

MEC3900 - Projet intégrateur III

Caractérisation mécanique de l'os naturel

Par :

LAGUERRE Johnny.....1389767

Présenté à:

Dr. Fouad Zhim

École Polytechnique de Montréal



ÉTÉ 2011

SOMMAIRE

Certaines maladies, dont l'ostéoporose, se traduisent par une augmentation de la fragilité osseuse. Il est donc important de disposer de techniques fiables et non invasives de caractérisation mécanique de l'os, de manière à adapter les thérapeutiques médicamenteuses ou chirurgicales. Pour avoir les caractéristiques mécaniques d'une tranche d'os de bœuf, on a effectué un test de nano-indentation sur un échantillon préparé par la méthode de la coupe histologique. En utilisant une plate forme constituée des machines du système EXAKT, on a appliqué la technique « Cutting/grinding » pour réaliser cette coupe histologique. Et pour effectuer le test de nano-indentation, une pointe de Berkovich a été utilisée. Dans une région de 300 X 300 μm qui englobe un ostéon et son voisinage a été choisie pour positionner les indentations. En utilisant une force de 500 μN , on a lancé un test de 30 X 30 X 10 μm , c'est à dire 100 indentations espacées de 30 μm .

Comme résultats, on a obtenu un module et une dureté qui varient respectivement de 5 à 40 GPa et de 0.1 à 1.1 GPa. Ces résultats ont été un peu corrompus à cause des glissements de la pointe due à un fini inadéquat de la surface. En effet, pour un test de nano-indentation, il est recommandé d'utiliser de la poudre abrasive pour polir adéquatement la surface.

Table des matières

MEC3900 - Projet intégrateur III	1
I. INTRODUCTION	5
II. MÉTHODOLOGIE ADOPTÉE.....	7
A. Présentation des machines constituant la plate-forme	8
B. Description de la méthode “cutting/grinding”	10
1. La fixation	10
2. Le rinçage.....	10
3. La déshydratation et l’infiltration.....	11
4. L’enrobage.....	11
5. Le découpage.....	11
6. Le Broyage	12
7. Le test de nano-indentation	12
III. PREPARATIONS HISTOLOGIQUES RÉALISÉES ET RÉSULTATS OBTENUS	13
A. Expérimentation réalisée	13
B. Résultats obtenus.....	16
IV. DISCUSSION	24
V. ANALYSE DE LA GESTION DU TEMPS DE PROJET.....	25
VI. CONCLUSIONS	26
VII. RÉFÉRENCES	27
VIII. ANNEXES.....	29
EXAKT 520 – Unité de polymérisation par la lumière.....	29
• Résine d’enrobage EXAKT Technovit 7200 VLC.....	29
• La colle EXAKT Technovit 7230 VLC	30
• La colle EXAKT Technovit 7210 VLC	30
• La colle EXAKT Technovit 4000	30
• Les lamelle en plastique EXAKT.....	30
• Les moules d’enrobage.....	30

I. INTRODUCTION

Un certain nombre de maladies, dont l'ostéoporose, se traduisent par une augmentation de la fragilité osseuse. Il est donc important de disposer de techniques fiables et non invasives de caractérisation mécanique de l'os, de manière à adapter les thérapies médicamenteuses ou chirurgicales. Dans le but d'approfondir cette problématique, mon projet intégrateur se porte sur les analyses des caractérisations mécaniques de l'os naturel.

L'objectif du projet est la préparation d'échantillons cadavériques par des coupes histologiques afin de mesurer et d'analyser les propriétés mécaniques à l'ordre micro et nano. Pour ce faire, il a fallu concevoir une plate-forme à l'aide des machines du système EXAKT et une machine de nano-indentation, permettant la modélisation expérimentale. À l'aide des machines du système EXAKT; dont on a appris le fonctionnement; la technique « Cutting/grinding » (Découpage/broyage) a été utilisée pour effectuer les coupes histologiques. Une fois terminée, le modèle a été introduit dans la machine de nano-indentation pour les tests mécaniques. Notre projet fait ainsi le lien entre la biomécanique et l'histologie. Cette dernière est la branche de la biologie et de la médecine qui s'occupe des tissus biologiques. Elle a pour but d'explorer la structure des organismes vivants, les rapports constitutifs et fonctionnels entre leurs éléments fonctionnels ainsi que le renouvellement des tissus.

Nombreuses sont les recherches médicales qui s'appuient sur l'analyse de la structure et l'évolution des tissus humains, animaux et végétaux. Par exemple, l'ostéoartrite est une maladie causant la détérioration du cartilage, entraînant des lésions aux articulations, de la douleur et de la raideur. Elle affecte 10 % de la population au Canada. L'une des solutions à cette maladie est la greffe du ménisque et l'étude de la rapide dégénérescence du cartilage. Les changements ne peuvent être observés que par des préparations histologiques de joints de cartilage.

Pour réaliser ce projet, il a fallu apprendre à manipuler les machines de la plate-forme EXAKT afin de pouvoir concevoir un modèle qui servirait à effectuer des tests mécaniques à l'aide du nano-indentation. Ensuite, il a fallu analyser et interpréter les résultats obtenus.

Dans un premier temps, la méthodologie adoptée sera présentée; puis la préparation histologique réalisée pour concevoir le modèle. La troisième section est la présentation et l'analyse des résultats obtenues; la quatrième section fait un retour critique sur les résultats obtenus et sur la méthodologie adoptée en exposant ses forces et ses limites; la cinquième et dernière section analyse la gestion du temps du projet. Suite à la conclusion, nous ferons des suggestions de travaux futures qui nécessiteront une étude histologique.

II. MÉTHODOLOGIE ADOPTÉE

Comme on l'avait mentionné plus haut, pour mesurer et analyser les propriétés mécaniques de l'os, il a fallu effectuer des coupes histologiques de l'os. Pour réaliser ces coupes histologiques, une plate-forme, équipée d'appareils du system EXAKT, a été utilisée. En guise de formation, la documentation des appareils de la plate-forme nous a été remise. Dans cette documentation on trouvait :

- OPERATING MANUAL, EXAKT 300 CP & 310 CP PRECISION PARALLEL CONTROL,
- OPERATING MANUAL EXAKT 400 CS MICRO GRINDING SYSTEM
- OPERATING INSTRUCTION, EXAKT LIGHT POLYMERIZATION UNIT,
- OPERATION INSTRUCTIONS EXAKT – CUTTING GRINDING SYSTEM
- OPERATING MANUAL EXACT AW 110, MEASURING & CONTROL SYSTEM
- CUTTING /GRINDING TRAINING MANUAL (Donath Technique),

Ces documents n'étaient pas suffisants pour l'apprentissage des machines de la plate-forme. Donc, nous avons dû faire des recherches sur le web concernant l'histologie et les résultats nous ont permis de comprendre l'utilité de la plate-forme EXAKT pour l'histologie. On a aussi trouvé un peu d'aide auprès de Mme Annick Chevrier. Après plusieurs heures d'apprentissage, on est parvenu à manipuler la plate-forme.

Une fois la plate-forme maîtrisée, on avait qu'à appliquer la technique "cutting/grinding" pour réaliser le modèle. Mais avant de décrire la technique "cutting/grinding", il convient de présenter les machines et les consommables constituant la plate-forme.

A. Présentation des machines constituant la plate-forme

- ✓ L'EXAKT 300 CP (Cutting system), un appareil de découpage.



Cet appareil est utilisé pour trancher les échantillons bruts, et il sert aussi à découper des sections fines d'un block.

- ✓ L'EXAKT 400 CS (Grinding system), une machine de broyage.



Cet appareil utilise des papiers sablés et des pellicules pour préparer la surface désirée, avec une précision de \square 1.5 microns. Et il possède un système de control AW110 permettant à l'utilisateur d'entrer la mesure de la couche qu'il veut enlever. Et une fois la couche voulue a été enlevée, la machine s'arrête

toute seule.

- ✓ L'EXAKT 520 (Light Polymerization Unit), une unité de polymérisation par la lumière.



Elle sert à enrober l'échantillon dans du plastique (technovit 7200) en le polymérisant. Ce qui a un effet thermal minimal sur l'échantillon, qui subit une polymérisation stable avec un fort degré de durcissement

avec une formation minimale de bulles et de fractures et une possibilité de refroidissement de l'eau.

- ✓ L'EXAKT 401(Vacuum Adhesive Press), une presse de collage avec vacuum.

Elle sert à coller l'échantillon sur une lamelle à l'aide de la gamme de technovit 4000.



- ✓ EXAKT 402 (Precision Adhesive Press), une presse de collage de précision.

Cette unité permet un collage précis de l'échantillon sur la lamelle. Pour l'optimisation du processus de découpage et de polissage, on utilise un adhésif clair (Technovit 7210) qui permet un recouvrement uniforme et ne durcit que suite à l'application de la lumière bleue. Le fonctionnement de la machine est très précis. L'unité permet au développeur d'appliquer des couches de colle infiniment minces.



- ✓ Hysitron TI 900 TriboIndenter, un système de test automatique de nano-mécanique.



Cet appareil est idéal pour mesurer la dureté et le module d'élasticité des échantillons. Il offre la capacité de réaliser des tests nano-mécanique quantitative dans un confort d'automatisation.

B. Description de la méthode "cutting/grinding"

Pour obtenir des coupes histologiques, des étapes doivent être effectuées avec soin pour pouvoir obtenir des analyses correctes : la fixation, le rinçage, la déshydratation et l'enrobage puis la découpe.

1. La fixation

Une fois extraites du corps, les cellules d'un morceau de tissu dégénèrent. Il est important d'immerger ce morceau de tissu dans un produit chimique, dénommé fixateur pour que les composantes et la structure du tissu soient préservées. Le fixateur empêche la détérioration des cellules en tuant les microorganismes qui polluent le tissu et arrête ainsi la dégénérescence cellulaire. La durée de l'immersion est d'environ 4h. Comme fixateur, on peut citer le formol et le glutaraldéhyde.

2. Le rinçage

Pour effectuer le découpage du tissu sans le détériorer, il faut combler tous les orifices en l'enrobant avec du Technovit 7200 VLC polymérisé. Ce dernier n'est pas miscible au

fixateur. Pour enlever toute trace de fixatif suite à la fixation, le morceau de tissu doit donc être rincé à l'eau.

3. La déshydratation et l'infiltration

a) La déshydratation

Pour une étude au microscope du tissu, il faut le découper en lamelles fines de l'ordre du micromètre (μm). Et pour cela, on doit le rigidifier en l'enrobant avec du Technovit 7200 VLC polymérisé; car il est impossible de découper ce tissu à l'état naturel ou suite à sa fixation. Pour cet enrobage, le tissu ne peut contenir aucune trace d'eau ou de fixateur. En effet, il faut donc déshydrater le tissu avant de l'enrober, car la paraffine n'est miscible ni à l'eau, ni au fixateur. Cette déshydratation consiste à plonger le tissu dans une série de bains d'alcool, de plus en plus concentrés; et aussi de l'acétone si le tissu comporte du lipide. La déshydratation ne consiste pas à sécher l'échantillon. Elle consiste plutôt à remplacer l'eau ou le fixateur par un autre liquide qui se mélangera facilement avec le Technovit 7200 VLC. Ce qui permettra de boucher tous les orifices du tissu et de son contenant d'immersion.

b) L'infiltration

Mais, il faut aussi enlever toute trace d'alcool du tissu en le plongeant dans des bains Alcool/Technovit 7200 VLC. Et pour terminer l'infiltration, il faut immerger le tissu dans du Technovit 7200 VLC.

4. L'enrobage

Une fois le processus de déshydratation et d'infiltration terminé, on polymérise l'échantillon avec de la lumière dans l'unité de polymérisation. Et après 8h à 12h de polymérisation, le tout se solidifie et on obtient un bloc solide comportant le tissu à analyser, prêt pour le découpage en tranches fines.

5. Le découpage

Après avoir collé le bloc sur une lamelle, on le découpe en utilisant l'appareil de découpage. Cet appareil de découpage muni d'un couteau permet de découper le bloc en tranche fine.

6. Le Broyage

Après le découpage, l'échantillon est broyé à l'aide d'un appareil de broyage en utilisant des feuilles de papier abrasif K800 pour enlever de grandes épaisseurs (de l'ordre de 150 μm) et des feuilles papier abrasif K1200 et K2000 pour les petites épaisseurs (de l'ordre de 40 μm). Ce qui nous donnerons des échantillons minces de l'ordre de 100 μm pour les échantillons larges (2 cm de largeur), et des échantillons plus fins de l'ordre de 30 μm pour les échantillons de 0.5 cm épaisseur de largeur.

7. Le test de nano-indentation

Étant donné que le test de nano-indentation nécessite un bon fini de surface, il faut effectuer un polissage de l'échantillon avec du papier abrasif K4000 et de la poudre. Et une fois que la surface est adéquate, on peut procéder au test de nano-indentation afin d'obtenir les propriétés mécanique de l'échantillon.

III. PREPARATIONS HISTOLOGIQUES RÉALISÉES ET RÉSULTATS OBTENUS

Pour ce projet, il a fallu préparer un échantillon d'os. Après avoir consacré du temps à l'apprentissage des machines du système EXAKT, nous étions finalement en mesure de réaliser une coupe histologique. Pour pouvoir répondre aux fins du projet qui étaient d'analyser les propriétés mécaniques de l'os, un morceau d'os de bœuf a été acheté dans un abattoir. Un os long excisé du tibia fut choisi pour les besoins de l'étude. La procédure suivie pour réaliser la coupe histologique sera présentée ; et ensuite les résultats obtenus du test de nano-indentation seront exposés et analysés.

A. Expérimentation réalisée

Pour réaliser la coupe histologique, les étapes précises de la technique "cutting/grinding" ont été suivies soient la préparation du tissu, la préparation du bloc, la préparation de la lamelle finale, préparation du bloc de sandwich, le découpage des tranches fines et finalement le broyage des tranches fines.

- *Préparation du tissu*
 - Couper transversalement une mince couche d'os parallèle de 2 mm d'épaisseur avec l'EXAKT 300 CP.
 - Procéder au processus approprié de déshydratation qui consiste à plonger l'échantillon dans de l'alcool 70% pendant une journée; puis dans de l'alcool 80% pendant une journée; et dans de l'alcool 95% pendant encore une journée; dans de l'alcool 100% pendant deux jours en changeant l'alcool après la première journée. Et puisque les échantillons utilisés contenaient du lipide, il fallait les immerger dans de l'acétone 100% pendant 16 heures en faisant un changement après 8 heures. Et finalement il fallait encore les immerger dans de l'alcool 100% pendant 16 heures avec un changement après 8 heures afin d'enlever toute trace de l'acétone.

- Procéder au processus approprié d'infiltration qui consiste à plonger l'échantillon dans un composé de 30% de Technovit / de 70% d'alcool pendant une journée. Puis, on augmente la dose de Technovit, 50% Technovit / 50% alcool pendant une journée et 70% Technovit / 30% alcool pendant une journée. Et finalement, il faut plonger l'échantillon dans du Technovit 100% pendant 2 à 3 jours en faisant un changement à la mi-temps.
 - Mettre un petit peu d'adhésive Technovit 7230 au fond de la moule d'enrobage.
 - Presser l'échantillon dans le Technovit et le laisser pendant 10 à 15 minutes afin de l'empêcher de flotter.
 - Mettre assez de Technovit 7200 dans le moule jusqu'à couvrir l'échantillon car le volume diminuera pendant la polymérisation.
 - Mettre la moule remplie dans l'unité de polymérisation l'EXAKT 520.
 - Couvrir la moule avec le couvercle en plastique transparent pour réduire l'échange d'oxygène.
 - Enrober l'échantillon en régler l'unité de polymérisation à 12 heures, 4 heures de lumière jaune et 8 heures de lumière verte.
 - Après les 12 heures de polymérisation, enlever l'échantillon enrobé du moule.
- *Préparation du bloc*
 - Érailler une place au centre des lamelles en utilisant du papier abrasif K800 ou K1000.
 - Ôter tout le surplus de résine non polymérisée ou collant.
 - Mélanger l'adhésive Technovit 4000 et l'étendre sur la lamelle.
 - Placer le block au centre de la lamelle et déposer le sur la presse de collage avec vacuum.
 - Déposer doucement le haut de la presse sur l'échantillon sans la presser.
 - Laisser le Technovit 4000 durcir pendant 5 minutes environ.
 - Broyer la surface du block jusqu'à trouver la région qui contient du tissu.
 - Mesurer l'épaisseur du block : Mesure A= 6 mm
 - *Préparation de la lamelle finale*

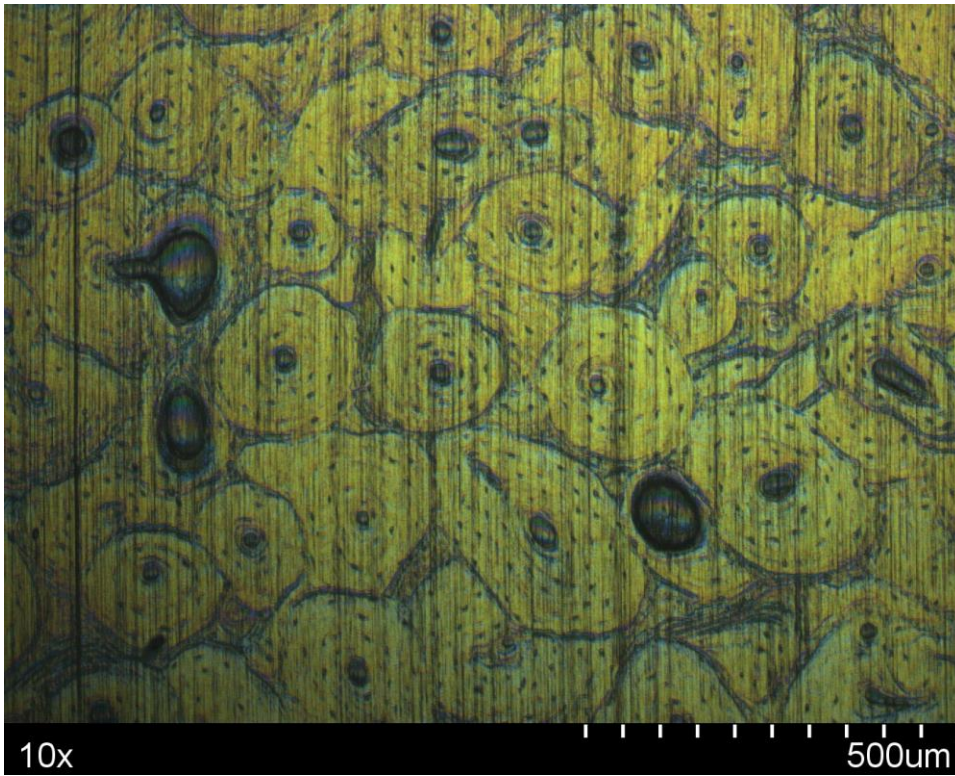
- Enlever les papiers qui recouvrent la lamelle.
 - Broyer les bords de la lamelle brièvement en utilisant du papier abrasif K1000.
 - Marquer un des coins pour référence.
 - Utiliser du papier abrasif K1000 pour érailler la lamelle d'environ 3 microns.
 - Mesurer la lamelle et enregistrer la mesure : Mesure B=1,1 mm
- *Préparation du bloc sandwich*
 - Placer la lamelle finale dans la presse de collage de précision et mettre en marche le vacuum.
 - Préparer la surface du block, appliquer un peu de Technovit 7210 sur la surface du block.
 - Mettre le block dans la presse de collage de précision, et abaisser doucement le poids ce qui devrait approcher le block de la lamelle.
 - Une fois que le block et la lamelle soient en contact, il faut vérifier s'il n'y a pas de bullage d'air dans la couche d'adhésive.
 - Allumer la lumière pour polymériser pendant 15 minutes.
 - Enlever le sandwich de la presse de collage et mesurer et enregistrer la mesure : Mesure C = 7,15 mm.
 - Soustraire l'épaisseur du block et de la lamelle de soutien et l'épaisseur de la lamelle finale de l'épaisseur de sandwich pour déterminer l'épaisseur de la colle (Mesure D = Mesure C – (Mesure A + Mesure B) = 7,15 mm – (6 mm + 1,1 mm) = 50 microns).
- *Découpage des tranches fines*
 - Apposer la lamelle de soutien sur la plaque de vacuum appropriée de la machine de découpage l'EXAKT 300 CP.
 - Déplacer la selle de mouvement parallèle latéralement jusqu'à ce que le ruban de coupage soit proche du côté intérieure de la lamelle finale.
 - Avancer l'échantillon en utilisant le micromètre pour couper l'épaisseur désirée.
 - Mettre la bande de coupage et la pompe à eau en marche.
 - Relâcher gentiment l'échantillon contre la bande et ajuste la vitesse désirée.

- Éteindre la machine une fois la coupe complétée et enlever l'échantillon avec la coupe fine de la corbeille.
- Mesurer l'échantillon (Mesure E = 2,154 mm) et calculer la mesure de la coupe fine (Mesure F = Mesure E – (Mesure B + Mesure D) = 1,554 mm – (1,1 mm + 0,05 mm) = 404 µm).
- *Broyage de la coupe fine*
 - Si la surface de l'échantillon est relativement lisse et constante, apposer le sur la tête de vacuum de la machine de broyage l'EXAKT 400 CS.
 - Broyer en sélectionnant l'épaisseur à enlever de la mesure F.
 - Utiliser des feuilles de papier abrasif K800 pour enlever 154 µm.
 - Utiliser des feuilles de papier abrasif K1000 pour enlever 55 µm.
 - Utiliser des feuilles de papier abrasif K1200 pour enlever 30 µm.
 - Utiliser des feuilles de papier abrasif K4000 pour polir l'échantillon en enlevant 15 µm.

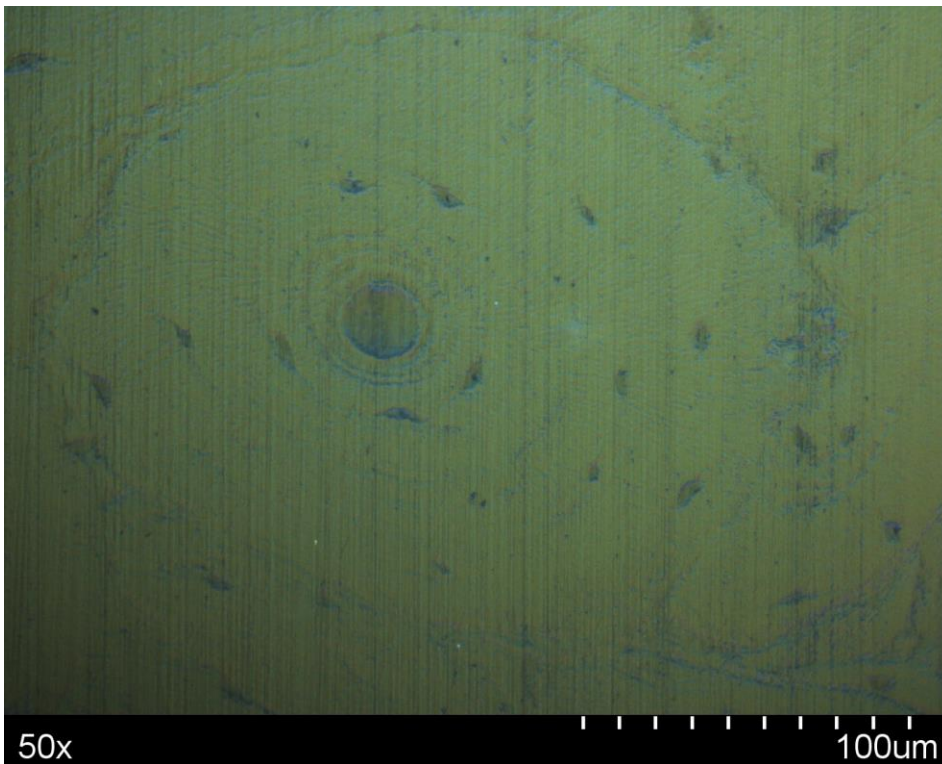
B. Résultats obtenus

Un échantillon mince de l'ordre de 150 µm a été obtenu. Il a également été préparé un échantillon de 500 µm pour le test de nano-indentation. Voici les images captées au microscope.

Cette image 10 X 500 µm qui nous permet de voir les ostéons et la résine d'enrobage le technovit 7200 VLC, qui grâce au processus d'infiltration, a rempli les trous de l'échantillon.



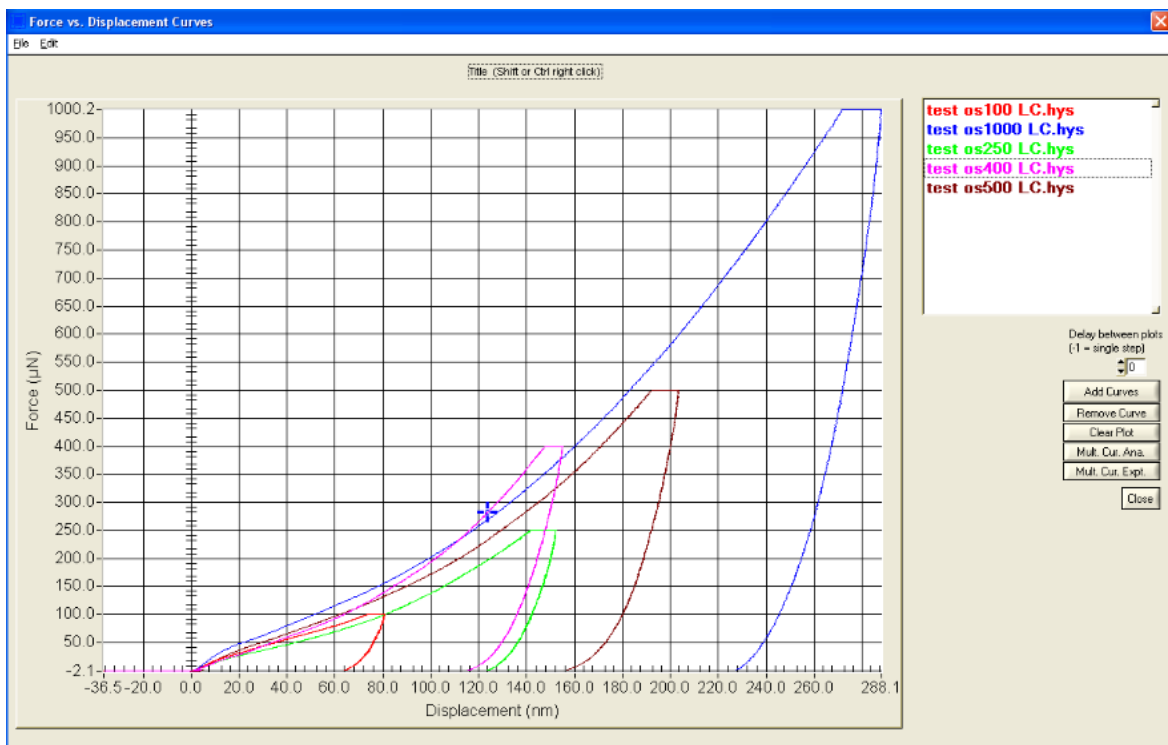
La deuxième est une image 50 X 500 μm qui permet de voir clairement un ostéon avec les trous remplis de technovit.



Vu que les échantillons étaient prêts, le test de nano-indentation a pu être réalisé. Celui-ci consiste à :

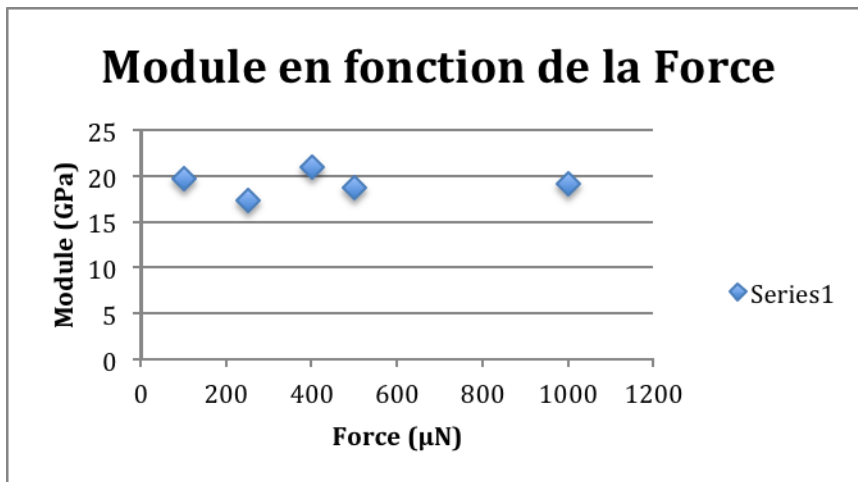
- Installer une pointe pyramidale à base triangulaire (Pointe de Berkovich) dans la machine de nano-indentation le Hysitron TI 900 TriboIndenter.
- Préparer l'échantillon en collant la lamelle sur une plaque en acier.
- Calibrer le point focal et le bout de la pointe ce qui permettra à la pointe d'aller indenter à l'endroit choisi à l'aide du point focal.
- Placer l'échantillon sur la tablette magnétisée.
- Allumer la lumière de l'appareil et choisir un endroit à indenter à l'aide du point focal.
- Approcher la pointe de l'échantillon à un endroit autre que celui choisi pour indenter afin de ne pas l'abimer en cas d'imprévu.
- Faire plusieurs indentations avec des forces différentes afin de choisir la force optimale.

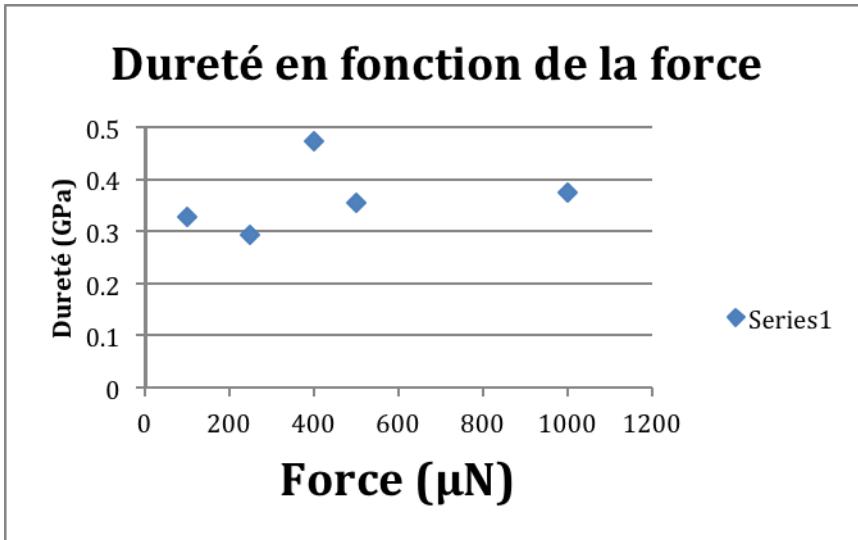
Voici les résultats obtenus :



C'est le graphe de la Force en fonction du déplacement. Pour avoir ces courbes, une charge a été appliquée à l'aide de la pointe pendant un certain temps. Cette charge a été maintenue puis enlevée. Et le déplacement, c'est à dire la pénétration de la pointe dans l'échantillon, a été enregistré. Ce qui nous a permis d'avoir le module et la dureté.

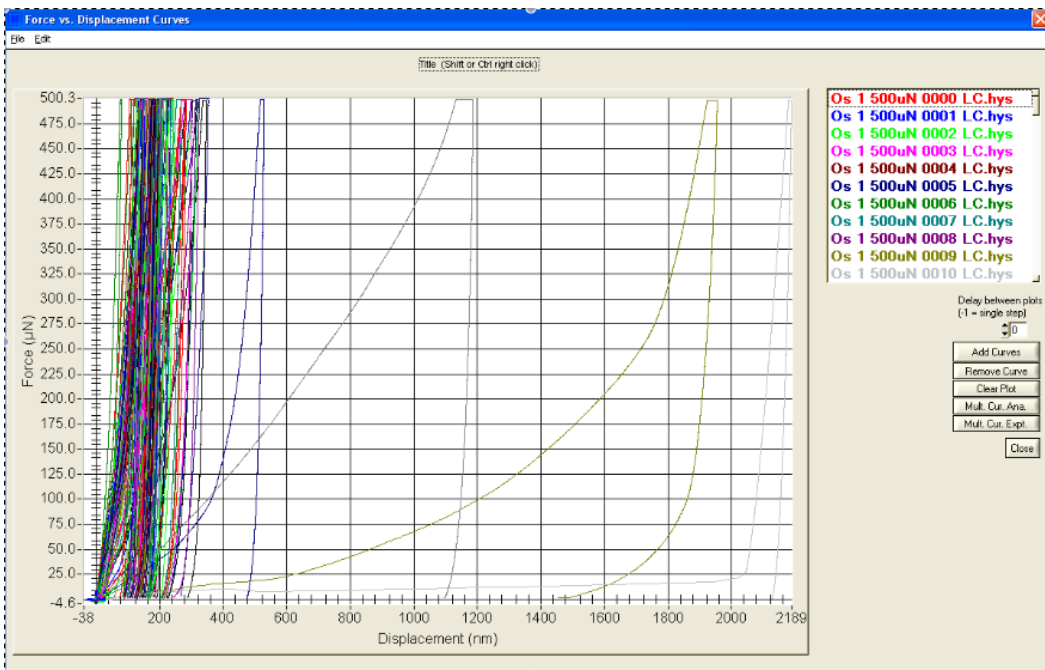
Force F (μN)	Module E (GPa)	Dureté H (GPa)	H/E
1000	19.1	0.374	51.1
500	18.7	0.355	52.6
400	20.9	0.474	44.1
250	19.7	0.327	60.24
100	17.3	0.293	59.04
Moyenne =	19.14	0.3646	



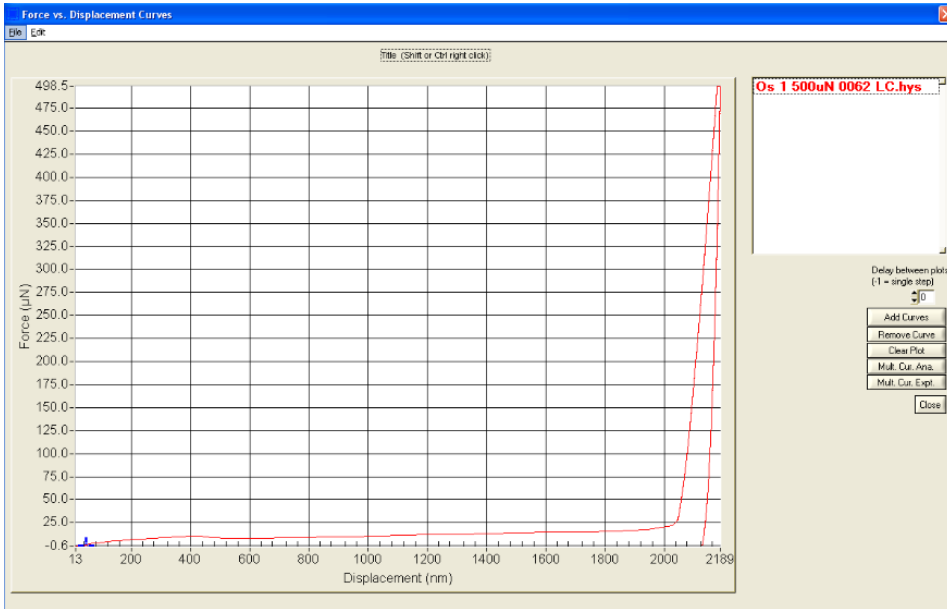


Comme vous pouvez le constater, le module et la dureté restent respectivement aux alentours de 19 GPa et 0.36 GPa. Et en appliquant une force de 500 μN , on peut voir qu'on a un module de 18.7 GPa et une dureté de 0.355 GPa. Donc, la force de 500 μN est retenue pour le test final.

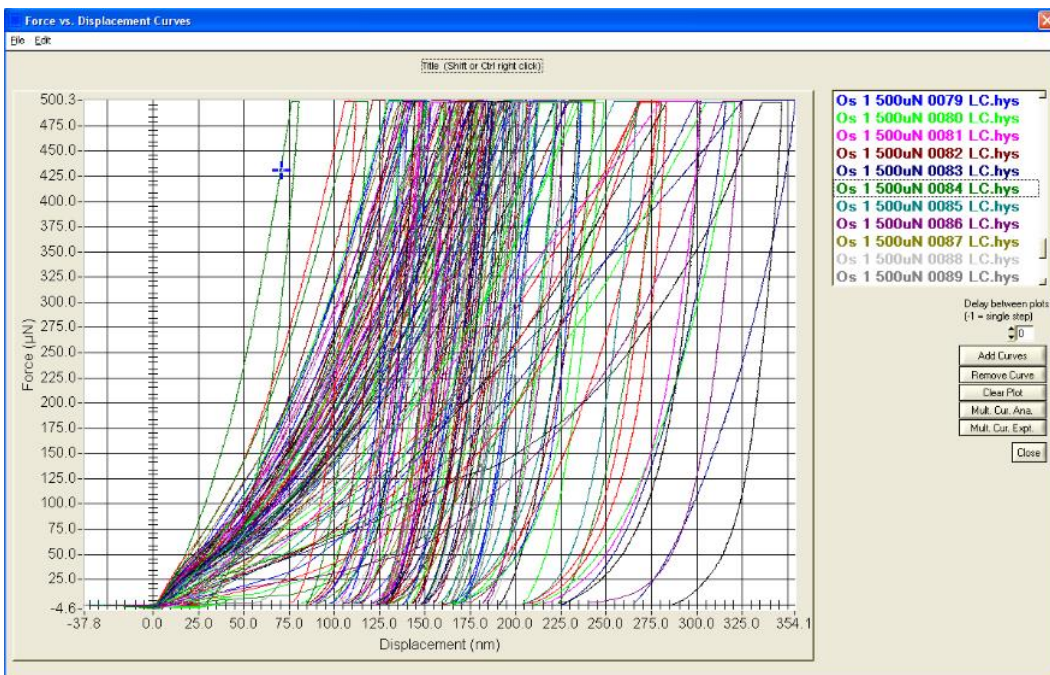
Pour effectuer le test final, on a choisi une région de 300 X 300 μm qui englobe un ostéon et son voisinage. En utilisant une force de 500 μN , on a lancé un test de 30 X 30 X 10 μm , c'est à dire 100 indentations espacées de 30 μm . Et voici les résultats obtenus :



Comme on peut le constater, toutes les courbes se regroupent mais il y a quelques-unes qui s'éloignent des autres. Ceci est dû à un glissement de la pointe. Il faut enlever ces courbes du graphe de la force en fonction du déplacement. Les courbes à enlever sont celles qui montrent les signes de glissement de la pointe comme celle là :

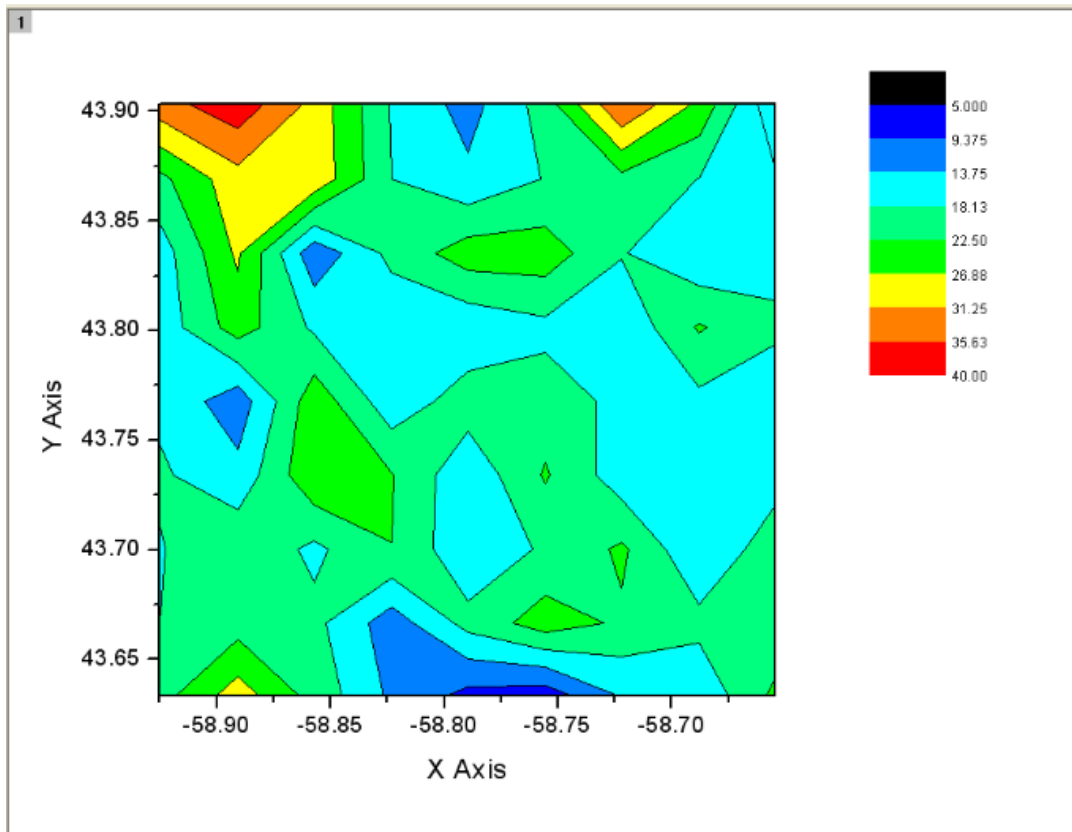


Et après avoir enlevé toutes les courbes indésirables, le graphe ci-dessous a été obtenu et les valeurs se retrouvent dans l'annexe 1.

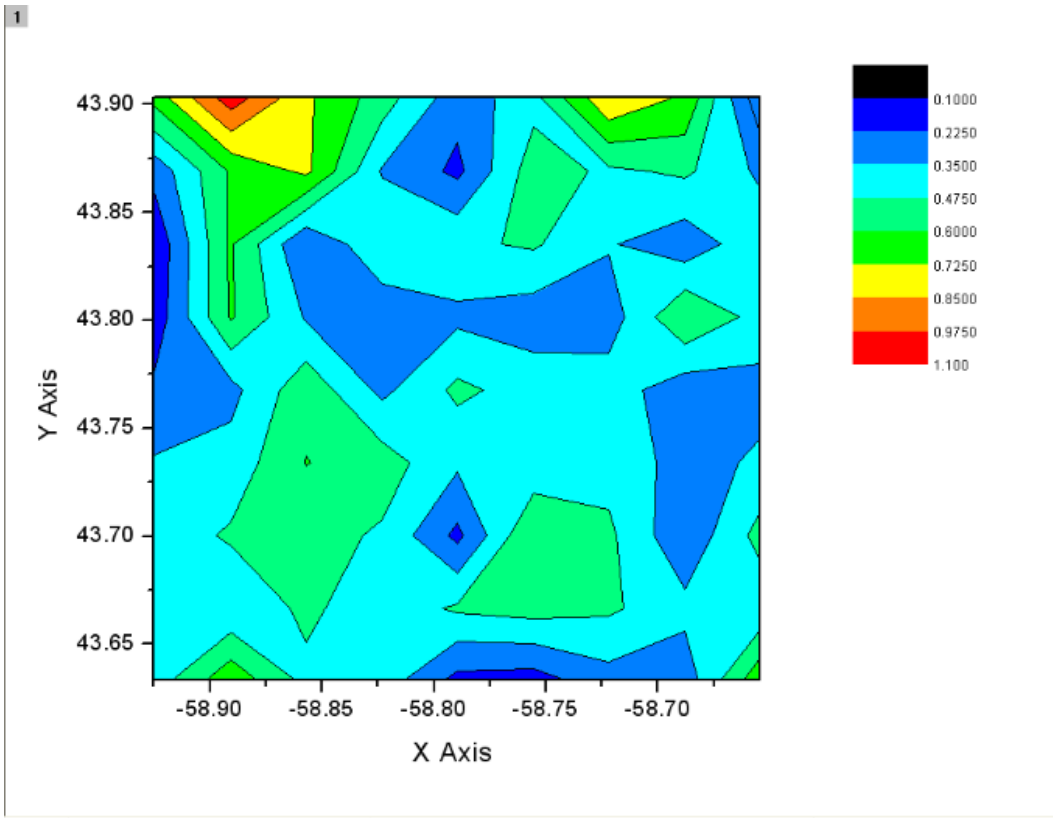


Voici les graphes des résultats :

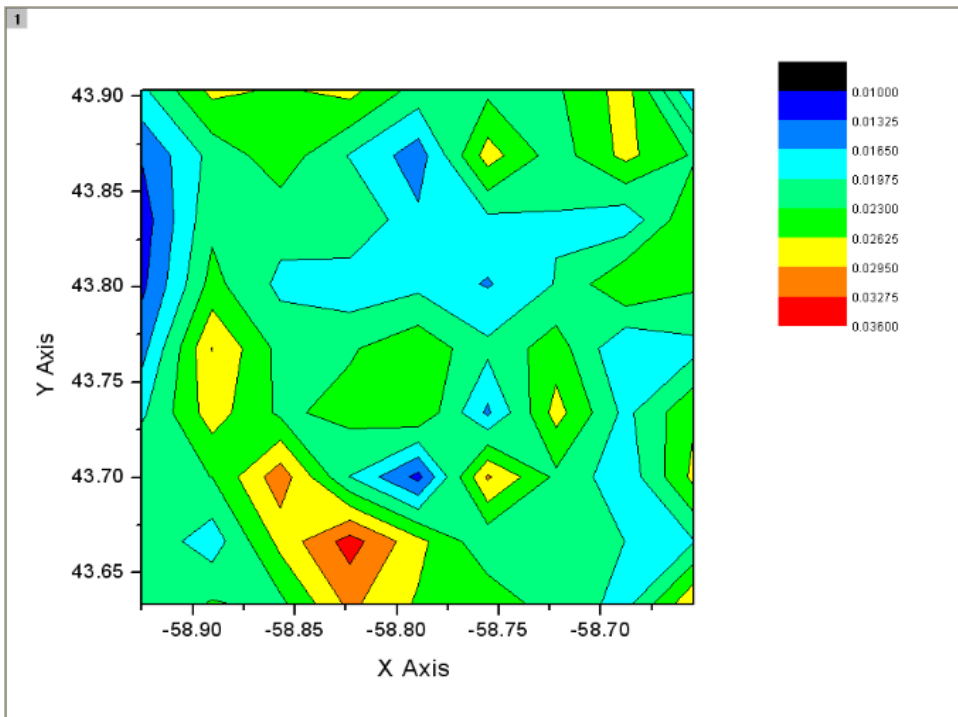
Le premier graphe est celui du Module (en Z) en fonction de la position de l'indentation en X et en Y. On a une vue de dessus, et sur le coté on a les valeurs du module qui représentent les couleurs dans le graphe. On constate que le module varie de 5 à 40 GPa, mais dans la plupart des zones, le module est aux alentours de 19 et 20 GPa. Ce qui rejoint plus ou moins les résultats du test préliminaire.



Le deuxième graphe représente la dureté (en Z) en fonction de la position de l'indentation en X et en Y. À l'instar du graphe du module, on remarque que la valeur de H dans la plupart des zones est d'environ 0.35 GPa. Ce qui se rapproche des valeurs trouvées pour le test préliminaire.



Et finalement, on a le graphe H/E (en Z) en fonction de la position de l'indentation en X et en Y.

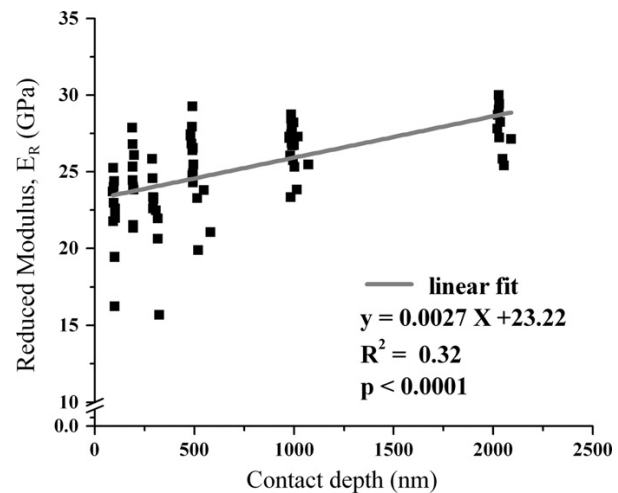
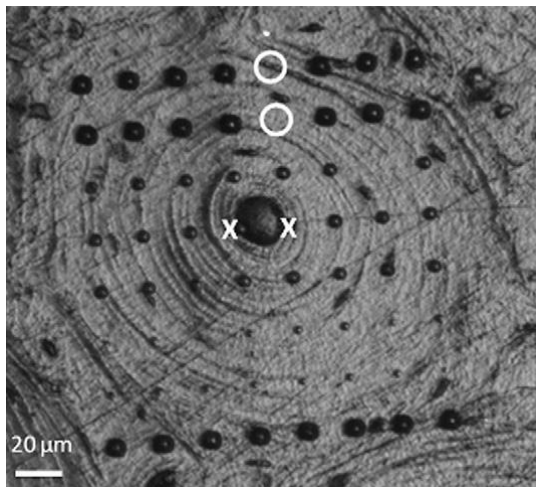


IV. DISCUSSION

On remarque que le module et la dureté varient respectivement de 5 à 40 GPa et de 0.1 à 1.1 GPa. Normalement, on ne devrait pas avoir des valeurs aussi élevées que 40 et 1.1. Le module et la dureté devraient varier respectivement aux alentours de 19 et de 0.35 quand l'indentation se positionne directement sur l'ostéon. Et un peu moins quand l'indentification se positionne ailleurs, c'est-à-dire dans son voisinage ou son noyau. En effet, les ostéons sont responsables de la dureté de l'os, d'autant plus que son noyau et son alentour sont un peu moins durs. Toutefois, l'échantillon est enrobé dans du technovit 7200 qui remplit les trous. Ce qui pourrait expliquer la présence de ces valeurs en dehors de la normale.

Une étude similaire a été faite par Rachel C. Paietta, Sara E. Campbell, Virginia L. Ferguson de l'Université de Colorado. Cette étude traite l'influence d'une pointe sphérique sur la nano-indentation de l'os.

En comparant les résultats obtenus à ceux de cette étude, on constate qu'il y a beaucoup de similarité. Comme on peut le voir dans le graphe ci-dessous, les valeurs du module varie de 15 à 30 GPa.



Mais dans cette étude ne fait pas état de la méthode de préparation de l'échantillon. Ce qui peut expliquer la petite différence entre ces résultats. Car le fini de surface de notre échantillon n'était pas adéquat. Le polissage a été fait avec du papier abrasif K4000, ce qui a laissé des traces sur la surface lorsqu'on la regarde au microscope. Et cette rugosité

est une cause de glissement. La poudre à polir aurait dû être utilisée pour terminer le polissage afin d'avoir un meilleur fini de surface. Il faut noter que d'un autre côté, la méthode utilisée a aussi ses avantages. Par exemple, le fait d'enrober l'échantillon après l'avoir infiltré, a permis de remplir les trous qui auraient pu causer de glissement.

V. ANALYSE DE LA GESTION DU TEMPS DE PROJET

Ce projet a été réalisé en quatre mois, ce qui était largement suffisant. Toutefois, nous avons accumulé du retard dès le début du projet. Dans l'échéancier, deux semaines ont été prévues pour l'apprentissage de la plate-forme du système EXAKT; ce qui était très loin d'être suffisant. Comme mentionné plus haut, la documentation fournie n'était pas adéquate pour l'apprentissage du système. Afin de maîtriser la plate-forme, il faut une formation de quatre jours; ce qui donne une idée du temps réel nécessaire si l'on doit apprendre le système sans aide et dépourvu d'une bonne documentation. D'autant plus que les recherches sur internet s'étaient révélées quasi inutiles, car aucune documentation concrète sur la manipulation de la machine n'a été trouvée.

Après trois semaines d'exploration du système tout en essayant de trouver de l'aide, nous en avons finalement trouvé auprès de Mme Annick Chevrier. Mme Chevrier a eu la chance de suivre la formation sur le système il y a deux ans de cela. Elle ne se souvenait pas de tout, mais elle nous a été d'une aide précieuse. Avec l'aide de Mme Chevrier, on était apte à utiliser le système. Et une fois le système maîtrisé, il nous a fallu suivre avec précision les étapes du processus pour réaliser une coupe histologique. La réalisation de cette coupe histologique a pris un peu plus que deux semaines; car, l'étape de déshydratation et d'infiltration fut très longue. L'échantillon étant prêt, on a passé directement au test de nano-indentation; ce qui nous a laissé assez de temps pour analyser les résultats, écrire le rapport et préparer la présentation orale.

VI. CONCLUSIONS

Dans ce projet qui a pour but d'analyser les caractéristiques mécaniques de l'os naturel; une coupe histologique en utilisant la technique "cutting/grinding" (Découpage/Broyage) a été réalisée. Cette technique consiste à préparer le tissu, préparer le bloc, préparer la lamelle finale, faire le bloc de sandwich, découper les tranches fines et finalement, broyer les tranches fines.

Pour avoir les propriétés mécaniques, on a effectué un test de 100 indentations en utilisant une pointe pyramidale à base triangulaire communément appelée pointe de Berkovich. Des résultats très intéressants et presque similaires aux résultats de Rachel C. Paietta, Sara E. Campbell, Virginia L. Ferguson de l'Université de Colorado qui ont effectués un test de nano-indentation avec une pointe sphérique, ont été obtenus. Ces résultats ont été un peu corrompus à cause des glissements de la pointe due à un fini inadéquat de la surface. En effet, pour un test de nano-indentation, il est recommandé d'utiliser de la poudre abrasive pour polir adéquatement la surface. Comme poudre abrasive, on peut citer la poudre abrasive D'OXYDE D'ALUMINIUM (150g).

Dans une étude future, il sera utile d'effectuer un test de nano-indentation sur un échantillon non enrobé. Ceci permettra de voir l'influence du technovit 7200 sur les résultats obtenus. Mais, il faudra trouver un moyen pour remplir les pores afin d'empêcher la pointe de glisser.

Étant donné qu'il y a un certain nombre de maladies qui se traduisent par une augmentation de la fragilité osseuse, nombreuses sont les recherches médicales qui s'appuient sur l'analyse de la structure et l'évolution de l'os. Car, il est important d'avoir de techniques fiables et non invasives de caractérisation mécanique de l'os, de manière à adapter les thérapeutiques médicamenteuses ou chirurgicales. À travers ce projet, on montre que les progrès technologiques permettent d'obtenir des résultats très précis. En s'impliquant dans les expériences et l'étude des besoins des chercheurs appartenant à des spécialités différentes, comme la médecine, l'ingénieur peut mieux contribuer au progrès technologique.

VII. RÉFÉRENCES

Bibliographie

A. Zamiri, S. De; Mechanical properties of hydroxyapatite single crystals from nanoindentation data, Department of Mechanical, Aerospace, and Nuclear Engineering, Rensselaer Polytechnic Institute; 10 novembre 2010.

D.A. Lucca, K. Herrmann, M.J. Klopstein; Nanoindentation: Measuring methods and applications, School of Mechanical and Aerospace Engineering, Oklahoma State University; 2010.

Donath K. And Bruener G. A method for the study of decalcified bones and teeth with attached soft tissues.

Hillman & al, Enzymes, lectin and immunohistochemistry of Plastic Embedded Undecalcified Bone and other Hard Tissues for Light Microscopic Investigations.

Rachel C.Paietta, Sara E. Campbell, Virginia L. Ferguson; Influences of spherical tip radius, contact depth, and contact area on nanoindentation properties of bone; Department of mechanical Engineering, University of Colorado; 12 October 2010.

Michael D. Rohrer DDS and Christiane C. Schubert; The cutting-grinding technique for histologic preparation of undecalcified bone and bone-anchored implants: Improvements in instrumentation and procedures; 20 October 2006.

Membre H. : Étude de l'ostéogénèse dans différentes conditions expérimentales. Thèse de doctorat de l'Université de Nancy; Juin 1990.

Roher & al, the cutting-grinding technique for histologic preparation of decalcified bone and bone anchored implants.

Technical Bulletin for histotechnology; Vol. XXXVII; May 2004.

Liens

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003042209290218F>

<http://www.aerographediscount.fr/poudre-abrasive-doxyde-daluminium-150g-p-1825.html>

http://sante.canoe.com/channel_section_details.asp?text_id=1179&channel_id=32&relation_id=1079

<http://www.canceropole-gso.org/page.asp?page=569>

http://www.esthetiquedentaire.com/implants_dentaires_dentiste_dents_montreal/regeneration.php

VIII. ANNEXES

ANNEXE 1. Aperçu sur la plate-forme EXAKT

EXAKT 520 – Unité de polymérisation par la lumière.



La EXAKT 520 est utilisée pour enrober les échantillons médicaux et industriels dans du plastique.

Caractéristiques :

- Effet thermal minimal sur l'échantillon.
- Polymerization stable avec un fort degree de durcissement.
- Formation minimale de bulles et de fractures.
- Plateaux d'enrobage réutilisables.
- Possibilité de refroidissement de l'eau.

Specifications techniques :

- Poids : 12.5 kg
- Espace de travail : L = 600 mm x D = 450 mm x 400 mm
- Voltage : 220/110 V
- Sortie : 30 W
- Pour utiliser le refroidissement, une arrivée et une sortie d'eau est nécessaire.
- Besoin en eau : 3-4 l/h
- EXAKT AW110 : SYSTÈME DE CONTRÔLE ET DE MESURE
- EXAKT 300 CP & 310 CP : SYSTÈME DE CONTROLE DE LA PRECISION DU PARALLELISME
- EXAKT 400 CS : SYSTÈME DE MICRO POLYSSAGE
- EXAKT : UNITÉ DE POLYMÉRISATION PAR LA LUMIÈRE
- EXAKT : SYSTÈME DE COUPE ET DE POLISSAGE
- LES CONSOMMABLES : INSTRUMENTS D'ENROBAGE ET COLLES



- **Résine d'enrobage EXAKT Technovit 7200 VLC**

- EXAKT Technovit 7200 est la première résine d'enrobage durcissante à la lumière utilisée en combinaison avec la technologie de coupe et de polissage EXAKT. Elle est utilisable aussi bien pour les tissus mous que pour les tissus durs. Sous l'effet de la lumière, elle polymérise à une température inférieure à 40°C. Elle est compatible avec la plupart des teintures histologiques solubles dans l'eau.
- **La colle EXAKT Technovit 7230 VLC**
- La colle EXAKT Technovit 7230 est utilisée pour coller des échantillons au dessus des moules d'enrobage avant qu'ils ne soient remplis avec la résine d'enrobage EXAKT Technovit 7200.
- **La colle EXAKT Technovit 7210 VLC**
- La EXAKT Technovit 7210 est une colle transparente durcissant à la lumière, utilisable avec la presse EXAKT 402. Elle permet un positionnement optimal de l'échantillon sur la lamelle et avec la presse 402 garantit un parallélisme optimal.
- **La colle EXAKT Technovit 4000**
- La EXAKT Technovit 4000 est utilisée avec l'aspirateur EXAKT 401 pour coller des blocs échantillons. Puisque c'est une colle très visqueuse, elle corrige les imperfections du bloc échantillon résultantes de la polymérisation.
- **Les lamelle en plastique EXAKT**
- Les lamelles en plastique offertes par EXAKT garantissent un parallélisme parfait. Elles sont parfaitement adéquates pour une utilisation avec les unités de coupe et de polissage. Elles sont disponibles dans différents formats et avec divers degrés de solidité..
- **Les moules d'enrobage**
- Les moules d'enrobage EXAKT sont disponibles dans des formats variés et s'intègrent dans l'unité de polymérisation par la lumière la EXAKT 520 .

ANNEXE 2. Tableau des résultats du test de nano-indentation.

Number of Data Points = 94

File	hc(nm)	Pmax(μ N)	S(μ N/nm)	A(nm ²)	hmax(nm)	heff(nm)	Er(GPa)
Os 1 500uN 0000 LC.hys	173.445424	498.965852	26.009857	1202997.946	187.441124	187.833215	
Os 1 500uN 0001 LC.hys	127.856533	499.691051	27.901992	706942.7862	140.972159	141.288129	
Os 1 500uN 0002 LC.hys	165.182012	499.87014	27.278115	1102709.719	178.489703	178.925726	
Os 1 500uN 0003 LC.hys	161.150287	499.935383	17.500704	1055453.548	181.958685	182.575226	
Os 1 500uN 0004 LC.hys	223.068132	499.93058	17.158188	1902838.972	243.796709	244.920552	
Os 1 500uN 0005 LC.hys	318.975729	499.912914	10.004717	3734115.266	354.067026	356.451522	
Os 1 500uN 0006 LC.hys	257.930957	499.299413	15.966816	2495244.353	280.640121	281.384259	
Os 1 500uN 0007 LC.hys	205.838558	499.748504	20.890234	1640820.425	222.875386	223.780501	
Os 1 500uN 0008 LC.hys	211.58038	499.698676	22.310881	1725884.626	227.528797	228.378193	
Os 1 500uN 0009 LC.hys	128.613432	499.74533	22.523243	714043.67	144.849898	145.254419	

Os 1 500uN 0010 LC.hys	175.392777	499.563443	23.269096	1227304.576	191.051718	191.494502
Os 1 500uN 0011 LC.hys	186.346581	499.612396	26.884555	1368820.031	199.849346	200.284298
Os 1 500uN 0012 LC.hys	153.115572	499.337549	24.854641	964545.1979	168.031589	168.183308
Os 1 500uN 0013 LC.hys	182.532938	499.646816	14.782135	1318626.413	206.875911	207.883478
Os 1 500uN 0014 LC.hys	164.655805	499.038463	15.130292	1096479.749	188.674285	189.392858
Os 1 500uN 0015 LC.hys	147.36749	499.320887	27.41495	902172.4215	160.662005	161.027579
Os 1 500uN 0016 LC.hys	150.012716	499.591802	26.042984	930600.4047	164.047196	164.400232
Os 1 500uN 0017 LC.hys	168.272241	499.799956	25.43348	1139673.569	182.612237	183.010687
Os 1 500uN 0018 LC.hys	179.168481	499.600758	24.469135	1275164.609	193.877705	194.481673
Os 1 500uN 0019 LC.hys	183.727637	499.538065	24.206804	1334244.305	198.611365	199.204837
Os 1 500uN 0020 LC.hys	176.23117	499.614792	19.184451	1237848.405	195.095756	195.76319
Os 1 500uN 0021 LC.hys	167.293203	499.710823	25.862728	1127892.944	181.331692	181.784447
Os 1 500uN 0022 LC.hys	155.892594	499.776044	16.355792	995474.2124	178.064851	178.809982
Os 1 500uN 0023 LC.hys	151.65528	499.820412	25.057301	948489.2531	166.283412	166.615603
Os 1 500uN 0024 LC.hys	198.145651	498.560694	25.283307	1530378.033	212.625916	212.934876
Os 1 500uN 0025 LC.hys	333.078851	498.25366	26.037385	4056944.908	346.852249	347.430916
Os 1 500uN 0026 LC.hys	127.991738	498.353516	19.322855	708208.4293	146.850217	147.334901
Os 1 500uN 0027 LC.hys	162.450565	498.540985	26.870482	1070574.386	176.07131	176.365676
Os 1 500uN 0028 LC.hys	233.261273	498.34978	23.638237	2067416.962	248.545153	249.073042
Os 1 500uN 0029 LC.hys	147.884608	498.627886	24.321931	907692.9261	162.888192	163.260481
Os 1 500uN 0030 LC.hys	180.292728	498.615108	24.04691	1289602.104	195.376577	195.844054
Os 1 500uN 0031 LC.hys	153.915997	498.604941	22.273557	973406.7104	170.577151	170.70513
Os 1 500uN 0032 LC.hys	146.030563	499.121572	24.370397	887983.1355	161.061795	161.391051
Os 1 500uN 0033 LC.hys	161.570182	499.095244	25.378276	1060324.007	175.991293	176.319861
Os 1 500uN 0034 LC.hys	156.554057	498.731068	23.673539	1002917.749	171.739987	172.354327
Os 1 500uN 0035 LC.hys	152.462826	498.947535	23.719697	957350.5229	167.790412	168.239193
Os 1 500uN 0036 LC.hys	174.042365	498.692648	28.786112	1210421.593	186.674573	187.035418
Os 1 500uN 0037 LC.hys	161.768437	498.551186	18.417334	1062627.754	181.395579	182.070691
Os 1 500uN 0038 LC.hys	219.22945	498.657593	22.994086	1842704.515	234.61904	235.494206
Os 1 500uN 0039 LC.hys	238.111238	498.387536	8.549023	2148225.434	280.012826	281.834437
Os 1 500uN 0040 LC.hys	196.238999	499.018378	23.132226	1503629.315	211.989988	212.418323
Os 1 500uN 0041 LC.hys	286.095148	498.660694	10.170683	3034869.085	320.726565	322.867065
Os 1 500uN 0042 LC.hys	147.430976	499.010476	25.726697	902849.2113	161.704349	161.978427
Os 1 500uN 0043 LC.hys	139.408988	499.016101	27.08618	819470.1372	152.873822	153.226443
Os 1 500uN 0044 LC.hys	286.276945	498.533739	11.903205	3038529.952	316.00286	317.688679
Os 1 500uN 0045 LC.hys	174.197949	498.952912	25.425716	1212360.418	188.44303	188.915909
Os 1 500uN 0046 LC.hys	196.019495	498.952317	23.697536	1500565.761	211.56453	211.810768
Os 1 500uN 0047 LC.hys	185.953072	498.784164	22.060748	1363595.102	202.251347	202.910254
Os 1 500uN 0049 LC.hys	210.54512	498.216268	25.376769	1710381.005	224.724154	225.269698
Os 1 500uN 0050 LC.hys	187.025618	498.289767	25.875508	1377860.868	201.262799	201.468517
Os 1 500uN 0051 LC.hys	157.877454	499.524407	21.442758	1017898.545	175.035408	175.349242
Os 1 500uN 0052 LC.hys	155.413626	499.536605	25.04536	990102.6988	170.072614	170.372583
Os 1 500uN 0053 LC.hys	194.118823	499.711342	25.936629	1474175.807	208.1591	208.568792

Os 1 500uN 0054 LC.hys	143.050084	499.662673	23.162126	856781.2677	159.073943	159.229385
Os 1 500uN 0055 LC.hys	153.597398	499.550282	24.225857	969874.334	168.683736	169.062803
Os 1 500uN 0056 LC.hys	169.402362	499.225361	25.631826	1153352.707	183.706833	184.009944
Os 1 500uN 0057 LC.hys	165.282003	499.60265	17.878563	1103895.66	185.956399	186.240174
Os 1 500uN 0058 LC.hys	191.843498	499.674751	25.84339	1442907.444	206.055942	206.344539
Os 1 500uN 0059 LC.hys	189.137675	499.835798	23.858253	1406181.589	204.366559	204.850345
Os 1 500uN 0060 LC.hys	208.283579	499.703242	24.451391	1676767.769	223.253068	223.611027
Os 1 500uN 0064 LC.hys	287.205946	499.632468	21.986595	3057272.893	302.063777	304.249256
Os 1 500uN 0065 LC.hys	268.604622	499.45087	22.667887	2693319.908	283.025696	285.12968
Os 1 500uN 0066 LC.hys	224.112553	499.502475	28.45474	1919374.808	236.512927	237.278263
Os 1 500uN 0067 LC.hys	227.799495	499.466919	22.352993	1978345.907	243.153561	244.557886
Os 1 500uN 0068 LC.hys	132.541863	499.784632	23.863807	751509.6809	147.477811	148.249268
Os 1 500uN 0071 LC.hys	137.12831	499.534431	29.003566	796550.6657	149.360333	150.045715
Os 1 500uN 0072 LC.hys	219.383186	499.450363	20.011625	1845093.469	235.937566	238.101694
Os 1 500uN 0073 LC.hys	148.097286	499.770795	22.142032	909968.5831	164.252222	165.025638
Os 1 500uN 0074 LC.hys	167.457241	499.444219	30.266048	1129862.278	179.375972	179.83359
Os 1 500uN 0075 LC.hys	127.813393	499.546861	30.723269	706539.2107	139.530984	140.008063
Os 1 500uN 0076 LC.hys	165.229599	499.560517	25.806855	1103274.035	179.130814	179.747849
Os 1 500uN 0077 LC.hys	182.350907	499.545931	24.186193	1316255.3	197.057389	197.841541
Os 1 500uN 0078 LC.hys	261.35755	499.408228	21.614911	2557978.282	277.850323	278.686151
Os 1 500uN 0079 LC.hys	137.890718	499.424431	23.328306	804173.7926	153.04033	153.947106
Os 1 500uN 0080 LC.hys	209.785506	497.715941	29.736203	1699051.909	221.80944	222.338788
Os 1 500uN 0081 LC.hys	136.792228	499.53271	30.562545	793202.5922	148.761915	149.050682
Os 1 500uN 0082 LC.hys	115.978724	499.813641	29.549525	600476.0649	128.260197	128.664553
Os 1 500uN 0083 LC.hys	170.491569	499.707687	24.114194	1166618.362	185.067649	186.033484
Os 1 500uN 0085 LC.hys	250.458732	499.617987	21.435011	2361244.358	267.037376	267.940109
Os 1 500uN 0086 LC.hys	131.537354	499.377011	20.592751	741831.9164	148.911526	149.724956
Os 1 500uN 0087 LC.hys	176.295965	499.580161	26.841171	1238665.266	189.439748	190.255308
Os 1 500uN 0088 LC.hys	145.527335	499.485488	20.198764	882673.2215	162.966052	164.073723
Os 1 500uN 0089 LC.hys	189.763357	499.681891	19.981433	1414629.635	207.698668	208.518839
Os 1 500uN 0090 LC.hys	133.78214	499.613215	33.542741	763551.5352	144.618318	144.953258
Os 1 500uN 0091 LC.hys	99.871377	499.688761	30.143495	470898.8661	112.043837	112.304128
Os 1 500uN 0092 LC.hys	125.078685	499.841986	28.578608	681207.853	137.734226	138.196241
Os 1 500uN 0093 LC.hys	121.362007	499.755693	22.549119	647574.3101	137.457664	137.984243
Os 1 500uN 0094 LC.hys	282.244894	499.642652	16.991997	2957871.882	301.643719	304.298334
Os 1 500uN 0095 LC.hys	159.702353	499.589334	21.328584	1038749.803	176.81979	177.269952
Os 1 500uN 0096 LC.hys	174.104641	499.609825	27.024245	1211197.461	187.473528	187.970241
Os 1 500uN 0097 LC.hys	106.842988	499.522312	30.909029	524904.5248	118.607484	118.963774
Os 1 500uN 0098 LC.hys	135.718026	500.14435	23.664277	782551.7975	150.922336	151.569272
Os 1 500uN 0099 LC.hys	307.913775	499.670258	21.887027	3490529.577	324.320892	325.035912