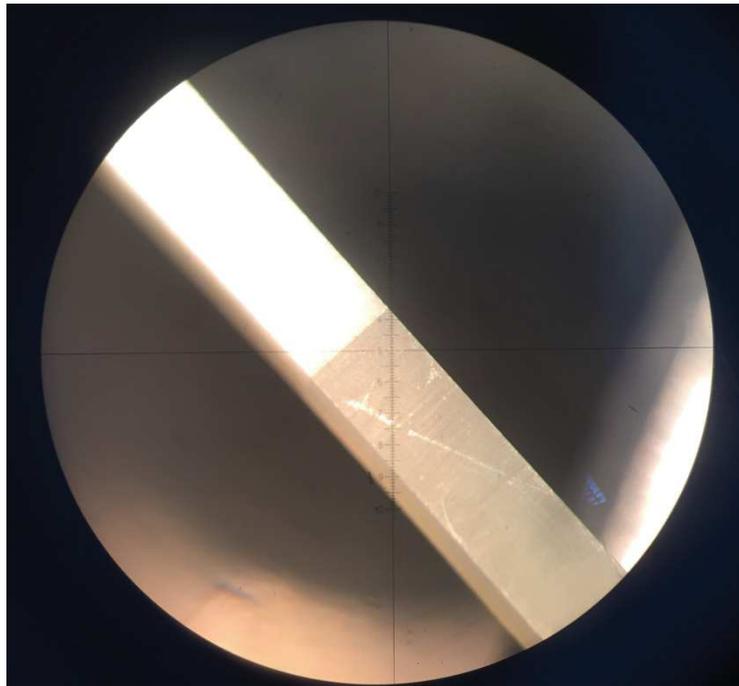


Figure 21 : observation au microscope optique grossissement X 50 afin de vérifier l'absence de fracture ou la présence d'émail. Iconographie personnelle.

Chaque section d'échantillon est également mesurée au pied à coulisse numérique au niveau de l'interface dentine-résine afin de pouvoir réaliser par la suite le calcul de la force de traction à la rupture (Figure 22).



Figure 22 : Mesure de la section de la section de chaque échantillon au pied à coulisse. Iconographie personnelle.

Afin de pouvoir fixer les échantillons sur la machine de traction des supports spécifiques ont été conçus. Les supports sont réalisés à partir d'éprouvettes en fibre de verre de 0,5 mm d'épaisseur. Des pavés de 2,5 cm x 2,5 cm sont réalisés à l'aide d'une scie angulée. Chaque pavé est poli au papier de verre 120. Le centre d'un côté est marqué à l'aide de 2 diagonales et le support est monté sur l'étau d'une perceuse à colonne (Figure 25). Un trou d'un diamètre d'1,5 mm est réalisé sur une profondeur de 10 mm. 2 supports sont réalisés pour chaque stick.

Le protocole de fixation des sticks sur les supports est le suivant. Les supports sont fixés dans l'étau d'une perceuse à colonne à l'aide d'une équerre. Le stick est inséré dans un porte mine modifié à l'aide d'un cathéter pour accepter les sticks sans les endommager. Le porte mine est inséré dans le mandrin de la perceuse à colonne (Figure 23). Une goutte de colle cyanoacrylate (KYOWA, JAPAN) est déposée dans le trou du support. Puis le bâton est inséré jusqu'à 2 mm de l'interface dentine-composite. Quand la colle cyanoacrylate a durci, l'autre extrémité du bâton est insérée dans un autre support. Chaque étape est contrôlée à l'aide d'équerre afin de garantir un maximum de reproductibilité entre les échantillons.

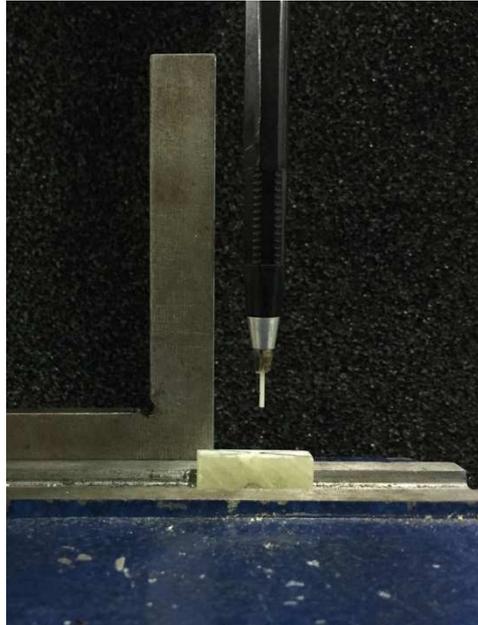


Figure 23 : Insertion du stick dans le support en fibre de verre. Iconographie personnelle.

La réalisation de ces étapes permet d'obtenir, lors du test de traction, une force de traction pure (Figure 24). Si l'échantillon était fixé sur le côté uniquement et non inséré dans un support, nous aurions alors un mélange de traction et de flexion.



Figure 24 : Le stick dans les mors de la machine avant les tests de traction. Iconographie personnelle.

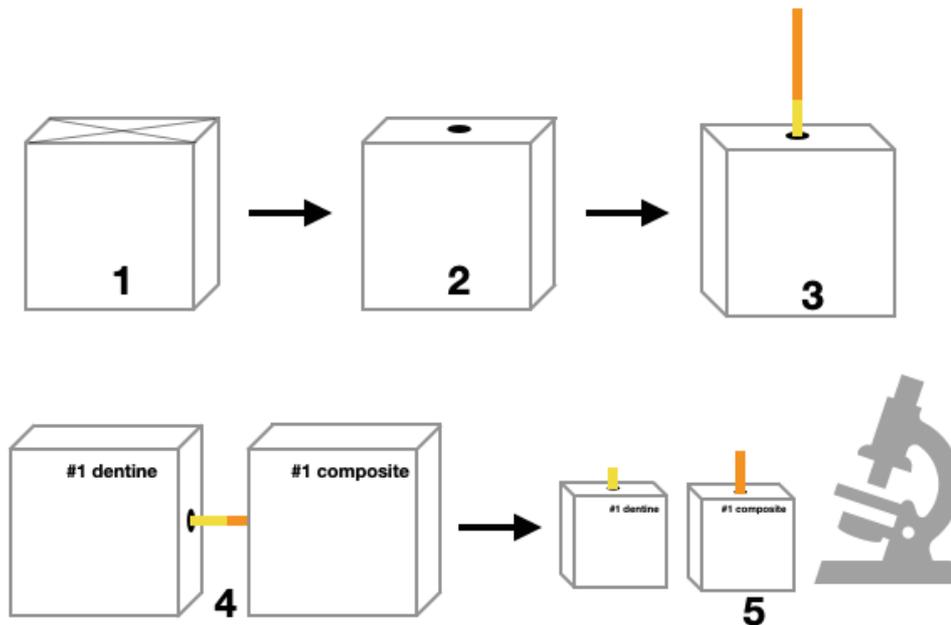


Figure 25 : Réalisation des supports de stick. 3 insertion du stick dans le support. 4 Test de micro-traction 5 les échantillons sont observés au MEB après les tests pour s'assurer de leur type de rupture. Iconographie personnelle.

3. Tests

3.1. Tests d'adhésion de micro-traction (μ TBS)

Les supports sont retenus dans les mors de la machine (Instron 3345, Massachusetts, USA). Une cellule de traction de 100 N est utilisée pour réaliser les mesures. Le logiciel Bluehill 3 est utilisé afin de contrôler la vitesse de déplacement (1 mm/min). La force de rupture à la traction est calculée en divisant la charge à la rupture (N) par la surface de rupture (mm^2). Les surfaces dentinaires résiduelles des tests de traction sont observées au microscope électronique à balayage en grossissement X100 en Low Vac afin de déterminer le mode de rupture (Figure 27).

Ils ont été catégorisés en trois types (52) (Figure 28) :

Type 1 : Rupture adhésive

Type 2 : Rupture mixte (de l'adhésif, de la résine est resté sur la dent ou des morceaux de dentine sont partis)

Type 3 : Rupture cohésive (la fracture a eu lieu au niveau de la dentine ou de la résine)

3.2. Préparation et observation des échantillons au MEB

Après les tests de micro-traction, la partie dentine de chaque échantillon a été déshydraté dans des bains d'alcool de pourcentage croissant. Les échantillons sont ensuite métallisés avec une couche d'alliage or-palladium (20/80) en utilisant un métalliseur HUMMER JR (Technics, CA, USA). Par la suite, l'observation est réalisée à l'aide d'un MEB Quanta 250 FEG (FEI, Eindhoven, Pays bas). Le MEB utilise l'accélération des électrons à 10 kV pour observer les échantillons métallisés. (61 échantillons pour G1, 60 pour G2 et 60 pour G3).

3.3. Analyse statistique

Les échantillons comprenant des fractures mixtes ou cohésives sont exclus de l'analyse statistique. (53) (35) Les analyses de données sont réalisées à l'aide de Sigma Plot (Systa Software, Inc., San Jose, CA, USA). Le test d'analyse de variance ONE WAY est appliqué en comparant les forces de traction à la rupture des 3 groupes étudiés. Un test du Chi-carré a été réalisé afin de comparer les effets des 3 protocoles de mordantage, le risque alpha a été mis à 5% ($\alpha = 0.05$).

4. Résultats

4.1 Test de traction

Les forces d'adhésion de 181 échantillons (sticks) sont testées par traction. Après analyses au MEB, seuls les échantillons ayant subi des ruptures adhésives sont sélectionnées pour l'analyse statistique. Les valeurs de rupture à la traction des 3 groupes et leur variance sont exposées dans le tableau 3.

L'analyse de variance one way révèle une différence statistique entre les valeurs obtenues pour les différentes techniques de mordantage.

Différences par pair :

- (G1 Automordançant, G2 MR) $p < 0.001$
- (G2 MR, G3 MR actif) $p = 0.034$
- (G1 Automordançant, G3 MR actif) $p = 0.05$

L'hypothèse nulle ($p < \alpha$) est donc rejetée.

Groupes échantillons	N (total)	n (ruptures cohésives et mixtes)	n (ruptures adhésives)	μ TBS moyenne $\pm \sigma$ {MPa}
G1	61	19	42	38.07 \pm 9.49
G2	60	26	34	47.30 \pm 8.12
G3	60	23	37	42.11 \pm 9.26

Tableau 3 : Résultats des ruptures à la traction parmi les échantillons de dentine ayant subi des ruptures adhésives avec la moyenne en Mpa \pm l'écart type. Iconographie personnelle.

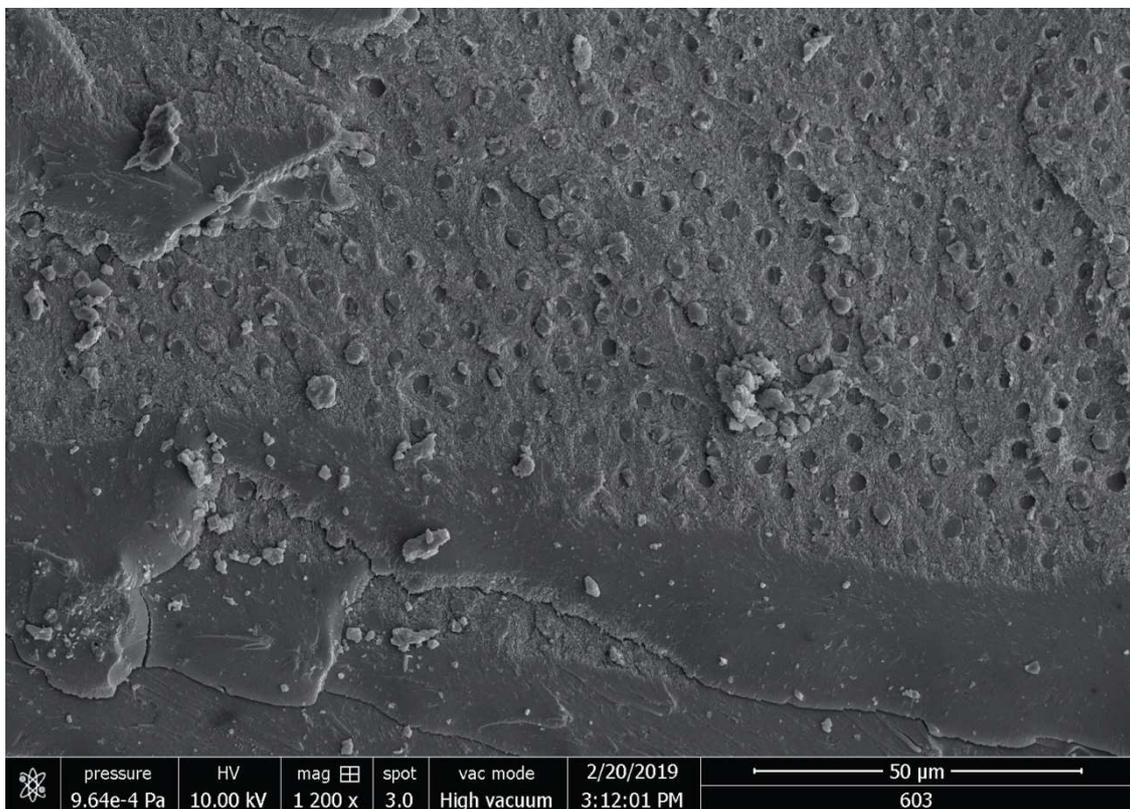


Figure 26 : image au Microscope électronique à balayage d'une interface d'échantillon (G2) après tests de traction. Les tags de résine adhésif encore présent dans les tubuli dentinaires sont visibles (grossissement x 1200). Iconographie personnelle – INSERM UMRS 1121.

4.2. Analyse du type de rupture au MEB

La dentine de chaque échantillon est observée afin d'identifier le type de rupture. La plupart des échantillons *self-etch* (Groupe 1) montrent des ruptures adhésives à leur interface. Les interactions entre les groupes et les modes de fractures n'ont pas montrés de liens statistiques ($p > 0.001$). Les deux groupes de mordantage-rinçage (G2 et G3) présentent régulièrement des tags intra-tubulaires (ce sont des prolongements de résine dans les tubuli de dentine ouverts).

Ces tags intra-tubulaires sont surtout observés quand l'adhésif est appliqué en mode mordantage-rinçage sans frotter (G2) (Figure 26).

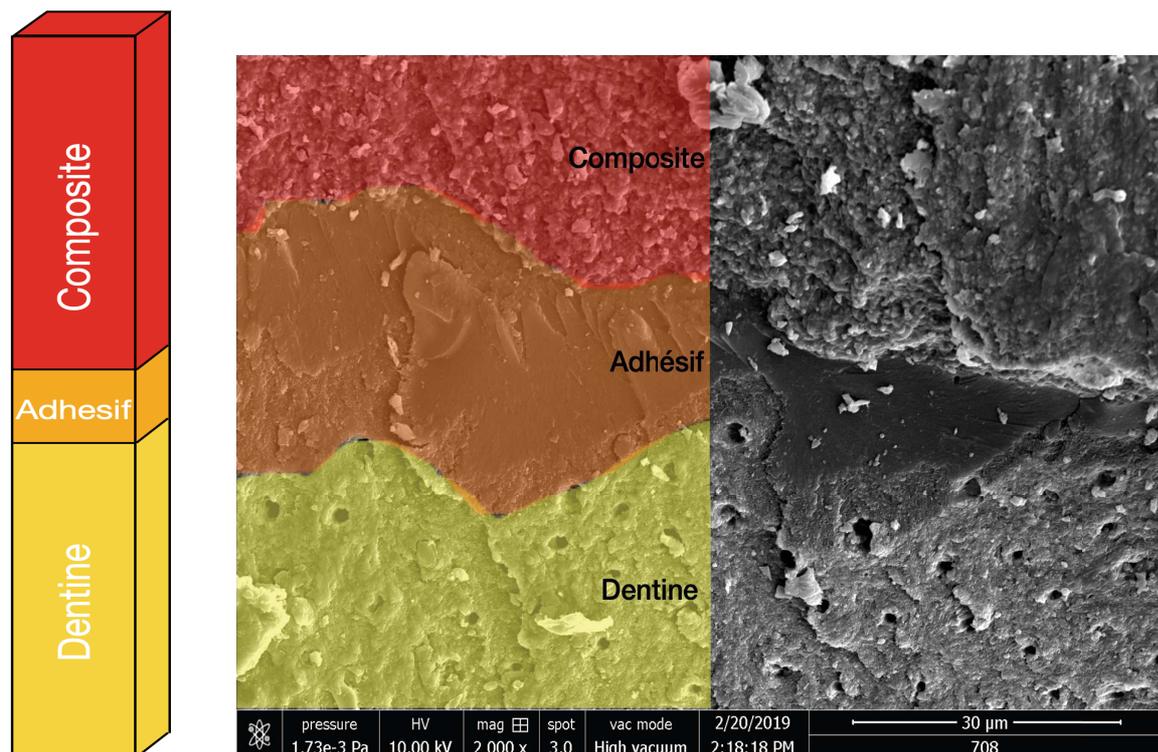


Figure 27 : Illustration d'un échantillon (G3) au microscope électronique à balayage après une rupture mixte, les 3 couches successives de dentine, adhésif et composite sont ici bien visibles. (grossissement x2000). Iconographie personnelle – INSERM UMRS 1121.

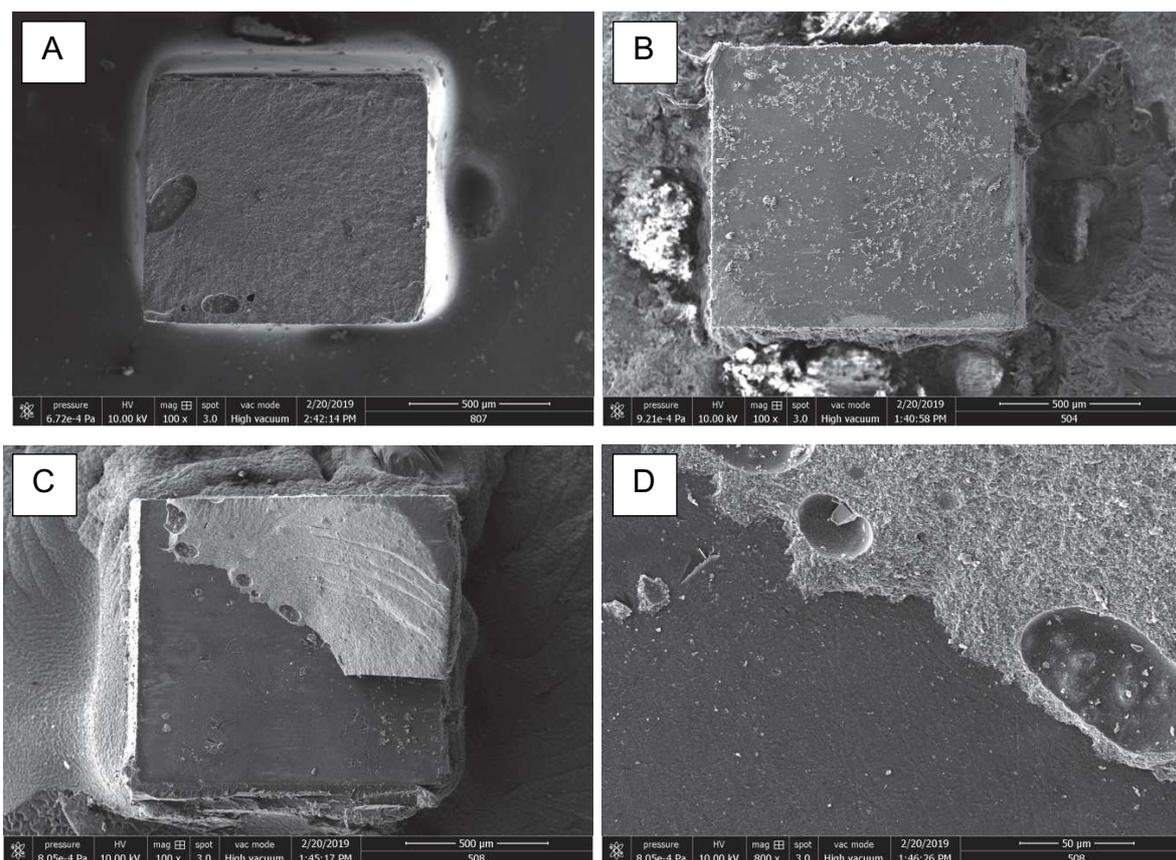


Figure 28 : A, Image au microscope électronique à balayage d'une rupture cohésive dans le composite (grossissement x100). B, image d'une rupture adhésive (grossissement x100). C, Image d'une rupture mixte, adhésive et composite (grossissement x100). D, grossissement sur la rupture mixte de l'image (grossissement x800). Iconographie personnelle – INSERM UMRS 1121.

5. Discussion

Cette étude représente l'effet de l'application du mordantage de manière active ou non sur l'interface dentine-résine. Dans le but d'améliorer la qualité de l'interface résine-dentine, certaines études proposent des solutions cliniques telles que l'application de plusieurs couches de résine, le rallongement du temps de polymérisation de la couche adhésive, l'utilisation d'air chaud pour évaporer les solvants ou frotter l'adhésif sur les surfaces dentaires. (54) Notre étude cherche à montrer les effets du mordantage actif sur la dentine dans la résistance de la surface adhésive à la traction.

À la lumière de cette étude, réalisée dans des conditions expérimentales *in vitro*, il apparaîtrait nécessaire de mordancer la surface dentinaire par de l'acide orthophosphorique 37% sans frotter et ce, pendant 3 secondes avant l'application d'un adhésif universel. Des résultats similaires ont été trouvés par Stape *et al.* Ils ont pu remarquer que l'utilisation d'acide orthophosphorique pendant 3 secondes améliorerait l'adhésion immédiate et à long terme de l'interface résine dentine et ce, sans surexposer le collagène déminéralisé. (38)

Les images observées au MEB montrent que le mordantage actif ou non avec l'acide orthophosphorique pendant 3 secondes permet d'ouvrir les tubuli et de retirer la boue dentinaire. Cela permet d'améliorer l'adhésion micromécanique de la résine. L'interaction micromécanique de l'adhésif dans la dentine déminéralisée est un facteur principal permettant des valeurs d'adhésion élevées. (55) Bahillo *et al.* (56) qui utilisent un monomère acide (GPDM) ont noté que le mordantage sélectif de la dentine pendant 15 secondes n'améliore pas l'adhésion par rapport à une application *self-etch*. Les analyses statistiques de notre étude ont montré que le mordantage actif diminuait la ténacité de l'adhésif par rapport au mordantage passif. Une hypothèse pouvant expliquer les résultats obtenus dans notre étude est que l'action de frotter l'acide à la surface de la dentine pourrait écraser les fibres de collagène et dissoudre les cristaux d'hydroxyapatite en suspension. Hashimoto *et al.* ont mis en avant le fait que le surmordantage entraîne une déminéralisation plus importante de la dentine péri-tubulaire et de la dentine inter-tubulaire. Ces deux dentines sont donc moins susceptibles d'être infiltrées par la résine, cela résulte en une adhésion plus faible. (57) Van Meerbeek *et al.* (58) décrit l'importance de laisser l'hydroxyapatite en place autour du collagène afin de mieux protéger ce dernier de l'hydrolyse, et donc d'une dégradation précoce de l'interface. Un monomère fonctionnel comme le 10-méthacryloxydecyl dihydrogène phosphate (10-MDP) peut former un complexe calcium-phosphate stable et former des couches de structure régulières à la surface de l'apatite. (59) (60) (61). Conserver le calcium à l'interface adhésive pourrait en théorie améliorer ce processus chimique particulier. Wang *et al.* ont observé que l'agitation des acides à l'état de gel pourrait faciliter la pénétration et le mordantage dans la dentine mais le déconseillent, en particulier pour des mordantages de longue durée. (62)

Le test de micro-traction est considéré comme étant le plus fiable dans l'évaluation des interfaces d'adhésion entre un matériau adhésif et la dentine. (61) Un des

nombreux avantages de ce test est qu'il peut réduire le nombre de ruptures cohésives et mixtes. (63) Les ruptures mixtes dans les groupes peuvent s'expliquer par les bonnes propriétés mécaniques de l'adhésif. *A contrario*, les ruptures cohésives au sein du composite peuvent avoir été causé par des erreurs de manipulation lors de la réalisation des couches de composite ou bien par une ténacité plus faible au sein du composite.

Les résultats du tableau 3 indiquent le nombre de ruptures et leur type en fonction de leur traitement de surface. L'étude a souligné un nombre de ruptures mixtes et cohésives plus importante lorsque les valeurs de μ TBS sont plus élevées. Mais ces résultats n'ont pas de différence significative (Chi^2 , $p > 0.001$). Ces analyses peuvent être expliquées par le fait que l'adhésion au niveau du groupe *self-etch* (groupe 1) est moins importante que pour les spécimens qui ont subi un mordantage-rinçage. Takamizawa *et al.* (13) a noté que l'utilisation d'un adhésif universel après mordantage rinçage n'avait pas d'impact négatif sur la qualité d'adhésion à la dentine.

Cette étude a tout de même des limitations, le fait d'utiliser un unique adhésif universel n'est pas représentatif de toute la gamme d'adhésif universel présente sur le marché. Il est réalisé *in vitro* et ne permet pas de mettre en évidence la survenue éventuelle de sensibilités dentinaires après avoir frotté la dentine. Et enfin, cette méthode clinique est opérateur dépendante. (62)

6. Conclusion

Bien que l'acide ortho phosphorique nettoie et enlève la boue dentinaire à la surface de la dentine. Cela augmente les tags inter tubulaires, peu importe la méthode de mordantage.

Mordancer en frottant avec de l'acide ortho phosphorique 37% pendant 3 secondes réduit la ténacité de l'adhésif sur la dentine.

Chapitre V :
Incidence de la cinétique
d'application du
promoteur d'adhésion sur
les forces rétentives d'un
adhésif universel sur
l'email

1. Introduction

Le collage à l'émail est une pratique courante et reproductible dans l'exercice quotidien de la dentisterie. (64) La technique de collage dite mordantage-rinçage (MR) requiert 2 étapes ; la première est le mordantage de la surface dentaire par un acide fort, la deuxième étant l'application d'une résine adhésive non chargée sur la surface dentaire qui sera polymérisée. (65) Les systèmes adhésifs actuels sont développés dans le but de réduire le nombre de manipulations clinique tout en augmentant les propriétés adhésives. (66)

A l'opposé, l'utilisation de monomères acides dans les adhésifs *self-etch* permet de raccourcir l'étape de mordantage . (44) Cette approche est démontrée comme étant moins opérateur dépendant et plus facile d'utilisation. (67) De nombreuses études ont permis de mettre en évidence que l'étape de mordantage-rinçage est très importante pour la durée de vie des adhésifs universels sur l'émail ; cette observation avait également été observée sur les anciennes générations d'adhésifs *self-etch*. (68) Le mordantage est également indispensable à la rétention mécanique entre l'adhésif et l'émail. (66) (68) (69) L'acide le plus utilisé pour réaliser des restauration en technique directe est l'acide ortho phosphorique. (70)

Afin de quantifier les performances des adhésifs, la méthode la plus objectif est le test de mesure de forces d'adhésion. (71) Généralement, les forces d'adhésion sont testées en traction ou en cisaillement. La plupart de ces tests sont réalisés sur l'émail ou la dentine. (72). Beaucoup de facteurs ont un impact direct sur la force d'adhésion : le type de lampe à polymériser, le type de préparation des échantillons, la concentration de l'acide, la formulation de l'adhésif ainsi que les différences de protocoles expérimentaux. (73)

Sai *et al.* (74), proposent d'utiliser le mode MR afin d'augmenter les forces d'adhésion de l'adhésif universel sur l'émail, peu importe le temps d'application du mordantage. L'étude présentée ici soulève un point du protocole souvent non exploré dans la préparation de l'échantillon. Il est question de savoir s'il existe une différence quand l'acide est appliqué sur l'émail de manière passive par rapport à une application active (frottée) de l'acide.

Les différents échantillons sont mesurés à l'aide de tests de cisaillements. Trois groupes sont comparés, un groupe témoin où l'adhésif est appliqué en mode *self-etch*,

le deuxième groupe est préparé en mordantage total passif, et enfin, le troisième groupe est préparé en mordantage total frotté. L'hypothèse initiale est que la technique d'application, y compris le mode *self-etch*, n'affecte pas les valeurs de résistance au cisaillement des échantillons.

2. Matériel et méthode

2.1. Préparation des échantillons

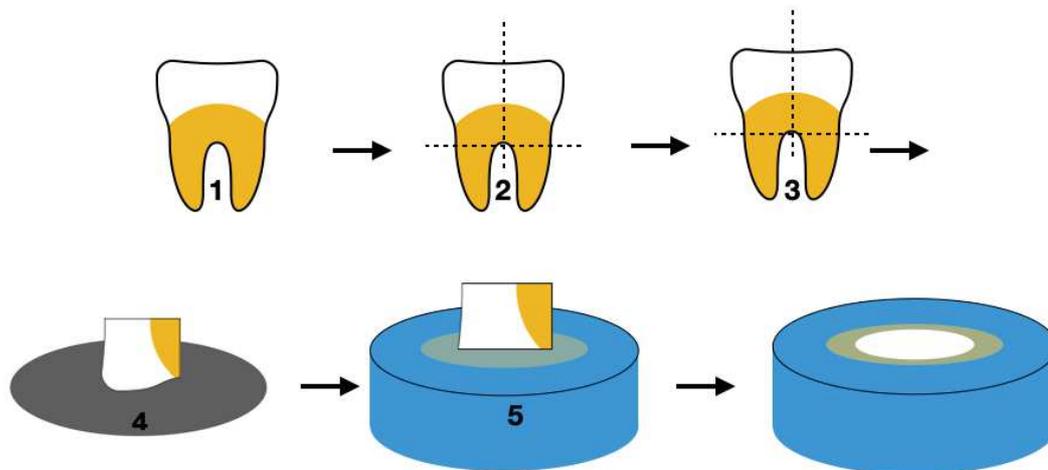


Figure 29 : Préparation des échantillons ; **1** dent de sagesse saine. **2** Section dans le grand axe de la dent puis perpendiculairement. **4** polissage de la surface dentinaire au grain 600. **5** emboilage de l'échantillon sur un socle de résine. Iconographie personnelle.

Au total, trente dents de sagesse mandibulaires saines et récemment avulsées sont sélectionnées. Seules des dents exemptes de caries, fêlures ou déminéralisation sont retenues pour les tests. Les dents sont rincées au sérum physiologique et elles sont conservées dans de l'alcool à 70% à 4° pendant 2 semaines.

Les dents sont séparées en 3 groupes (10 dents dans chaque groupe). La zone amélaire d'adhésion est préparée en sectionnant la dent de manière vestibulo-lingual, puis en éliminant la racine. Les surfaces proximales sont polies à l'aide d'un disque à polir au grain 320 (Escil, Chassieu, France) pendant 60 secondes sous irrigation continue jusqu'à obtenir une surface plane d'au moins 10 mm² de surface (Figure 29). Un contrôle est effectué à l'aide d'un moule représentant le diamètre du futur plot. La

rugosité de surface obtenue avec ce papier de verre est similaire à celle obtenue avec une fraise diamantée.

Chaque surface plane est ensuite entièrement marquée au crayon de papier avant d'être placée dans un moule cylindrique. Une fois la dent placée au fond du moule, de la résine est coulée par-dessus. L'opération est réalisée pour la totalité des échantillons. Une fois les échantillons emboîtés dans la résine, ils sont polis sur le disque de grain 320 jusqu'à ce que les marques au crayon aient disparu. Cela permet de s'assurer que toute la résine ayant possiblement fondu sous les échantillons soit éliminée. Chaque échantillon est observé au microscope optique au grossissement 50x afin de s'assurer de l'absence de fissure, de dentine, de déminéralisation amélaire ou de résine (Figure 30).

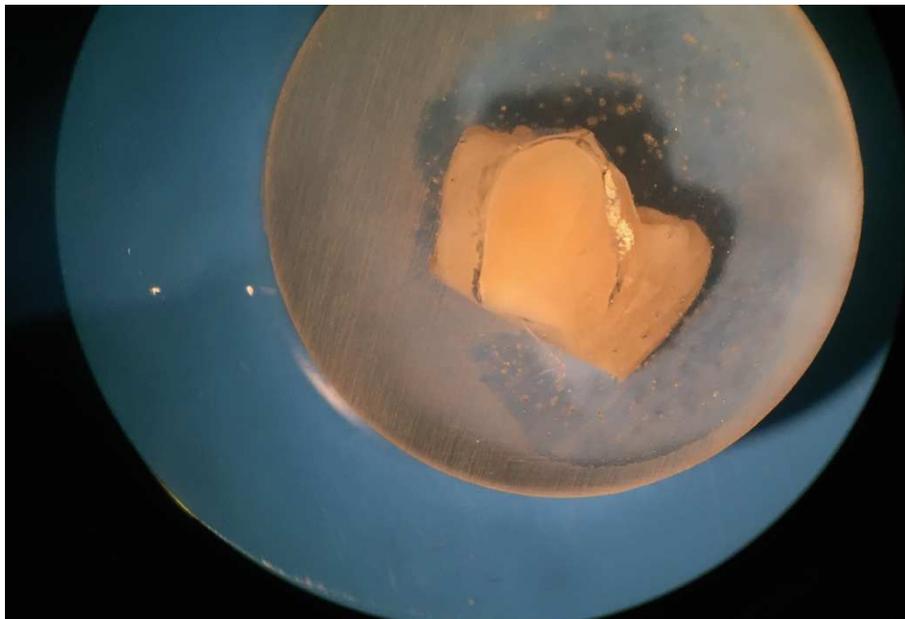


Figure 30 : Observation au microscope optique avec un grossissement X50 des échantillons avant le traitement de surface. Iconographie personnelle - laboratoire INSERM UMRS 1121.

Les échantillons sont ensuite stockés dans de l'eau pendant 24h. Le premier groupe (G1) est constitué de 20 surfaces amélaire qui ont été collées en mode *self-etch* avec l'adhésif universel (YBOND Universal, Yller Biomateriais, Pelotas/RS, Brésil). Le deuxième groupe (G2) est constitué de 20 surfaces qui sont collées en utilisant l'adhésif universel en mode mordantage rinçage (MR) passif. L'acide

orthophosphorique 37% (ITENA Clinical, Paris, France) a donc été déposé pendant 30 secondes sur l'échantillon puis il a été rincé pendant 30 secondes.

Le troisième groupe (G3) est constitué de 20 sections collées en mode MR actif. L'acide est donc frotté pendant 30 secondes à l'aide d'une micro *brush*, puis rincé pendant 30 secondes (Figure 31).

L'adhésif est appliqué selon les recommandations du fabricant. Il est frotté pendant 20 secondes, puis les solvants sont évaporés à l'aide d'un souffle d'air pendant 5 secondes, enfin l'adhésif est polymérisé pendant 20 secondes. La polymérisation est réalisée avec une lampe à polymériser Luxite (ITENA clinical, Paris, France).

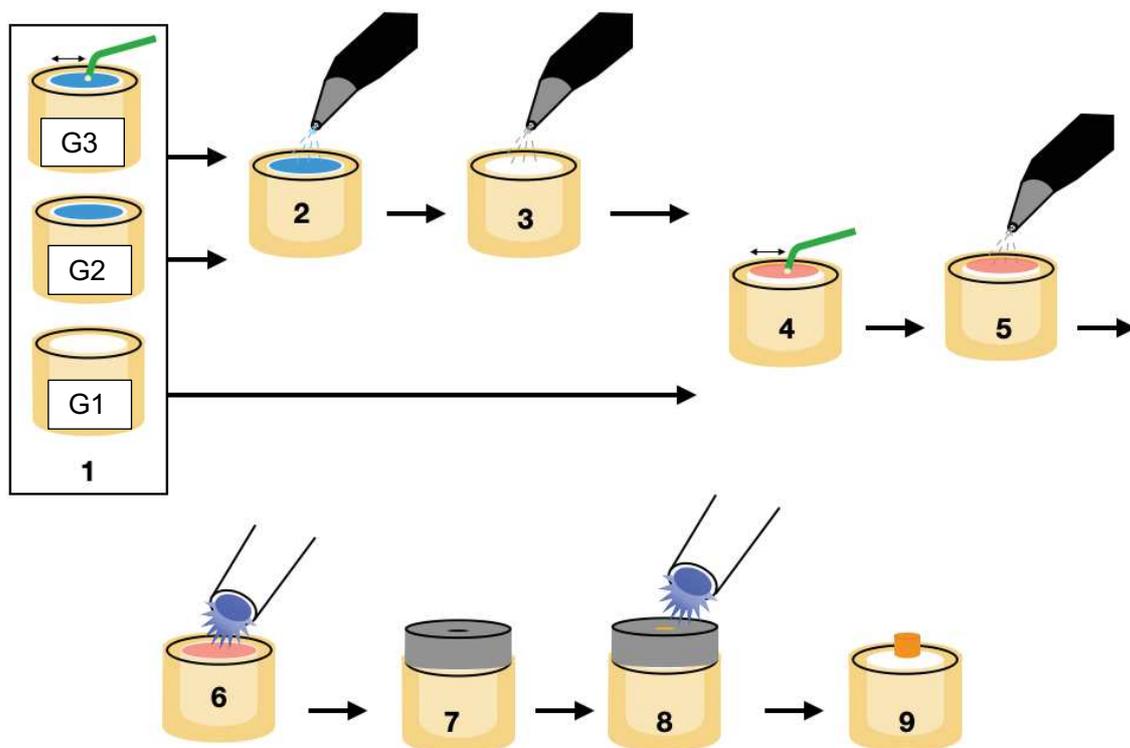


Figure 31 : 1 préparation des échantillons selon leur groupe (G1, G2, G3), 2, rinçage 15 s, 3 air 5 s, 4 adhésif 20 s, 5 air 5s, 6 polymérisation 20 s, 7 mise en place du moule pour le plot de composite, 8 polymérisation du plot de composite pendant 40 s, 9 échantillon terminé. Iconographie personnelle.

3. Test de cisaillement et analyse des échantillons

3.1. Tests de cisaillement

Dix-sept échantillons de chaque groupe sont préparés pour les tests de cisaillement. Les plots de composite sont réalisés sur les surfaces amélares à l'aide d'un moule en silicone de 3 mm de diamètre. Le composite utilisé est le Reflectys (ITENA Clinical, Paris, France). Chaque couche de 2 mm est polymérisée pendant 40 secondes. Les dents sont ensuite conservées dans de l'eau distillée à l'intérieur d'un incubateur à 37°C pendant 24h selon la norme ISO TR 11405. Les échantillons sont gardés humide jusqu'à la réalisation des tests. Les tests de cisaillements sont réalisés à l'aide d'une machine permettant la mesure des forces de compression sur une lame (Instron 3345, norme « ISO/TS 11405 standard ») avec une cellule de 100 N. Les échantillons subissent une charge de cisaillement à une vitesse de 0,5 mm / min jusqu'à la rupture (Figure 32). La force de cisaillement correspond au stress à la rupture, calculé en divisant la charge à la rupture par la surface collée (en mm²). La surface est de $\pi \cdot R \cdot R$: $S = \pi \cdot 1,5 \cdot 1,5 = 7 \text{ mm}^2$.

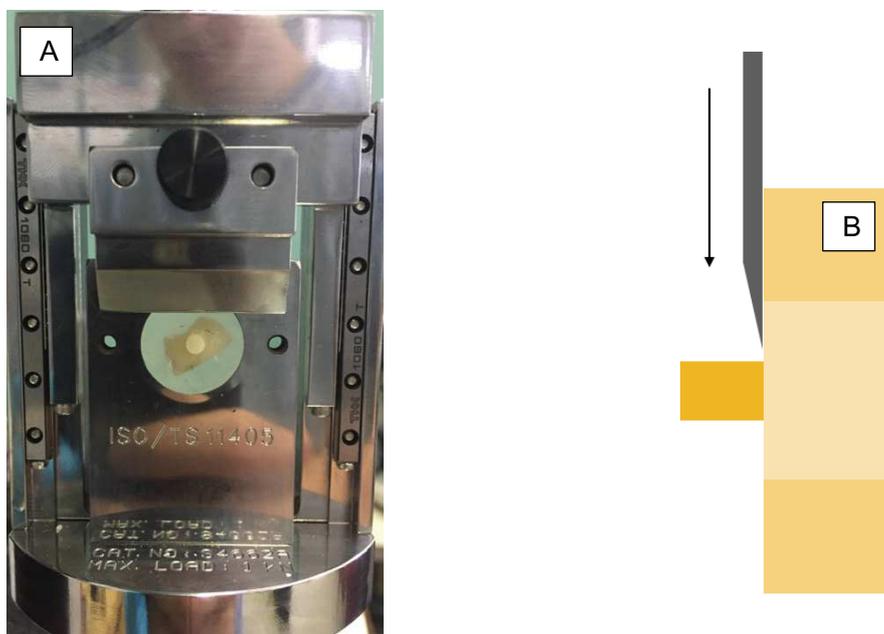


Figure 32 : **A** échantillons prêt au test de cisaillement, **B**, vue de profil de l'échantillon avec la lame qui applique les forces de cisaillement. Iconographie personnelle-laboratoire Icube UMR 7357 MMB.

3.2. Observation numérique par microscopie optique afin de déterminer le mode de rupture

Une fois les tests de cisaillement réalisés, les surfaces amélares sont examinées au microscope optique numérique (KEYENCE ; Osaka, Japon) à un grossissement de 50X afin de déterminer le mode de rupture.

Ces modes de rupture sont catégorisés en 3 types (75)

Type 1 : rupture adhésive, moins de 20% de l'adhésif est resté sur la surface de l'émail

Type 2 : rupture cohésive, si plus de 80% de l'adhésif est resté sur la surface de l'émail

Type 3 : rupture mixte, si certaines zones sont cohésives et d'autres, adhésives.

Afin d'observer l'interface émail-adhésif des échantillons au MEB, leur préparation est nécessaire. Trois échantillons qui n'ont pas été utilisés pour les tests de cisaillements sont déshydratés dans des bains d'alcool successifs. Ils sont ensuite sectionnés de manière sagittale sur une scie diamantée (Well Walter Ebner, Manheim, Allemagne). Puis les échantillons sont polis avec du papier de verre (1200, 2400 et 4000) sur un disque à polir (Escil, Chassieu, France). Ensuite, les échantillons sectionnés sont traités à l'acide citrique 20% pendant 5 minutes afin d'éliminer l'émail et n'observer que les infiltrations de résine. Les échantillons sont métallisés avec un alliage d'or-palladium (20/80) puis observés au MEB.

3.3. Analyses statistiques

Chaque échantillon qui a subi une rupture cohésive ou mixte est exclu des analyses statistiques. (53) (35)

L'analyse des données est réalisée à l'aide de Sigma Plot (Version 11.2, Systat Software, Inc., San Jose, CA, États-Unis). L'analyse de variance ONE WAY est appliquée afin de comparer les forces de cisaillement (en MPa) des trois groupes. Dans tous les tests, un risque d'erreur $\alpha = 0,05\%$ a été utilisé.

4. Résultats

4.1. Tests de cisaillement

La valeur moyenne des forces de cisaillement ainsi que leur écart type sont représentées dans le tableau 4. L'analyse de variance a montré une différence statistique significative entre les 3 groupes testés ($p < 0,05$). Le mode MR avec le frottement de l'acide (G3) démontre une force d'adhésion supérieure aux autres groupes (G1 et G2), avec respectivement $p < 0.001$ et $p = 0.033$. Donc, l'hypothèse initiale a été rejetée ($p < \alpha$).

Groupes échantillons	N (total)	n (ruptures cohésives et mixtes)	n (ruptures adhésives)	μ TBS moyenne $\pm \sigma$ {MPa}
G1	17	0	17	9.96 \pm 2.98
G2	17	3	14	22.07 \pm 5.27
G3	17	3	14	25.98 \pm 5.70

Tableau 4 : Résultats des ruptures au cisaillement parmi les échantillons d'émail ayant subi des ruptures adhésives avec la moyenne (en MPa) \pm l'écart type. Iconographie personnelle.

4.2. Analyse au microscope optique du type de rupture

L'analyse au microscope optique numérique des échantillons après les tests a permis de déterminer le type de rupture des échantillons. Une prédominance de rupture adhésive (Figure 33A) est visible dans tous les groupes. Cependant, les ruptures mixtes (Figure 33B) et rupture cohésive (Figure 33C) sont plus importantes dans le groupe MR indépendamment du mode d'application de l'acide (frottée ou passive) (Tableau 4).



Figure 33 : Photos représentant l'observation au microscope optique des surfaces amélaire après les tests de cisaillement. **A** : rupture adhésive ; **B** : rupture mixte entre l'adhésif et la couche de composite ; **C** : rupture cohésive dans la couche composite. (Grossissement x50). Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

4.3. Analyse de l'interface émail-adhésif au MEB

La surface amélaire qui est préparée en mode *self-etch* (G1) montre une couche adhésive lisse (Figure 34). L'émail qui est préparé en mordantage rinçage passif (G2) montre une rugosité de surface bien plus importante au niveau de la face interne de la couche adhésive (Figure 35) que le groupe 1. L'émail qui est préparé en mordantage rinçage tout en frottant l'acide (G3) montre une grande pénétration de l'adhésif dans l'émail (Figure 36) en comparaison avec l'émail mordancé sans être frotté (Figure 35).

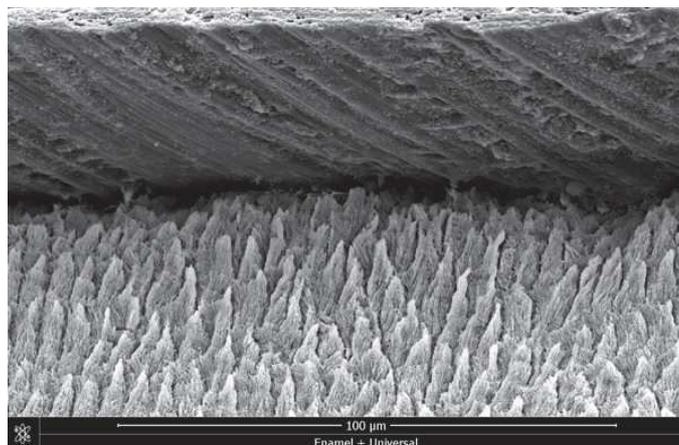


Figure 34 : Image au microscope électronique de l'interface émail-adhésif en mode *self etch* (G1) aucune pénétration de la résine n'est visible (grossissement X1500).). Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

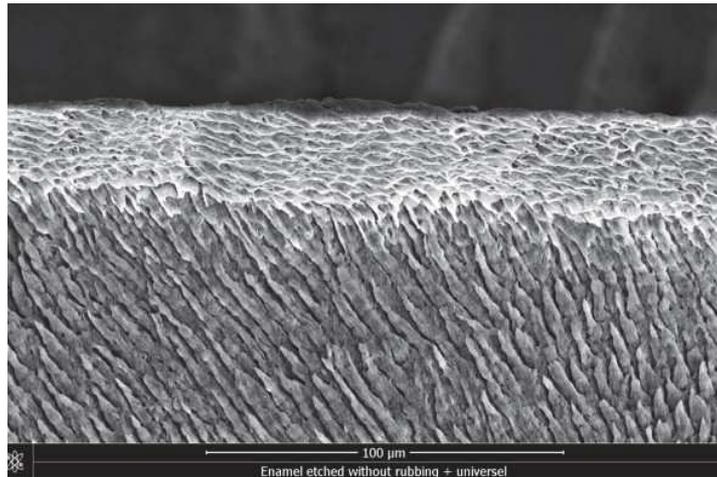


Figure 35 : Image au microscope électronique de l'interface émail-adhésif en mode mordantage rinçage sans frotter l'acide (G2). Une pénétration accrue de l'adhésif dans l'émail est visible (grossissement X1500).). Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

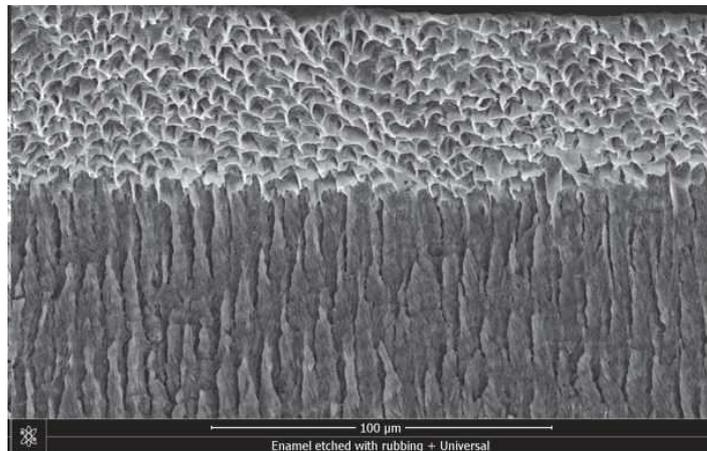


Figure 36 : Image au microscope électronique de l'interface émail-adhésif en mode mordantage rinçage en frottant l'acide (G3), une pénétration très importante de l'adhésif universel dans l'émail est visible (grossissement x1500).). Iconographie personnelle-laboratoire INSERM UMRS 1121.

5. Discussion

Cette étude *in vitro* démontre que le mordantage de l'émail à l'acide orthophosphorique augmente l'adhésion micromécanique à l'émail. Les traitements de surface influencent de manière significative les valeurs de rupture au cisaillement des adhésifs universels sur l'émail. L'hypothèse initiale proposant l'absence de différence entre les forces d'adhésion selon le traitement de surface est donc rejetée.

Les infiltrations de résine au niveau de l'émail sont comparées en utilisant différentes méthodes de préparation de l'émail (*self-etch*, mordantage rinçage, mordantage rinçage en frottant l'acide). L'étude présentée ici propose de frotter de l'acide orthophosphorique sur l'émail afin d'augmenter la qualité de l'adhésion.

Cette étude *in vitro* démontre que le mordantage de la surface amélaire avec de l'acide 37% frotté pendant 30 secondes précédant l'application d'un adhésif universel, améliore les valeurs d'adhérence.

Jacobsen *et al.* (76) ont montré que l'utilisation d'acide orthophosphorique pourrait entraîner une formation accrue de phosphate de calcium monohydraté (MCPM). Les échantillons ont donc été rincés pendant 30 secondes afin d'éliminer au maximum les précipités créés par le mordantage. (77)

Quand la surface amélaire est préparée en mode mordantage-rinçage sans frotter l'acide, il y a une augmentation des micro-porosités. Il y a alors une meilleure infiltration de la résine adhésive. L'interface adhésif/émail des échantillons du groupe 3 révèlent une pénétration plus importante de l'adhésif comparée aux échantillons non frottés (G2). Pouyanfar *et al.* (78) ont noté que la pérennité du complexe adhésif émail est basé sur la pénétration des résines monomériques dans les micro-porosités de la surface amélaire induites par le mordantage à l'acide.

D'après les résultats de l'étude présentée ici, les images au MEB montrent que mordancer à l'acide orthophosphorique en frottant pendant 30 secondes avant de réaliser l'étape d'adhésion laisse une surface rugueuse avec des infiltrations résineuses importantes qui permettent une rétention micromécanique non négligeable de la résine adhésive. Kharouf *et al.* (79) ont noté que lors d'une application frottée du mordantage sur la dentine, la ténacité de l'adhésif était diminuée. Les images MEB montrent que sans mordantage à l'acide orthophosphorique de l'émail, il ne présente ni relief, ni porosité (G1) Figure 34.

Afin de compléter les observations qualitatives issues du MEB (Pénétration plus ou moins profonde de la résine, décollement de la couche adhésive), des tests de cisaillement ont été réalisés pour les 3 groupes. Le test de cisaillement est considéré comme une méthode comparative de référence dans ce domaine. (80)

En mode *self-etch* (G1), l'adhésif universel montre une rupture au cisaillement significativement inférieure aux autres groupes (G2 et G3) comme décrits dans le tableau 4. La surface amélaire lisse, conduit à une faible diffusion de l'adhésif au sein de cette structure. Il y a une diminution de la rétention micromécanique ainsi que de la surface de contact entre l'adhésif et l'émail. Des conclusions similaires (66,68) ont été précédemment énoncées. L'efficacité du collage des adhésifs universels sur l'émail est essentiel. Le mode mordantage-rinçage est recommandé pour obtenir un collage satisfaisant avec les adhésifs universels. (81)

Les forces de rupture au cisaillement des échantillons ayant subi un mordantage-rinçage sont statistiquement différentes (test de variance anova $p = 0.033$). Les échantillons ayant été frotté lors du mordantage révèle une rupture au cisaillement plus élevée. Plusieurs adhésifs universels contiennent des monomères acides comme le methacryloyloxydecyl dihydrogène phosphate (MDP). Un des avantages du MDP est sa capacité à former une liaison ionique hydro stable avec les calciums d'hydroxyapatites. (82)

Mordancer en frottant permet de créer une rugosité de surface plus importante et donc d'augmenter la surface d'échange entre la couche adhésive et l'hydroxyapatite. La plus grande valeur d'adhésion obtenue après avoir frotté le mordantage peut s'expliquer par la présence d'un plus grand nombre d'échange ionique entre l'adhésif et le calcium ainsi qu'une meilleur rétention micro-mécanique par rapport au mode *self-etch* ou mordantage rinçage classique.

Les ruptures adhésives sont les plus fréquentes. Les échantillons avec une liaison plus élevée (G2 et G3) ont plus de ruptures mixtes et cohésives que les autres groupes.

Une donnée importante à ajouter à cette étude est le facteur temps. En effet, les observations ont été réalisées à court terme. L'incidence de l'eau sur la qualité de l'adhésion au long cours n'a donc pas été calculée. Emamieh *et al.* (83) ont mis en avant que la force d'adhésion est affectée par l'immersion prolongée des échantillons dans l'eau. D'autres données de cette étude comme la réduction de l'épaisseur de l'émail (par l'action du frottement) ainsi que la force de frottement lors du mordantage n'ont pas été mesurées.

6. Conclusion

Le mordantage par l'acide orthophosphorique 37% avec un frottement pendant 30 secondes précédant l'application d'un adhésif universel sur une surface amélaire est recommandé. Cette technique d'application entraîne une augmentation de la profondeur et de la largeur des reliefs sur l'émail, octroyant ainsi une meilleure pénétration de l'adhésif au niveau amélaire.

Conclusions

Tous les travaux présentés dans cette thèse sont le fruit d'une première observation simple et pourtant intéressante. Le but de notre métier est de réaliser les soins les moins invasifs et les plus pérennes. Pour répondre à ces deux critères, le développement de la dentisterie adhésive a pu permettre à la fois une conservation maximale des structures dentaires ainsi qu'une longévité croissante des restaurations. Cependant, les restaurations adhésives sont complexes et nécessitent une maîtrise des protocoles ainsi qu'une connaissance en matière d'histologie et de matériaux afin de mieux adapter les techniques et de développer une constance dans la qualité de ces restaurations.

Ces techniques semblent souvent complexes pour les chirurgiens-dentistes car elles soulèvent plusieurs difficultés : une maîtrise de l'hygrométrie, du temps d'application des différents produits, ainsi que leur adaptation au substrat présent.

Afin de permettre aux chirurgiens-dentistes d'utiliser de manière quotidienne cet arsenal thérapeutique, les industriels développent régulièrement des produits qui facilitent la mise en œuvre du collage en diminuant le nombre d'étapes. Le gold standard actuel du collage en dentisterie est le système MR 3. L'apparition d'adhésifs nécessitant de moins en moins d'étape tend à diminuer les risques d'erreurs de manipulations. Récemment, les adhésifs dit universels ont vu le jour, et avec eux, la volonté déjà présente dans les SAM (systèmes auto-mordançant) d'avoir une opération unique. Or, la préparation du substrat dentaire par mordançage reste une étape indispensable pour obtenir une surface propice au collage.

D'après plusieurs études, il semblerait que le mordançage sur la dentine puisse être réduit à 3 secondes, ceci non dans un but d'économie de temps, mais dans le but d'améliorer les performances adhésives et réduire les stress appliqués au complexe pulpaire. En effet, lors d'une proximité pulpaire, un mordançage prolongé peut entraîner des réactions inflammatoires, et donc nécessiter une biopulpectomie.

L'étude réalisée sur la dentine révèle que mordancer pendant 3 secondes donnait une adhésion supérieure à un mordançage frotté pendant 3 secondes. Une hypothèse pour expliquer cette diminution de l'adhésion lorsque l'acide est frotté est que les cristaux d'hydroxyapatite autour du collagène sont dissous, de plus le frottement de la *micro-brush* peut entraîner un écrasement des fibres de collagène qui sont indispensables à la bonne adhésion à la dentine.

Les tests de cisaillement effectués sur les échantillons d'émail montrent que quand l'acide est frotté, une meilleure valeur au cisaillement est obtenue que lorsqu'il

a simplement été posé sur l'émail. L'adhésif universel sans mordantage préalable est encore une fois en dessous des deux autres groupes.

Au niveau de la dentine, ces tests mettent en évidence-que malgré une rugosité de surface optiquement plus favorable pour le micro clavetage mécanique, la résistance à la traction est diminuée. Il est donc possible que le rôle du collagène soit non négligeable dans l'adhésion avec la dentine et que sa configuration dans l'espace l'est également. Le fait d'aller l'écraser met donc en péril le collage.

En revanche, pour l'émail, le fait de frotter l'acide a permis d'obtenir les meilleurs résultats dans les tests de cisaillement. L'émail testé était principalement prismatique. Il serait intéressant de réaliser une étude sur de l'émail aprismatique externe pour reproduire les conditions de collage lors de brackets orthodontiques ou de facettes additives. L'absence de prismes d'émail influencerait sûrement les valeurs d'adhésion.

SIGNATURE DES CONCLUSIONS

Thèse en vue du Diplôme d'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire

Nom - prénom de l'impétrant : RAPP Gautier

Titre de la thèse : Etude qualitative et quantitative de l'application active du promoteur
d'adhésion sur la performance d'un adhésif universel

Directeur de thèse : Docteur François REITZER

VU

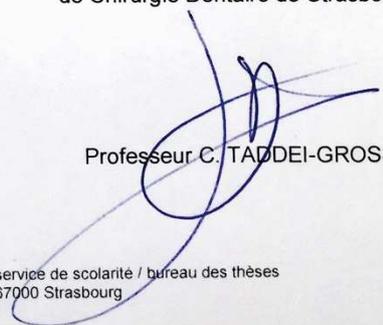
Strasbourg, le : **07 SEP. 2020**
Le Président du Jury,



Professeur Y. HAIKEL

VU

Strasbourg, le : **08 SEP. 2020**
Le Doyen de la Faculté
de Chirurgie Dentaire de Strasbourg,



Professeur C. TADDEI-GROSS

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Allais M. Matériaux fonctionnels à base de polyphénols. Thèse de physique chimie. Université de Strasbourg. 2018. 235 p.
2. Faerber J. Microscopie électronique à balayage Microanalyse X par sonde électronique. Institut de physique et chimie des matériaux de Strasbourg; 2004.
3. Poitevin A, De Munck J, Van Landuyt K, Coutinho E, Peumans M, Lambrechts P, et al. Critical analysis of the influence of different parameters on the microtensile bond strength of adhesives to dentin. J Adhes Dent. févr 2008;10(1):7-16.
4. Elias AB, Simão RA, Prado M, Cesar PF, Botelho Dos Santos G, Moreira da Silva E. Effect of different times of nonthermal argon plasma treatment on the microtensile bond strength of self-adhesive resin cement to yttria-stabilized tetragonal zirconia polycrystal ceramic. J Prosthet Dent. mars 2019;121(3):485-91.
5. Salz U, Bock T. Testing adhesion of direct restoratives to dental hard tissue - a review. J Adhes Dent. oct 2010;12(5):343-71.
6. Brännström M, Aström A. The hydrodynamics of the dentine; its possible relationship to dentinal pain. Int Dent J. juin 1972;22(2):219-27.
7. Butler WT. Dentin matrix proteins. Eur J Oral Sci. 1998;106(S1):204-10.
8. Nanci A. Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function (8e éd.). Mosby. 2012. 379 p.
9. Pashley DH. Smear layer: overview of structure and function. Proc Finn Dent Soc Suom Hammaslaakariseuran Toim. 1992;88 Suppl 1:215-24.
10. Sauro S, Thompson I, Watson T. Effects of Common Dental Materials Used in Preventive or Operative Dentistry on Dentin Permeability and Remineralization. Oper Dent. 1 mars 2011;36(2):222-30.

11. Ramos JC, Soares AD, Torres S, Costa AL, Messias AL, Vinagre A. Adhesive interface and microtensile bond strength evaluation of four adhesive systems to primary dentin. Rev Port Estomatol Med Dentária E Cir Maxilofac. avr 2016;57(2):65-73.
12. Shafiei F, Kamran S, Memarpour M, Aghaei T. Bond strength and adhesive interfacial micromorphology of self-adhesive resin cements: Effect of reduced times of pre-etching. J Clin Exp Dent. 1 nov 2019;11(11):e984-90.
13. Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Berry TP, Watanabe H, Erickson RL, et al. Influence of different etching modes on bond strength and fatigue strength to dentin using universal adhesive systems. Dent Mater. févr 2016;32(2):e9-21.
14. Sardella TN, de Castro FLA, Sanabe ME, Hebling J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. J Dent. mai 2005;33(5):355-62.
15. Jacobsen T, Söderholm K-J. Some effects of water on dentin bonding. Dent Mater. mars 1995;11(2):132-6.
16. Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SH. The overwet phenomenon: an optical, micromorphological study of surface moisture in the acid-conditioned, resin-dentin interface. Am J Dent. févr 1996;9(1):43-8.
17. Dentsply. Scientific Compendium Prime&Bond activeTM. 2016.
18. Chen L, Suh BI. Effect of hydrophilicity on the compatibility between a dual-curing resin cement and one-bottle simplified adhesives. J Adhes Dent. août 2013;15(4):325-31.
19. Luque-Martinez IV, Perdigão J, Muñoz MA, Sezinando A, Reis A, Loguercio AD. Effects of solvent evaporation time on immediate adhesive properties of universal adhesives to dentin. Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater. oct 2014;30(10):1126-35.

20. Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. J Dent Res. avr 1979;58(4):1364-70.
21. Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, Pashley DH, Prati C, Tay FR. A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. Biomaterials. mars 2005;26(9):1035-42.
22. Yoshida H, Nishiyama N. Development of self-etching primer comprised of methacrylamide, N-methacryloyl glycine. Biomaterials. déc 2003;24(28):5203-7.
23. Moszner N, Salz U, Zimmermann J. Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: a systematic review. Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater. oct 2005;21(10):895-910.
24. Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, Svizero N, Carvalho RM, Yiu C, et al. Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. Biomaterials. nov 2005;26(33):6449-59.
25. Prati C, Chersoni S, Pashley DH. Effect of removal of surface collagen fibrils on resin-dentin bonding. Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater. sept 1999;15(5):323-31.
26. Service commun de microscopie. Introduction à la microscopie confocale [Internet]. Introduction à la microscopie confocale. [cité 5 juill 2020]. Disponible sur: http://www.biomedicale.parisdescartes.fr/scm/introduction_microscopie_confocale.html
- 27. IRCCP. Microanalyse X couplée au microscope électronique à balayage (MEB/EDX). [En ligne]. <http://www.lrccp.com/fr/qui-sommes-nous/moyens-dessais/item/microanalyse-x-couplee-au-microscope-electronique-a-balayage-meb-edx>. Consulté le 9 juin 2020.**
28. Braga RR, Meira JBC, Boaro LCC, Xavier TA. Adhesion to tooth structure: a critical review of « macro » test methods. Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater. févr 2010;26(2):e38-49.

29. Inoue S, Vargas MA, Abe Y, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, et al. Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to dentin. J Adhes Dent. 2001;3(3):237-45.
30. Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, et al. The microtensile bond test: a review. J Adhes Dent. 1999;1(4):299-309.
31. Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater. juill 1994;10(4):236-40.
32. Ghassemieh E. Evaluation of sources of uncertainties in microtensile bond strength of dental adhesive system for different specimen geometries. Dent Mater. avr 2008;24(4):536-47.
33. Betamar N, Cardew G, Van Noort R. Influence of specimen designs on the microtensile bond strength to dentin. J Adhes Dent. avr 2007;9(2):159-68.
34. Poitevin A, De Munck J, Van Landuyt K, Coutinho E, Peumans M, Lambrechts P, et al. Critical analysis of the influence of different parameters on the microtensile bond strength of adhesives to dentin. J Adhes Dent. févr 2008;10(1):7-16.
35. Scherrer SS, Cesar PF, Swain MV. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: a critical literature review. Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater. févr 2010;26(2):e78-93.
36. Lu S, Zhao S-J, Wang W-G, Gao Y, Zhang Y, Dou Q, et al. A new fixation method for stick-shaped specimens in microtensile tests: laboratory tests and FEA. J Adhes Dent. déc 2013;15(6):511-8.
37. Eliades G, Palaghias G, Vougiouklakis G. Effect of acidic conditioners on dentin morphology, molecular composition and collagen conformation in situ. Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater. janv 1997;13(1):24-33.

38. Stape THS, Wik P, Mutluay MM, Al-Ani AAS, Tezvergil-Mutluay A. Selective dentin etching: A potential method to improve bonding effectiveness of universal adhesives. J Mech Behav Biomed Mater. oct 2018;86:14-22.
39. de Los Angeles Moyaho-Bernal M, Contreras-Bulnes R, Rodríguez-Vilchis LE, Rubio-Rosas E, Scougall-Vilchis RJ, Centeno-Pedraza C. Morphological and chemical changes in human deciduous dentin after phosphoric acid, self-etching adhesive and Er: YAG laser conditioning. Microsc Res Tech. mai 2018;81(5):494-501.
40. Besinis A, van Noort R, Martin N. Infiltration of demineralized dentin with silica and hydroxyapatite nanoparticles. Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater. sept 2012;28(9):1012-23.
41. Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: A review. Dent Mater. mars 1995;11(2):117-25.
42. Brännström M, Glantz PO, Nordenvall KJ. The effect of some cleaning solutions on the morphology of dentin prepared in different ways: an in-vivo study. ASDC J Dent Child. août 1979;46(4):291-5.
43. Ikeda T, De Munck J, Shirai K, Hikita K, Inoue S, Sano H, et al. Effect of air-drying and solvent evaporation on the strength of HEMA-rich versus HEMA-free one-step adhesives. Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater. oct 2008;24(10):1316-23.
44. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, J. DM, K.L. VL. State of the art of self-etch adhesives. Dent Mater. janv 2011;27(1):17-28.
45. Li B, Zhu X, Ma L, Wang F, Liu X, Yang X, et al. Selective demineralisation of dentine extrafibrillar minerals-A potential method to eliminate water-wet bonding in the etch-and-rinse technique. J Dent. 2016;52:55-62.
46. Bertassoni LE, Orgel JPR, Antipova O, Swain MV. The dentin organic matrix - limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale. Acta Biomater. juill 2012;8(7):2419-33.

47. Chen C, Niu L-N, Xie H, Zhang Z-Y, Zhou L-Q, Jiao K, et al. Bonding of universal adhesives to dentine--Old wine in new bottles? J Dent. mai 2015;43(5):525-36.
48. Koshiro K, Inoue S, Tanaka T, Koase K, Fujita M, Hashimoto M, et al. In vivo degradation of resin-dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system. Eur J Oral Sci. août 2004;112(4):368-75.
49. Abu-Hanna A, Gordan VV, Mjor I. The effect of variation in etching times on dentin bonding. Gen Dent. févr 2004;52(1):28-33.
50. Tezvergil-Mutluay A, Mutluay M, Seseogullari-Dirihan R, Agee KA, Key WO, Scheffel DLS, et al. Effect of phosphoric acid on the degradation of human dentin matrix. J Dent Res. janv 2013;92(1):87-91.
51. Saikaew P, Senawongse P, Chowdhury AA, Sano H, Harnirattisai C. Effect of smear layer and surface roughness on resin-dentin bond strength of self-etching adhesives. Dent Mater J. 27 nov 2018;37(6):973-80.
52. Jang J-H, Lee MG, Woo SU, Lee CO, Yi J-K, Kim D-S. Comparative study of the dentin bond strength of a new universal adhesive. Dent Mater J. 2016;35(4):606-12.
53. Wagner A, Wendler M, Petschelt A, Belli R, Lohbauer U. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. J Dent. juill 2014;42(7):800-7.
54. Reis A, Carrilho M, Breschi L, Loguercio AD. Overview of clinical alternatives to minimize the degradation of the resin-dentin bonds. Oper Dent. août 2013;38(4):E1-25.
55. Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. Biomaterials. sept 2003;24(21):3795-803.
56. Bahillo J, Roig M, Bortolotto T, Krejci I. Self-etching aspects of a three-step etch-and-rinse adhesive. Clin Oral Investig. nov 2013;17(8):1893-900.

57. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Tay FR, Oguchi H, et al. Over-etching effects on micro-tensile bond strength and failure patterns for two dentin bonding systems. J Dent. mars 2002;30(2-3):99-105.
58. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. Oper Dent. juin 2003;28(3):215-35.
59. Van Landuyt KL, Yoshida Y, Hirata I, Snauwaert J, De Munck J, Okazaki M, et al. Influence of the chemical structure of functional monomers on their adhesive performance. J Dent Res. août 2008;87(8):757-61.
60. Yoshihara K, Yoshida Y, Nagaoka N, Fukegawa D, Hayakawa S, Mine A, et al. Nano-controlled molecular interaction at adhesive interfaces for hard tissue reconstruction. Acta Biomater. sept 2010;6(9):3573-82.
61. Zhang Z, Wang X, Zhang L, Liang B, Tang T, Fu B, et al. The contribution of chemical bonding to the short- and long-term enamel bond strengths. Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater. juill 2013;29(7):e103-112.
62. Wang Y, Spencer P. Effect of acid etching time and technique on interfacial characteristics of the adhesive-dentin bond using differential staining. Eur J Oral Sci. juin 2004;112(3):293-9.
63. Sadek FT, Goracci C, Cardoso PEC, Tay FR, Ferrari M. Microtensile bond strength of current dentin adhesives measured immediately and 24 hours after application. J Adhes Dent. 2005;7(4):297-302.
64. Peerzada F, Yiu CKY, Hiraishi N, Tay FR, King NM. Effect of surface preparation on bond strength of resin luting cements to dentin. Oper Dent. déc 2010;35(6):624-33.
65. Grégoire G, Ahmed Y. Evaluation of the enamel etching capacity of six contemporary self-etching adhesives. J Dent. mai 2007;35(5):388-97.
66. Diniz AC, Bandeca MC, Pinheiro LM, Dos Santosh Almeida LJ, Torres CR, Borges AH, et al. Influence of Different Etching Modes on Bond Strength to

- Enamel using Universal Adhesive Systems. J Contemp Dent Pract. 1 oct 2016;17(10):820-5.
67. van Dijken JWV, Sunnegårdh-Grönberg K, Lindberg A. Clinical long-term retention of etch-and-rinse and self-etch adhesive systems in non-cariou cervical lesions. A 13 years evaluation. Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater. sept 2007;23(9):1101-7.
68. Suzuki T, Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Endo H, Erickson RL, et al. Influence of Etching Mode on Enamel Bond Durability of Universal Adhesive Systems. Oper Dent. oct 2016;41(5):520-30.
69. Bates D, Retief DH, Jamison HC, Denys FR. Effects of acid etch parameters on enamel topography and composite resin--enamel bond strength. Pediatr Dent. juin 1982;4(2):106-10.
70. Oyarzún A, Rathkamp H, Dreyer E. Immunohistochemical and ultrastructural evaluation of the effects of phosphoric acid etching on dentin proteoglycans. Eur J Oral Sci. déc 2000;108(6):546-54.
71. Yeşilyurt C, Bulucu B. Bond strength of total-etch and self-etch dentin adhesive systems on peripheral and central dentinal tissue: a microtensile bond strength test. J Contemp Dent Pract. 1 mai 2006;7(2):26-36.
72. Ozer F, Unlü N, Sengun A. Influence of dentinal regions on bond strengths of different adhesive systems. J Oral Rehabil. juin 2003;30(6):659-63.
73. Reicheneder CA, Gedrange T, Lange A, Baumert U, Proff P. Shear and tensile bond strength comparison of various contemporary orthodontic adhesive systems: an in-vitro study. Am J Orthod Dentofac Orthop Off Publ Am Assoc Orthod Its Const Soc Am Board Orthod. avr 2009;135(4):422.e1-6; discussion 422-423.
74. Sai K, Takamizawa T, Imai A, Tsujimoto A, Ishii R, Barkmeier WW, et al. Influence of Application Time and Etching Mode of Universal Adhesives on Enamel Adhesion. J Adhes Dent. 2018;20(1):65-77.

75. Yildirim S, Tosun G, Koyutürk AE, Sener Y, Sengün A, Ozer F, et al. Microtensile and microshear bond strength of an antibacterial self-etching system to primary tooth dentin. Eur J Dent. janv 2008;2(1):11-7.
76. Jacobsen T, Söderholm KJ, Garcea I, Mondragon E. Calcium leaching from dentin and shear bond strength after etching with phosphoric acid of different concentrations. Eur J Oral Sci. juin 2000;108(3):247-54.
77. Turner C, Courts FJ, Gombola GG. The removal of phosphoric acid and calcium phosphate precipitates: an analysis of rinse time. Pediatr Dent. sept 1987;9(3):208-11.
78. Pouyanfar H, Tabaii ES, Aghazadeh S, Nobari SPTN, Imani MM. Microtensile Bond Strength of Composite to Enamel Using Universal Adhesive with/without Acid Etching Compared To Etch and Rinse and Self-Etch Bonding Agents. Open Access Maced J Med Sci. 25 nov 2018;6(11):2186-92.
79. Kharouf N, Rapp G, Mancino D, Hemmerlé J, Haikel Y, Reitzer F. Effect of etching the coronal dentin with the rubbing technique on the microtensile bond strength of a universal adhesive system. Dent Med Probl. déc 2019;56(4):343-8.
80. Burke FJT, Hussain A, Nolan L, Fleming GJP. Methods used in dentine bonding tests: an analysis of 102 investigations on bond strength. Eur J Prosthodont Restor Dent. déc 2008;16(4):158-65.
81. Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, et al. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater. févr 2010;26(2):e100-121.
82. Imai A, Takamizawa T, Sai K, Tsujimoto A, Nojiri K, Endo H, et al. Influence of application method on surface free-energy and bond strength of universal adhesive systems to enamel. Eur J Oral Sci. oct 2017;125(5):385-95.
83. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. Biomaterials. sept 2007;28(26):3757-85.

ANNEXES

Incidence de la cinétique d'application du promoteur d'adhésion sur les forces rétentives d'un adhésif universel sur la dentine

AHEAD OF PRINT

Original papers

Effect of etching the coronal dentin with the rubbing technique on the microtensile bond strength of a universal adhesive system

Wpływ wytrawiania zębiny koronowej techniką wcierania na mikrorozciągliwą siłę wiązania uniwersalnego systemu adhezyjnego

Naji Kharouf^{1,2,A-D,F}, Gautier Rapp^{2,B,C}, Davide Mancino^{1,2,E,F}, Joseph Hemmerlé^{1,C,E,F}, Youssef Haikel^{1,2,E,F}, Francois Reitzer^{1,2,A,C,E,F}

¹Inserm UMR_S 1121, Biomaterials and Bioengineering, University of Strasbourg, France

²Department of Conservative Dentistry and Endodontics, Faculty of Dental Medicine, University of Strasbourg, France

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation;
D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

Dental and Medical Problems, ISSN 1644-387X (print), ISSN 2300-9020 (online)

Dent Med Probl. 2019;56(4)

Address for correspondence

Naji Kharouf
E-mail: dentistena.jkharouf@gmail.com

Funding sources

None declared

Conflict of interest

None declared

Received on June 13, 2019

Reviewed on July 21, 2019

Accepted on August 10, 2019

Published online on December 3, 2019

Cite as

Kharouf N, Rapp G, Mancino D, Hemmerlé J, Haikel Y, Reitzer F. Effect of etching the coronal dentin with the rubbing technique on the microtensile bond strength of a universal adhesive system [published online as ahead of print on December 3, 2019]. *Dent Med Probl.* 2019;56(4). doi:10.17219/dmp/111697

DOI

10.17219/dmp/111697

Copyright

© 2019 by Wrocław Medical University
This is an article distributed under the terms of the
Creative Commons Attribution 3.0 Unported License (CC BY 3.0)
(<https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>)

Abstract

Background. The adhesion of composite resins to the dentin substrate is influenced by the treatment of the smear layer. While etch-and-rinse systems require dentin to be conditioned with phosphoric acid, self-etching systems preserve the smear layer by incorporating it into the adhesive layer.

Objectives. The objective of this study was to evaluate the influence of etching with the rubbing technique on the microtensile bond strength (μ TBS) of a universal adhesive to dentin.

Material and methods. Eighteen extracted teeth were selected. Two etch-and-rinse techniques (with and without rubbing) and a self-etching technique were used to bond the dentin surfaces with a universal adhesive system. After 24 h, the bonded samples were prepared for the μ TBS testing. The specimens were loaded with a tensile force at a crosshead speed of 0.5 mm/min until failure. The scanning electron microscope (SEM) analyses were used to reveal the failure modes. The data were statistically analyzed with the one-way analysis of variance (ANOVA) and χ^2 tests.

Results. The etch-and-rinse system with rubbing produced significantly lower bond strength (42.11 ± 9.26 MPa) than the etch-and-rinse system without rubbing (47.30 ± 8.12 MPa) and significantly higher bond strength than the self-etching system (38.07 ± 9.49 MPa).

Conclusions. Under the conditions of this study, dentin etched with phosphoric acid for 3 s in the etch-and-rinse mode with the rubbing technique for a universal adhesive system decreases the μ TBS of the composite to dentin.

Key words: etching, phosphoric acid, universal adhesive, rubbing technique

Słowa kluczowe: wytrawianie, kwas fosforowy, uniwersalny materiał adhezyjny, technika wcierania

provisional PDF only

Introduction

Dentin is capped by a crown made of highly mineralized and protective enamel.¹ The composition and structure of the enamel and dentin matrices are different, so the adhesion mechanisms for these tissues are also dissimilar.² Bonding to dentin has been considered more difficult treatment because of the complex histology and composition of dentin.³ A universal system has been described as ideally a single-bottle one, which can be used in the total-etching, self-etching and selective-etching modes.⁴ Bonding to dentin with total-etch adhesives is accomplished in 2 steps. The 1st step is to etch the surface by applying a strong acid, and the 2nd step is the penetration and then polymerization of the resin in situ inside the etched surface.⁵ On the other hand, self-etch adhesives do not require a separate etching step, as they contain acidic monomers.⁶ Etching dentin with phosphoric acid for 15 s removes almost all mineral content, exposes collagen fibers and allows them to be infiltrated with the adhesive material.⁷ In the self-etching mode, a universal adhesive partially dissolves the smear layer without demineralizing the tooth surface too profoundly, thereby removing hydroxyapatite at the interface. Preserving hydroxyapatite at the interface provides calcium for chemical bonding to the functional monomer.⁶ Selective dentin etching is a relatively new approach used to improve resin–dentin bonding by preserving hydroxyapatite crystals inside the intrafibrillar collagen spaces.^{8,9} Universal adhesives used in the self-etching mode produce superior, long-term dentin bonding compared to the etch-and-rinse method^{10,11}; reducing the etching time may be useful for achieving complete penetration and for sealing the dentin surface.¹² Selective etching for 3 s using 37% phosphoric acid improves the effectiveness of dentin bonding.¹³ Phosphoric acid is the most suitable acid conditioner in dental restoration.¹⁴

Hanabusa et al., who compared the self-etching mode with 'dry-bonding' and 'wet-bonding' etch-and-rinse techniques, noted that the self-etching approach was preferred on the dentin surface.¹⁵ Zecin-Deren et al. recommended using triple adhesive layers with simplified adhesive systems in order to improve their performance.¹⁶

The present study highlights another application protocol, and discusses the rubbing action of phosphoric acid in the etch-and-rinse technique on the dentin surface before the rinsing and bonding procedures.

The bond strength measurement is one of the most effective methods for characterizing commercial dentin bonding products.^{17,18}

The purpose of this in vitro study was to evaluate and compare the microtensile bond strength (μ TBS) of 2 different etch-and-rinse protocols and a self-etching protocol for universal adhesive systems. The null hypothesis was that there are no differences in the μ TBS of a dentin bond after the bonding procedure between the 3 different etching techniques.

Material and methods

Specimen preparation

This study was revised and approved by the Ethics Committee of the Faculty of Dental Medicine at the University of Strasbourg and Strasbourg University Hospital, France (protocol No. 201905).

In total, 18 recently extracted caries-free human mandibular molars were selected. The teeth were washed with physiological serum and stored in 70% ethanol for 2 weeks at 4°C. We divided the extracted teeth into 3 groups. The dentin bonding sites were prepared by sectioning the teeth and removing the root structure.

One section was made perpendicular to the longitudinal axis of the tooth crown to obtain a single coronal dentin wafer, 4 mm in thickness, then polished with P320-grit silicon carbide paper (Escil, Chassieu, France) for 60 s under water cooling conditions to get the same surface as in the case of using a dental diamond burr drill.¹³

The 1st group (G1) consisted of 6 teeth which were bonded in the self-etching mode using a universal adhesive (Prime & Bond[®] active – P&Ba; Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Germany) (Table 1). The 2nd group (G2) consisted of 6 teeth which were bonded using the same universal adhesive in the etch-and-rinse mode – etching with 37% phosphoric acid (Itena Clinical, Villepinte, France) for 3 s, followed by rinsing with water for 30 s.¹³ The 3rd group (G3) consisted of 6 teeth which were bonded in the etch-and-rinse mode with the rubbing technique – etching with 37% phosphoric acid for 3 s with the rubbing method using a micro-brush, and then rinsing with water for 30 s. The adhesive was applied according to the manufacturer's

Table 1. Chemical composition of and instructions for the material used

Material and manufacturer	Composition	pH	Instructions for use
Prime & Bond Active (P&Ba); Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Germany	– bisacrylamide 1 (25–50%) – 10-methacryloxydecyl dihydrogen phosphate (10-MDP) (10–25%) – bisacrylamide 2 (2.5–10%) – 4-(dimethylamino)benzonitrile (0.1–1%) – dipentaerythritol pentaacrylate phosphate (PENTA), propan-2-ol (10–25%) – water (20%)	2.5	apply adhesive, slight agitation (20 s), mild air-blowing (5 s), light-curing (20 s)

provisional PDF only

protocol (brushing for 20 s, air-drying for 5 s and light-curing for 20 s). The adhesive was light-cured for 20 s with the aid of an Optilux® 501 apparatus (Kerr Dental France, Ivry-sur-Seine, France) at a light intensity of 600 mW/cm².

Microtensile bond strength

The samples from each group were prepared for the μ TBS tests. Resin composite build-ups were performed using a resin composite (Ceram® X; Dentsply Sirona) in 3 increments of 2 mm each. Each increment was light-cured for 40 s, according to the manufacturer's instructions, until a height of 6 mm was reached. The teeth were stored in distilled water in an incubator for 24 h at 37°C. This experimental study was carried out in accordance with the International Standards Organization's ISO TR 11405. The samples were longitudinally sectioned using a diamond wire saw (WELL Diamond Wire Saws SA, Le Locle, Switzerland) in both X- and Y-axes with a cross-sectional area of approx. 1 mm². The sticks (9–12 from each sample) were kept moist until testing. For the μ TBS tests, the specimens were attached to a testing machine (Instron® 3345; Instron, Norwood, USA) with a cyanoacrylate adhesive. The specimens were loaded with a tensile force at a crosshead speed of 0.5 mm/min until failure. The microtensile bond strength [MPa] was calculated by dividing the load at failure [N] by the bonded surface area [mm²].

Scanning electron microscope preparations and observations

After the μ TBS testing process, the dentin sides of all samples were dehydrated in a graded ethanol series. The samples were sputter-coated with gold-palladium alloys (20/80) using a Hummer® JR sputtering device (Technics, San Francisco, USA). Later on, a Quanta® 250 FEG scanning electron microscope (SEM) (FEI Company, Eindhoven, the Netherlands) functioning with an accelerating voltage of 10 kV was used for the observation of all coated specimens (61 samples from G1, 60 samples from G2 and 60 samples from G3).

The dentin surfaces were examined under SEM at $\times 100$ magnification in order to determine the mode of failure. The failure modes were categorized into the following 3 types¹⁹:

- type 1: adhesive failure;
- type 2: cohesive failure in the composite or dentin; and
- type 3: mixed failure, in the case when one area exhibited cohesive failure while other areas exhibited an adhesive fracture.

Statistical analysis

Any samples that exhibited cohesive or mixed failures were excluded from the statistical analysis.^{20,21} The data analysis was performed with SigmaPlot, v. 11.2 (Systat Software Inc., San Jose, USA). The one-way analysis of variance (ANOVA) test was applied in the comparisons of the μ TBS data of the 3 groups. The χ^2 test was performed to compare the effects of the 3 different etching protocols used on the mode of failure. In all tests, a statistical significance level of $\alpha = 0.05$ was adopted.

Results

Microtensile bond strength test

A total of 181 specimens (sticks) were available for the μ TBS testing. The mean values of μ TBS with standard deviations (SDs) are shown in Table 2. The ANOVA test revealed a statistically significant difference between the means corresponding to the different etching techniques. In a pairwise comparison for the pair (G1, G2), the test resulted in $p < 0.001$, and for the pairs (G2, G3) and (G1, G3), $p = 0.034$ and $p = 0.05$, respectively. Therefore, the null hypothesis was rejected ($p < \alpha$).

Table 2. Descriptive statistics of the microtensile bond strength (μ TBS) of a dentin bond in adhesive failure samples

Experimental group	N (total)	n (cohesive and mixed failures)	n (adhesive failures)	μ TBS mean \pm SD [MPa]
G1	61	19	42	38.07 \pm 9.49
G2	60	26	34	47.30 \pm 8.12
G3	60	23	37	42.11 \pm 9.26

SD – standard deviation.

Scanning electron microscope failure analysis

The dentin side of each stick was observed in order to identify the failure type. Higher μ TBS values were mostly associated with a higher tendency toward cohesive failure in the composite (Fig. 1A) or mixed failure (Fig. 1B,C), in particular for G2 and G3. Most of the self-etching samples (G1) revealed adhesive interfacial failure (Fig. 1D). The interaction between the groups and the failure modes indicated a non-statistically significant correlation ($p > 0.001$). The etch-and-rinse mode interfaces (G2, G3) often presented with intra-tubule tags as well (Fig. 2), particularly when the adhesive was applied in the etch-and-rinse mode without the rubbing technique (G2).

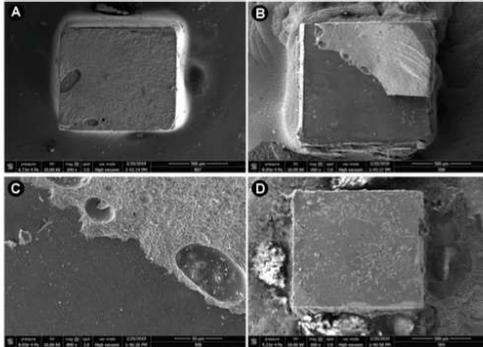


Fig. 1. A – scanning electron microscope (SEM) failure analysis of cohesive failure in the composite ($\times 100$ magnification); B – SEM photomicrograph of mixed interfacial failure between the adhesive and composite layers ($\times 100$ magnification); C – higher magnification of mixed failure showing the interface between the adhesive and composite layers ($\times 800$ magnification); D – representative SEM photomicrograph of adhesive failure ($\times 100$ magnification)

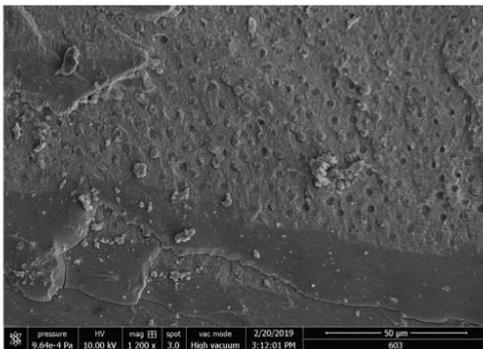


Fig. 2. Scanning electron microscope (SEM) image of the dentin–adhesive interface in bonded dentin using a universal adhesive in the etch-and-rinse mode without the rubbing technique (G2), showing the uniform and complete filling of dentinal tubules ($\times 1,200$ magnification)

Discussion

This study presents an investigation of the effects of etching with the rubbing technique on the resin–dentin interface. The tooth preparation processes bring important changes in the dentin thickness and density, leading to different resin bonding results.²² In an attempt to improve the quality of the resin–dentin interface, some studies suggest specific clinical procedures, such as applying multiple adhesive coats, prolonging the exposure time during light-curing, using warm air to evaporate the solvent, and rubbing the adhesive onto the tooth surfaces.²³ Concerning the etch-and-rinse protocol (G2), it would appear that it is necessary to etch the dentin surface for 3 s before the bonding of a universal adhesive. Similar results were obtained by Stape et al., who noted that the use

of phosphoric acid for 3 s improves immediate and long-term resin–dentin bonding without overexposing demineralized collagen.¹³

In our study, the rubbing technique was proposed during etching in order to improve bonding quality. Under the experimental conditions defined in this *in vitro* study, the rubbing action (G3) does not enhance μ TBS to dentin; on the contrary, this protocol statistically decreases μ TBS.

The SEM images from the present study show that etching by means of phosphoric acid with or without the rubbing technique for 3 s before bonding removes the smear plugs, better opens up tubules which occur in the presence of resin tags (Fig. 2) and provides the micromechanical interlocking of the adhesive resin. It is generally accepted that the primary critical factor in determining an adequate bond is the micromechanical interlocking of the adhesive resin in the demineralized tooth surface.²⁴ Bahillo et al., in their use of an acidic monomer (glycerol phosphate dimethacrylate – GPDM), noted that selective dentin etching with phosphoric acid did not significantly improve marginal adaptation, indicating a self-etching effect most probably due to the presence of GPDM in the composition of the OptiBondTM FL primer.²⁵ There is still a point of discussion concerning the etching time. Etching dentin for 3 s in the case of a complex cavity is very difficult to translate into clinical application, because it is too easy to exceed this time, especially with rubbing.

The statistical analyses in our study revealed that etching associated with the rubbing technique decreased μ TBS (Table 2). Phosphoric acid demineralized dentin and exposed the collagen matrix, containing hydroxyapatite.²⁶ Our hypothesis was that the rubbing action at the time of etching the dentin surface could crush and destroy collagen fibers and hydroxyapatite crystals. Hashimoto et al. noted that excessive acid-conditioning caused deeper demineralization of both intertubular and peritubular dentin, which in turn meant that the 2 kinds of dentin were not capable of being entirely infiltrated by resin monomers, leading to decreased bond strength.²⁷ Van Meerbeek et al. highlight the importance of keeping hydroxyapatite around collagen in order to better protect collagen against hydrolysis, and thus early degradation of the bond.²⁸ Therefore, functional monomers containing acidic groups cannot interact with hydroxyapatite. A functional monomer such as 10-methacryloxydecyl dihydrogen phosphate (10-MDP) can form stable calcium-phosphate complexes and self-assemble into the form of a regular layered structure at the apatite surface.^{29–31} Preserving calcium at the bonded interface, in theory, could favor this peculiar chemical bonding process. Wang and Spencer noted that agitating acid gel facilitated etching and penetration into dentin, but it is not recommended, especially for longer etching times.³²

The μ TBS test is considered the most reliable technique for assessing the real strength of the interfacial bond between an adhesive material and a tooth.³¹ One of the many

advantages of this test is that it can reveal the adhesive failure type and result in fewer cohesive and mixed failures.³³ Cohesive and mixed failures were observed more often when the μ TBS values increased, which might be explained by the good mechanical properties of a bond, associated with the particular bonding technique used. In contrast, cohesive failures in the composite may have been caused by errors made during the build-up of the composite layers. The results in Table 2 present the incidence of each failure mode induced by particular etching techniques. The present study noted a higher tendency toward cohesive or mixed failure associated with higher μ TBS values, but these results are not significantly different (the χ^2 test; $p > 0.001$). In G1, bonding was weaker than in the specimens prepared with the etch-and-rinse mode, the most common failure type was adhesive fracture and minimal resin penetration occurred. Takamizawa et al. noted that using the etch-and-rinse mode for universal adhesives did not decrease dentin bond quality.³⁴

The present in vitro study has some limitations. It did not address the effect of the rubbing action on dentin sensitivity, which should be followed with clinical studies. The relatively short period of water storage (24 h) was another limitation. Furthermore, dentin bonding by means of the etch-and-rinse method has been claimed to be technique-sensitive.³²

Conclusions

Etching with 37% phosphoric acid for 3 s without the rubbing technique is recommended before applying a universal adhesive on the dentin surface in order to improve bond strength.

ORCID iDs

Naji Kharouf  <https://orcid.org/0000-0001-6768-138X>
 Gautier Rapp  <https://orcid.org/0000-0002-0800-7827>
 Davide Mancino  <https://orcid.org/0000-0001-7376-371X>
 Joseph Hemmerlé  <https://orcid.org/0000-0001-8483-857X>
 Youssef Haikel  <https://orcid.org/0000-0002-4469-0360>
 Francois Reitzer  <https://orcid.org/0000-0002-7878-7136>

References

- Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: Structure, composition and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011;3:711–735.
- Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: A review. *Dent Mater*. 1995;11(2):117–125.
- Brännström M, Glantz PO, Nordenvall KJ. The effect of some cleaning solutions on the morphology of dentin prepared in different ways: An in-vivo study. *ASDC J Dent Child*. 1979;46(4):291–295.
- Ikeda T, De Munck J, Shirai K, et al. Effect of air-drying and solvent evaporation on the strength of HEMA-rich versus HEMA-free one-step adhesives. *Dent Mater*. 2008;24(10):1316–1323.
- Grégoire G, Ahmed Y. Evaluation of the enamel etching capacity of six contemporary self-etching adhesives. *J Dent*. 2007;35(5):388–397.
- Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater*. 2011;27(1):17–28.
- Pashley DH, Tay FR, Breschi L, et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater*. 2011;27(1):1–16.
- Li B, Zhu X, Ma L, et al. Selective demineralisation of dentine extrafibrillar minerals – a potential method to eliminate water-wet bonding in the etch-and-rinse technique. *J Dent*. 2016;52:55–62.
- Bertassoni LE, Orgel JPR, Antipova O, Swain MV. The dentin organic matrix – limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale. *Acta Biomater*. 2012;8(7):2419–2433.
- Chen C, Niu LN, Xie H, et al. Bonding of universal adhesives to dentine – Old wine in new bottles? *J Dent*. 2015;43(5):525–536.
- Koshiro K, Inoue S, Tanaka T, et al. In vivo degradation of resin–dentin bonds produced by a self-etch vs. a total-etch adhesive system. *Eur J Oral Sci*. 2004;112(4):368–375.
- Abu-Hanna A, Gordan VV, Mjor I. The effect of variation in etching times on dentin bonding. *Gen Dent*. 2004;52(1):28–33.
- Stape THS, Wik P, Mutluay MM, Al-Ani AAS, Tezvergil-Mutluay A. Selective dentin etching: A potential method to improve bonding effectiveness of universal adhesives. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2018;86:14–22.
- Tezvergil-Mutluay A, Mutluay M, Seseogullari-Dirihan R, et al. Effect of phosphoric acid on the degradation of human dentin matrix. *J Dent Res*. 2013;92(1):87–91.
- Hanabusa M, Mine A, Kuboki T, et al. Bonding effectiveness of a new ‘multi-mode’ adhesive to enamel and dentine. *J Dent*. 2012;40(6):475–484.
- Zecin-Deren A, Sokolowski J, Szczesio-Wlodarczyk A, Piwonski I, Lukomska-Szymanska M, Lapinska B. Multi-layer application of self-etch and universal adhesives and the effect on dentin bond strength. *Molecules*. 2019;24(2).pii:E345.
- Yeşilyurt C, Bulucu B. Bond strength of total-etch and self-etch dentin adhesive systems on peripheral and central dentinal tissue: A microtensile bond strength test. *J Contemp Dent Pract*. 2006;7(2):26–36.
- Ozer F, Unlü N, Sengun A. Influence of dentinal regions on bond strengths of different adhesive systems. *J Oral Rehabil*. 2003;30(6):659–663.
- Jang JH, Lee MG, Woo SU, Lee CO, Yi JK, Kim DS. Comparative study of the dentin bond strength of a new universal adhesive. *Dent Mater J*. 2016;35(4):606–612.
- Wagner A, Wendler M, Petschelt A, Belli R, Lohbauer U. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *J Dent*. 2014;42(7):800–807.
- Scherrer SS, Cesar PF, Swain MV. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: A critical literature review. *Dent Mater*. 2010;26(2):e78–e93.
- Sattabanasuk V, Vachiramon V, Qian F, Armstrong SR. Resin–dentin bond strength as related to different surface preparation methods. *J Dent*. 2007;35(6):467–475.
- Reis A, Carrilho M, Breschi L, Loguercio AD. Overview of clinical alternatives to minimize the degradation of the resin–dentin bonds. *Oper Dent*. 2013;38(4):E1–E25.
- Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. In vitro degradation of resin–dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials*. 2003;24(21):3795–3803.
- Bahillo J, Roig M, Bortolotto T, Krejci I. Self-etching aspects of a three-step etch-and-rinse adhesive. *Clin Oral Investig*. 2013;17(8):1893–1900.
- Perdigao J, Swift EJ. Analysis of dental adhesive systems using scanning electron microscopy. *Int Dent J*. 1994;44(4):349–359.
- Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, et al. Over-etching effects on micro-tensile bond strength and failure patterns for two dentin bonding systems. *J Dent*. 2002;30(2–3):99–105.
- Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: Current status and future challenges. *Oper Dent*. 2003;28(3):215–235.
- Van Landuyt KL, Yoshida Y, Hirata I, et al. Influence of the chemical structure of functional monomers on their adhesive performance. *J Dent Res*. 2008;87(8):757–761.
- Yoshihara K, Yoshida Y, Nagaoka N, et al. Nano-controlled molecular interaction at adhesive interfaces for hard tissue reconstruction. *Acta Biomater*. 2010;6(9):3573–3582.

