

Fluoride release by zinc phosphate cement: Kinetic and antibacteriological studies

Relargage des fluorures par un ciment à base de phosphate de zinc : Etude cinétique et antibactériologique

M. Jabri ¹, E. Mejdoubi ^{1*}, M. Elgadi ¹, N. Ghabbour ²; A. Asehrou ²; B. Hammouti ³

¹ Laboratoire de Chimie du Solide Minéral et Analytique, Faculté des Sciences, Université Mohammed Premier, B.P. 717, Oujda, Morocco

² Laboratoire de Biologie des Plantes et des Microorganismes, Faculté des Sciences, Université Mohammed Premier, B.P. 717, Oujda, Morocco

³ LCAE-URAC18, Faculté des Sciences, Université Mohammed Premier, B.P. 717, Oujda, Morocco

*Corresponding Author: Email address: e.mejdoubi@hotmail.com ; Tel. +212 536500602; Fax +2125336500603.

Received: 02 June 2010; accepted: 07 July 2010

Abstract

The future evolutions on the dental materials should be directed to develop biomaterials capable of responding independently to the load specification of a dental restoration. The prevention of secondary caries, remineralization of dental tissue damage and preventing of its demineralization, are the main features that should exhibit a dental restorative material. In this context, we have developed Zinc phosphate cements in the ternary system $Al_2O_3 / ZnO / P_2O_5$. These cements containing fluorides which are broadcast after the restoration, in order to fulfil their role advocated in the prevention of caries. The antibacterial studies and kinetics of fluoride release by these cements are performed "in vitro". The diffusion kinetics was studied on three sources of fluoride added to the cement powder in the form of fluoridated salt. The comparative study of kinetic models of each salt is evaluated. This has contributed to the choice of an optimum which has a good kinetics profile. The antibacteriological evaluation is performed on samples of Zinc phosphate cements. This study has contributed to cariostatic effect control for these materials and to improve their biological performance.

Keywords : Fluoride Release ; Zinc Phosphate Cement; Bacteriology ; Cariostatic effect

Résumé

Les ciments dentaires actuels renferment des quantités variées d'ions à effet cario-protecteur. L'évaluation de leurs activités biologiques est liée au phénomène de diffusion des ions depuis la matrice cimentaire vers le milieu environnant. Les études antibactériologiques et cinétiques de relargage sont effectuées "in vitro", sur un ciment dentaire à base de phosphate de Zinc. La cinétique de diffusion porte sur trois sources de fluor ajoutées à la poudre du ciment. L'étude comparative des modèles cinétiques de chaque sel est ainsi évaluée. Ceci a contribué au choix d'un optimum qui présente le bon profil cinétique. L'évaluation antibactériologique est effectuée sur des échantillons en ciments à base du phosphate de Zinc. Cette étude a contribué au contrôle d'effet cariostatique de ces matériaux et à l'amélioration de leurs performances biologiques.

Mots clés : Relargage ; Ciment au Phosphate de Zinc; Bactériologie ; Fluorures ; Effet Cariostatique.

1. Introduction

Les caries dentaires constituent une préoccupation majeure des spécialistes dans le domaine dentaire. Elles sont parmi les symptômes qui doivent être évaluées et luttées. Le fluor est un agent anticariogénique (1) et antibactériologique (2). Son insertion dans les ciments dentaires a contribué à la réduction des caries (3) et à la minéralisation du tissu dentaire. Alors que le mécanisme d'inhibition des caries est lié au phénomène de diffusion des fluorures depuis la matrice cimentaire vers son environnement (4,5).

Des études récentes, ont été consacrées à l'établissement des modèles cinétiques pour contrôler le relargage des ions fluorure « in vitro » (6, 7, 8, 9). Elles ont montré que, le profil cinétique du relargage est influencé par plusieurs paramètres (3), entre autres : la nature du matériau cimentant, la complexité de la matrice cimentaire fluorée, le mécanisme de prise et de durcissement, la concentration des fluorures dans le ciment et les conditions de l'environnement de la restauration.

L'étude menée dans ce travail est partagée en deux parties. Dans la première, nous étudions la cinétique du relargage des fluorures d'un ciment à base de phosphate de Zinc et d'aluminium, élaboré au laboratoire, dans trois milieux biologiques différents, tels que la salive, le liquide physiologique et l'eau bidistillée. La cinétique de diffusion porte sur l'étude de trois adjuvants fluorés ajoutés au ciment : Le fluorure de sodium (NaF), le fluorure d'étain (SnF₂) et le fluorure de calcium (CaF₂).

L'étude comparative des modèles cinétiques de chaque sel est ainsi évaluée. L'objectif est de déterminer s'il existe un adjuvant optimal parmi les trois sels testés, qui présente un bon profil cinétique et remplit les spécifications normatives, relatives à un bon profil médical.

La deuxième partie est consacrée à l'étude in vitro de l'activité antibactérienne de plusieurs qualités de ciments à base du phosphate de zinc dont la teneur en adjuvant fluoré est modérée. Cette étude porte sur huit souches de bactéries de différentes origines et intérêts (médicaux et alimentaires). L'activité antimicrobienne de ces matrices a été évaluée suivant un test de screening et la mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

2. Matériels et méthodes

Les ciments étudiés sont élaborés dans le système Al₂O₃ / ZnO / P₂O₅, auxquels on ajoute trois sels fluorés (NaF, SnF₂ et CaF₂) à titre de comparaison. Ces adjuvants ont été mélangés à raison de 5% en masse à la poudre du ciment.

La phase solide du ciment est gâchée par une solution d'acide phosphorique, le rapport liquide/solide est égal à 0,3. La pâte du ciment est mise sous forme de disques de dimensions (1×10 mm). Après durcissement du ciment, nous plaçons les disques dans 10 ml de la solution biologique. On change la solution de séjour tout en accumulant la quantité libérée de temps en temps (test semi dynamique) (Tableau -1-) pour faire les dosages à l'aide de l'électrode spécifique du fluor. L'appareillage utilisé est le pH-/ionomètre 692, de Metrohm. Les solutions à doser sont mélangées à 10 ml de la solution de TISAB (total ionic strength adjustment buffer) comme agent décomplexant des ions fluorure.

Le dosage des fluorures initialement introduits dans les ciments (M_{0i}) et le protocole de mise en solution des ciments sont effectués selon la méthode de référence « Application bulletin, Metrohm N° 82/3f, chapitre : Détermination des fluorures avec l'électrode ionique spécifique ».

L'étude de l'activité antimicrobienne est effectuée du point de vue qualitatif et quantitatif. Qualitativement, par le test de screening sur des disques (diamètre 6 mm, hauteur 1mm) préparés en ciments seuls et autres en ciments mélangés aux différentes matrices du fluor, puis imprégnés dans les milieux de jeunes cultures de huit souches bactériennes formés par : le milieu de Mueller Hinton pour les bactéries à Gram négatif, à intérêt hygiénique (*E. col*, *Salmonella sp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas sp*, *Staphylococcus sp* et *bacillus aureus*) et le milieu De Mane Rogosa et Sharpe (MRS) pour les bactéries lactiques SG100 et S41 (*lactobacillus plantarum* et *lactobacillus pentosis*). L'auréole d'inhibition est mesurée après incubation à 30°C pendant 3 jours. L'évaluation quantitative porte sur des différentes poudres de ciments à concentration en adjuvants fluorés allant de 1 à 10 %, dans des tubes dont les milieux de culture sont des liquides formés par les mêmes milieux qu'auparavant. Ceci afin d'obtenir la limite minimale inhibitrice (CMI) qui correspond à la faible concentration où l'inhibition de la croissance bactérienne est observée pour chaque sel fluoré dans le ciment.

Tableau 1: Conditions opératoires

Nature du ciment	Milieux de lixiviation	Nombre d'échantillons	Volumes des solutions renouvelées	Échéances des temps en jours
Ciment à NaF	Eau bidistillée	3	10 ml	1j ; 2j ; 3j ; 7j ;
Ciment à SnF ₂	Salive			11j ; 30j ; 46j ;
Ciment à CaF ₂	Liquide physiologique			60j et 90j

3. Résultats et discussion

3.1- Etude cinétique du relargage du fluor

L'analyse des échantillons des ciments durcis, par l'électrode spécifique du fluor, avant essai de lixiviation, pour les trois adjuvants fluorés incorporés, conduit aux résultats suivants :

M_0 (NaF) = 4.97%; M_0 (SnF₂) = 4.98%; M_0 (CaF₂) = 4.95%. Ces valeurs sont du même ordre que celles initialement introduites (5 % pour chaque sel fluoré). Ceci nous a permis de valider la méthode du dosage des fluorures à l'aide de l'électrode spécifique du fluor.

3.1.1- Ciment à NaF

Le fluorure de sodium (NaF) est très hydrosoluble (solubilité 4 g/l à 20°C), son insertion sous forme de sel dans le ciment a contribué à une augmentation du temps de prise. Ainsi après dissolution du ciment, la phase liquide se sature en NaF dissout, ce qui provoque la précipitation des hydrates. Par la suite, une quantité de fluor se répartit dans la matrice cimentaire, alors qu'une partie se charge sur la surface du matériau durci.

La figure -1- montre que la libération des fluorures s'opère en deux phases (I et II). La phase I, qui est rapide, révèle la diffusion du fluor à partir de la surface du matériau, tandis que la phase (II) correspond à une diffusion progressive et lente à travers la masse du matériau. Ce type de diffusion est modélisé par l'équation (a), tableau -2- :

$$F_c = F_i * \frac{t}{t_{1/2} + t} + b * \sqrt{t} \tag{a}$$

Avec : $F_c = M_i / M_{0i}$: est la fraction cumulée des fluorures (FLC) dans le temps
 F_i correspond à la quantité maximale des fluorures cumulée lors de la phase I
 $t_{1/2}$ correspond au temps du relargage de la moitié de F_i .

Tableau -2- : Paramètres de l'équation relative à la variation de la fraction cumulée des fluorures en fonction du temps. Cas du ciment à base de NaF.

Milieux	F_i (%)	$t_{1/2}$ (jours)	b (%/j ^{1/2})	r^2
La salive	3.04	2.43	0.22	0.99
Le liquide physiologique	2.63	2.37	0.11	0.98
L'eau bidistillée	3.11	2.44	0.26	0.99

La cinétique de libération des fluorures présente des différences selon le milieu de séjour testé. La diffusion du fluor vers l'eau et la salive est relativement similaire, compte tenu de la grande similitude chimique de ces deux milieux. Elle est cependant moins importante dans le liquide physiologique. Ceci est lié à la composition et la nature chimique du milieu de lixiviation, ainsi qu'aux différentes interactions qui pourraient exister entre le ciment et le liquide physiologique.

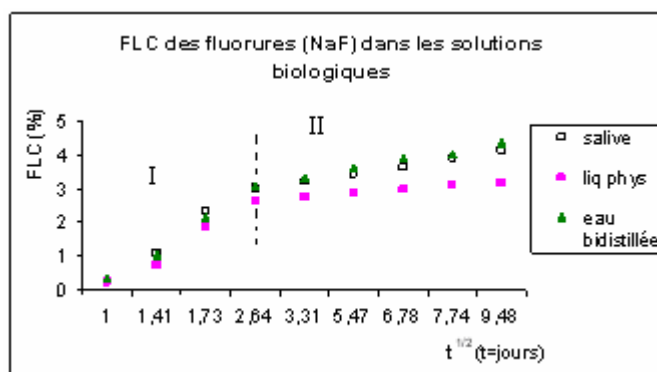


Figure -1- : Cinétique du relargage du fluor (NaF) dans les solutions biologiques en fonction du $t^{1/2}$.

3.1.2- Ciment à SnF₂

Quant à la libération des fluorures à partir du ciment à base du fluorure d'étain (SnF₂) Figure -2-, l'étude cinétique montre un régime purement diffusif et correspond à un relargage progressif à travers le matériau en fonction du temps. Le processus est évalué linéairement par l'équation (b) :

$$F_c = b * \sqrt{t} \tag{b}$$

Le tableau -3- récapitule les équations de la cinétique de relargage du fluor dans les trois milieux de lixiviation. Les coefficients de corrélations sont très proches de 1.

La fraction cumulée dans l'eau bidistillée et dans la salive est plus importante (mais en quantités moindres dans la salive). Enfin elle est faible dans le cas du liquide physiologique. La complexité chimique de ce milieu pouvant être à l'origine de cette différence.

Tableau -3- : Equations du relargage des fluorures dans les trois milieux en fonction du temps. Cas du ciment à base de SnF₂.

Milieux	Equation $F_c = f(\sqrt{t})$	r^2
La salive	$F_c = 0,3453 \sqrt{t} - 0,1967$	0,99
Le liquide physiologique	$F_c = 0,112 \sqrt{t} + 0,28$	0,98
L'eau bidistillée	$F_c = 0,4212 \sqrt{t} + 0,2786$	0,98

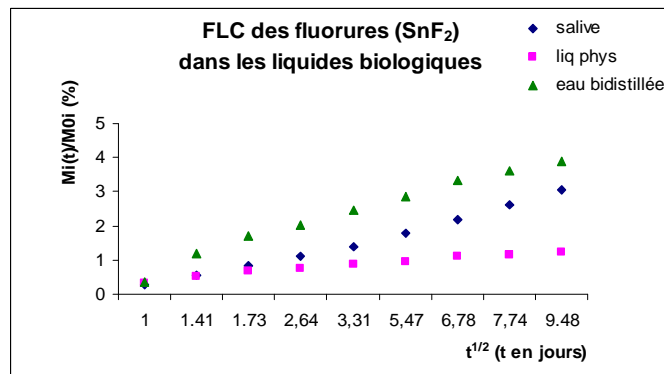


Figure -2- : Cinétique du relargage du fluor (SnF₂) dans les solutions biologiques en fonction du $t^{1/2}$.

3.1.3- Ciment à CaF₂

Le fluorure de calcium CaF₂ est un accélérateur de prise du ciment, en effet, après gâchage, il réagit très rapidement avec l'acide phosphorique pour donner des sels de phosphate de calcium. Les fluorures s'introduisent ainsi dans les nouvelles phases formées. Ceci à pour conséquence une diffusion progressive des fluorures, lors de l'essai de lixiviation (Figure -3-).

Par analogie aux essais avec SnF₂, la cinétique de libération du fluor par le ciment à CaF₂ suit un régime linéaire selon l'équation -b-. Le tableau -4- regroupe les équations qui décrivent la cinétique de libération du fluor par le ciment à CaF₂ dans les trois milieux. Ces équations ont des coefficients de corrélation proches de 1, elles sont donc statistiquement très significatives et représentent bien le phénomène dans les conditions « *in vitro* ».

Tableau -4- : Equations du relargage des fluorures dans les trois milieux en fonction du temps. Cas du ciment à base de CaF₂.

Milieux	Equation $F_c = f(t^{1/2})$	r^2
La salive	$F_c = 0,0463 \sqrt{t} + 0,0394$	0,99
Le liquide physiologique	$F_c = 0,0493 \sqrt{t} - 0,0053$	0,99
L'eau bidistillée	$F_c = 0,0269 \sqrt{t} + 0,0082$	0,99

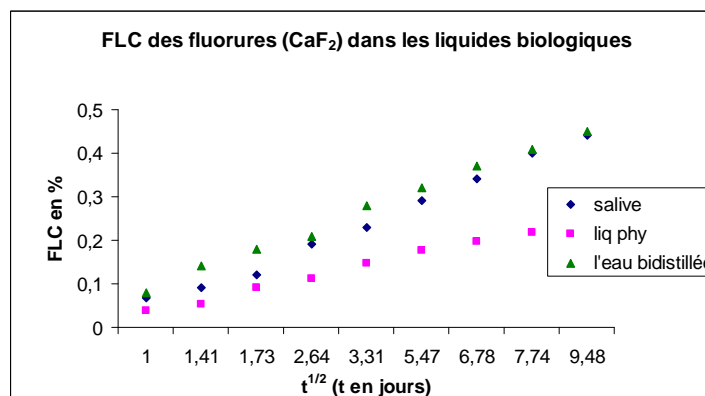


Figure -3- : Cinétique du relargage du fluor dans les solutions biologiques en fonction du $t^{1/2}$.

3.1.4- Etudes comparatives des trois sources de fluor : NaF, SnF₂ et CaF₂

La cinétique de libération des fluorures par les ciments à différentes sources de fluor, présente des différences en ce qui concerne le sel fluoré utilisé et le milieu de lixiviation (figures -4-, -5- et -6-). Le fluorure de sodium présente une cinétique plus rapide que SnF₂ et CaF₂ dans les trois milieux. Sa courbe de relargage présente deux phases différentes : la première révélant un relargage rapide à partir de la surface du matériau, tandis qu'une deuxième phase correspond à une diffusion progressive et lente à travers le matériau.

Quant à la libération des fluorures à partir du ciment à base du SnF₂ et du CaF₂, le régime est purement diffusif et correspond à un relargage progressif en fonction du temps à partir de l'ensemble du matériau.

Le fluorure de calcium est la forme la plus retenue dans le ciment, sa libération est la plus faible et constitue de ce fait, la forme la plus souhaitable pour la prévention contre la carie, pour des temps relativement longs. Ainsi il peut être préconisé pour le traitement des dents chez les enfants.

Le fluorure d'étain présente une cinétique intermédiaire et peut être utilisé pour le traitement des dents chez les adultes.

Alors que le fluorure de sodium, même s'il présente une cinétique remarquable de point de vue quantitatif, sa grande libération est accompagnée de risque de fluorose dentaire, liée à la quantité de fluorures présente dans la bouche, surtout pour les âges en développement.

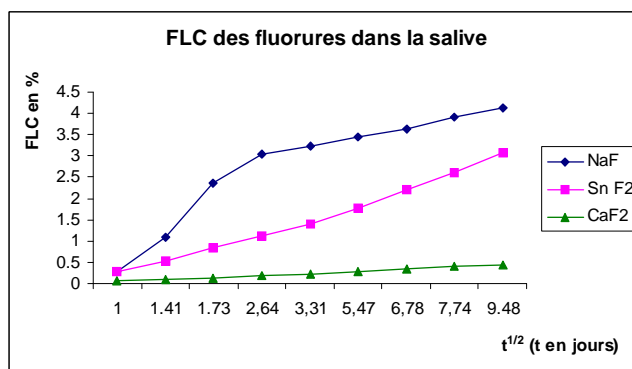


Figure -4- : Cinétique du relargage du fluor des ciment à NaF, SnF₂ et CaF₂, dans la salive

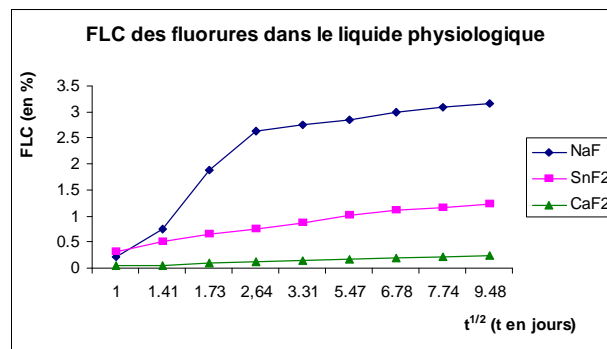


Figure -5- : Relargage du fluor des ciments à NaF, SnF₂ et CaF₂, dans le liquide physiologique

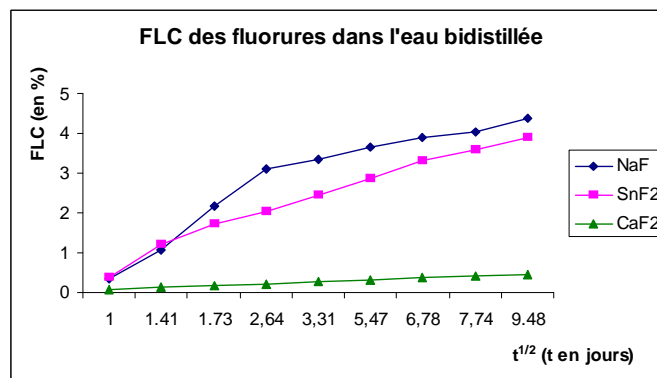


Figure 6 : cinétique du relargage du fluor des ciments à NaF, SnF₂ et CaF₂, dans l'eau bidistillée

3.2- Etude de l'activité antibactérienne

3.2.1- Test screening

Le test screening a permis de mettre en évidence l'activité antimicrobienne des différents matériaux étudiés, y compris le ciment sans adjuvants fluorés, sur toutes les souches testées (Tableau -5-). Le ciment sans adjuvants a montré de grandes auréoles d'inhibition sur *Listeria monocytogenes*, sur *Lactobacillus plantarum* et *Salmonella sp*, alors que l'effet d'inhibition le plus petit a été observé sur *E. Coli*.

Les ciments à matrices : NaF, SnF₂ et CaF₂, ont montré, sur toutes les souches testées, des auréoles plus grandes que celles obtenues avec du ciment sans adjuvants. Cette grande activité change d'une souche à l'autre selon le Gram, et peut être expliquée par la solubilité des fluorures dans le milieu de culture.

3.2.1- Mesure de la CMI

La CMI du ciment sans adjuvant est de l'ordre de 4% sur *Lactobacillus plantarum*, alors qu'elle est inférieure à 1% sur le reste des souches testées.

Les CMI des ciments à matrice NaF et CaF₂ sont inférieures à 0.5% sur toutes les souches étudiées. Par contre la CMI du SnF₂ est de l'ordre de 1% sur *Klebsiella et Lactobacillus plantarum*, et de 0.5% sur le reste des souches testées.

Tableau- 5- : Taille des auréoles d'inhibition (cm) observées dans le cas des ciments avec et sans adjuvants fluorés

	Escherichia coli	Salmonella sp	Klebsiella pneumoniae	Pseudomonas sp	Listeria monocytogenes	Proteus sp	Lactobacillus platarum	Lactobacillus pentosus
Ciment Sans adj	1,2	2,2	1,4	1,5	3	1,2	2,6	2
NaF	1,8	2,6	1,8	1,8	3,5	1,8	3	3
SnF ₂	2	2,6	1,6	1,8	3,2	2,2	3	2,6
CaF ₂	2,6	2,2	2,4	2,4	3,5	2	2,6	3,2

4. Conclusion

Nous avons pu mettre en évidence que la cinétique du relargage des fluorures peut être influencée d'une part par le type d'adjuvant fluoré incorporé dans le ciment dentaire et d'autre part, par la nature chimique de l'environnement. Les sels de calcium fluorés pourraient être préconisés pour les différents âges (cinétique lente et progressive). Alors que les ciments à base de sodium et d'étain présentent des cinétiques de relargage rapides, ce qui pourrait nuire la stabilité du ciment hôte.

L'étude de l'activité antimicrobienne des différents ciments a permis de mettre en évidence leur très bonne réponse. Ainsi les CMI déterminées ont montré la grande efficacité des ciments préparés, contre les bactéries à Gram négatif, qui ont un intérêt hygiénique, et les bactéries lactiques, qui ont un intérêt alimentaire.

Références

- Pereira, P.N.R., Inokoshi, S., Tagami, J. In vitro secondary caries inhibition around fluoride releasing materials. *J. Dent.* 26 (1998) 505.
- Bowden, G.H. Effects of fluoride on the microbial ecology of dental plaque. *J. Dent. Res.* 69 (1990) 653 Special Issue.
- Wiegand, A., Buchalla, W., Attina, T. Review on fluoride-releasing restorative materials—Fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dental materials*, 23 (2007) 343.
- Donly, K.J., Segura, A. Fluoride release and caries inhibition associated with a resin-modified glass-ionomer cement at varying fluoride loading doses. *American Journal of Dentistry*, 15 (2002) 8.
- Nagamine, M., Itota, T., Torii, Y., Irie, M., Staninec, M. Inoue, K. Effect of resin-modified glass ionomer cements on secondary caries. *American Journal of Dentistry*, 10 (1997) 173.
- Verbeeck, R.M.H., De Moor, R.J.G., Van Even, D.F.J., Martens L.C. The short-term fluoride release of a hand-mixed vs. capsulated system of a restorative glass-ionomer cement. *J. Dent. Res.* 72 (1992) 577.
- Verbeeck, R., De Maeyer, E., Marks, L., De Moor, R., De Witte, A., Trimpeneers L. Fluoride release process of (resin-modified) glass ionomer cements versus (polyacid-modified) composite resins, *Biomaterials*, 19 (1998) 509.
- De Moor, R.J.G., Verbeeck, R.M.H., De Maeyer, E.A.P. Fluoride release profiles of restorative glass-ionomer formulations. *Dent. Mater.* 12 (1996) 88.
- Wilson, A.D., Groffman, D.M., Huhn, A.T. The release of fluoride and other chemicial species from a glass-ionomer cement. *Biomaterials* 6 (1985) 431.

(2010) ; <http://www.jmaterenvirosci.com>