

OPTIMISATION DU TEMPS DE PRISE ET DE LA RESISTANCE MECANIQUE D'UN BIOMATERIAU DE COMPLEMENT OSSEUX INJECTABLE TYPE CIMENT PHOSPHOCALCIQUE

OPTIMIZATION OF THE SETTING TIME AND THE MECHANICAL STRENGTH OF AN INJECTABLE OSSEOUS FILLING BIOMATERIAL TYPE CALCIUM PHOSPHATE CEMENT

MOBIO S^{1,2}., AKON A.B. ⁴., KONE D¹., BROU E¹., SOUEIDAN A³., KHAIRON I².

1-Département de Parodontologie UFROS d'Abidjan

2-Laboratoire d'Ingénierie Ostéo-articulaire et Dentaire INSERM U 791; Nantes- France.

3-Département de Parodontologie, UFR Odontologie Université de Nantes ; France.

4-Département de Biologie et Matières Fondamentales: Section Biomatériaux UFROS d'Abidjan

Correspondance : Dr MOBIO Yaba Samson

UFR d'Odonto-stomatologie, Université d'Abidjan-Cocody

22 Bp 1784 Abidjan 22 e-mail : mobioyaba@yahoo.fr.

RESUME

Introduction : Une nouvelle formulation de ciment phosphocalcique (CPC) composée principalement de phosphate tricalcique alpha (α -TCP) et de phosphate de calcium biphasé (BCP), associées à des liquides à base de tampons de phosphates de sodium a été mise au point par le Laboratoire d'Ingénierie Ostéoartculaire et Dentaire (L.I.O.A.D, INSERM U 791, Nantes, France)

Objectif : L'objectif de ce travail est d'évaluer le temps de prise et la résistance mécanique du ciment obtenu avec différents liquides de tampon de phosphate de sodium à différentes concentrations afin de choisir le liquide optimisant le mieux ces deux propriétés primordiales dans le succès de la régénération osseuse induite par le ciment phosphocalcique.

Méthodes: Quatre échantillons de ciment préparés avec quatre concentrations différentes de tampons de phosphates de sodium avec deux rapports liquide-poudre (L/P) ont été synthétisés. Le temps de prise et la résistance mécanique de chaque échantillon ont été déterminés respectivement avec les aiguilles de Gillmore et un analyseur de texture.

Résultats : Le liquide basique (Na_2HPO_4) à 2% avec le rapport L/P de 0,36 ml/g a donné un temps de prise court de 10 min et le liquide acide ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) à 1% avec le rapport L/P de 0,36 ml/g a donné la meilleure résistance à la compression de 20 Mpa. Ce qui est conforme aux cahiers de charges des ciments phosphocalciques.

Conclusion : Ce temps de prise court sera propice au durcissement rapide et à l'adaptation du ciment au défaut osseux tandis que la résistance à la compression obtenue, permettra au ciment durci de résister aux contraintes mécaniques après comblement osseux.

MOTS CLÉS : BIOMATERIAU INJECTABLE; PHOSPHATE DE CALCIUM; RÉGÉNÉRATION OSSEUSE; CHIRURGIE PARODONTALE.

ABSTRACT

Introduction: A new calcium phosphate cement formulation (CPC) basically composed of alpha Tricalcic phosphate (α -TCP) and of Biphasic Calcium Phosphate (BCP), combined with some sodium phosphates buffer-based liquids has been developed by the osteoarticular and dental engineering laboratory (INSERM U 791, Nantes France)

Objective : This work aims at assessing the setting time and the mechanical strength of the cement developed in combination with different sodium phosphate buffer liquids in various concentrations in order to select the liquids which best optimizes these both paramount features in achieving bone regeneration induced by the calcium phosphate cement.

Methods: Four cement samples prepared with four diverse sodium phosphate buffer concentrations in two liquid-powder ratios (L/P) have been synthesized. The time setting and the mechanical strength of each sample have been respectively determined by Gillmore needles and a texture analyzer.

Results : The basic liquid (Na_2HPO_4) at 2% with the L/P ratio of 0,36 ml/g has produced a short setting time of 10mn and the acid liquid ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) at 1% with the L/P ratio of 0,36 ml/g has given the best compressive strength of 20 Mpa. That is in accordance with the specifications of the calcium phosphate cements.

Conclusion: This short setting time will be conducive to a fast hardening as well as the cement adaptability to the bone injury while the obtained compressive strength, will enable the hardened cement to resist the mechanical constraints subsequent to the bone filling in.

KEY-WORDS: INJECTABLE BIOMATERIAL; CALCIUM PHOSPHATE; BONE REGENERATION; PERIODONTAL SURGERY

INTRODUCTION

Les phosphates de calcium occupent une place importante parmi les matériaux de comblement osseux synthétiques du fait de leur structure et de leur composition chimique très proche de celles des apatites biologiques (os, dentine, émail) [1,2]. Ils sont disponibles sous forme granulée et injectable. La forme injectable des phosphates de calcium, représentée principalement par les ciments phosphocalciques (CPC), est la plus utilisée. En effet, les ciments phosphocalciques en plus d'être injectables, offrent l'avantage d'être biocompatibles [3], de durcir *in vivo* et de s'adapter aux défauts osseux [4,5,6]. Cependant, ils présentent des inconvénients au niveau du temps de prise qui est long et qui a une faible résistance mécanique [7,8]. Pour des applications cliniques, le cahier des charges recommandé est de 10 à 15 minutes pour le temps de prise et une résistance mécanique comprise entre 15 et 30 Mpa [7,8,9]. La majorité des ciments utilisés ne respectent toujours pas ce cahier de charge. Soit, le temps de prise est court et la résistance mécanique est élevée et vis-versa. En effet, les propriétés de temps de prise et de résistance mécanique sont inversement liées [10].

En France, le Laboratoire d'Ingénierie Ostéoarticulaire et Dentaire (L.I.O.A.D, INSERM U 791, Nantes) a mis au point une nouvelle formulation de ciment synthétique constituée de composés phosphocalciques résorbables avec des granules microporeux et/ou macroporeux de phosphate de calcium, associés à un liquide à base de tampons de phosphate de sodium [11].

Les premières évaluations du ciment ont donné un temps de prise long d'environ 15 min avec une résistance à la compression de 10 Mpa qui ne respectent toujours pas le cahier de charges d'un ciment phosphocalcique [12,13,14]. Les facteurs influençant le temps de prise et la résistance mécanique sont essentiellement liés à la composition et la concentration de la phase liquide du ciment [15,16].

L'objectif de ce travail est d'évaluer le temps de prise et la résistance mécanique du ciment obtenu avec différents liquides de tampon de phosphate de sodium, à différentes concentrations, afin de choisir le liquide optimisant le mieux, ces deux propriétés primordiales dans le succès de la régénération osseuse induite par le ciment phosphocalcique.

1- MATERIELS ET METHODES

1-1 SYNTHÈSE DU MATÉRIAU

La phase solide du matériau reste inchangée tandis que la phase liquide est modifiée afin d'optimiser les propriétés de temps de prise et de résistance mécanique.

Pour cela, nous avons synthétisé quatre types de liquide à base de tampon de phosphate de sodium avec différents rapports L/P pour apprécier leur influence sur le temps de prise et sur la résistance mécanique.

a- Phase solide

La phase solide (poudre) du ciment est composée de :

- 40% de phosphate tricalcique alpha (α -TCP),
- 25% de Phosphate de Calcium Amorphe (ACP), 5% de Phosphate Monocalcique Monohydrate (MPCM),
- et 30% de granules microporeux ou macroporeux de Phosphate de Calcium Biphase (BCP) avec la taille de grains de 80- 200 microns.

b- Phase liquide

Quatre types de liquide à base de tampons de phosphate de sodium ont été testés.

- 2 liquides à base de phosphate de sodium basique (Na_2HPO_4) :
 - * 1% de Na_2HPO_4 : dissoudre 1g de Na_2HPO_4 dans 100ml d'eau distillée.
 - * 2% de Na_2HPO_4 : dissoudre 2g de Na_2HPO_4 dans 100ml d'eau distillée.
- 2 liquides à base de phosphate de sodium acide ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) :
 - * 1% de $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$: dissoudre 1g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ dans 100ml d'eau distillée.
 - * 2% de $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$: dissoudre 2g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ dans 100ml d'eau distillée.

c- Rapport liquide-poudre (L/P)

La poudre a été mélangée avec les quatre liquides avec deux rapports liquide-poudre de 0,36 et 0,40 ml/g. Ce mélange a donné huit échantillons de ciment à tester.

1-2 MESURE DU TEMPS DE PRISE

Le temps de prise initial (Ti) et le temps de prise final (Tf) ont été déterminés avec les aiguilles de Gillmore conformément aux normes de l'ASTM C266-89(Standard Test Method for Time of Setting of Hydraulic Cement by Gillmore Needles) (fig.1). Les aiguilles de Gillmore sont constituées :

- d'une aiguille épaisse et légère pesant 113.4 g et ayant 2.13 mm de diamètre utiliser pour la détermination du temps de prise initial ;
- d'une aiguille mince et lourde pesant 453.6 g et ayant 1.06 mm de diamètre permettant de mesurer le temps de prise final.

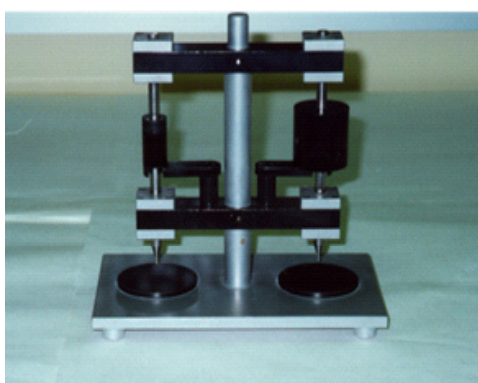


Figure 1 : Aiguilles de Gillmore

Le protocole suivant a été mis en oeuvre :

- la poudre et les liquides avec les deux rapports L/P ont été mélangés dans un mortier pendant 30 secondes ;
- les aiguilles ont été introduites dans chaque échantillon de ciment, en commençant par l'aiguille légère puis lourde, lorsque la pâte plastique se forme.

- le temps écoulé a été chronométré après le mélange jusqu'à ce que les deux aiguilles ne pénètrent plus ou ne laissent plus de traces profondes sur la surface du ciment durci.

Le temps de prise est donc le temps écoulé depuis le mélange jusqu'au durcissement total du ciment matérialisé par la résistance à la pénétration des aiguilles.

1-3 MESURE DE LA RÉSISTANCE À LA COMPRESSION

Pour mesurer la résistance à la compression, des essais de compressions sont effectués à la

température ambiante avec un analyseur de texture (TA.HD.PLUS Texture Analyseur) (fig.2).

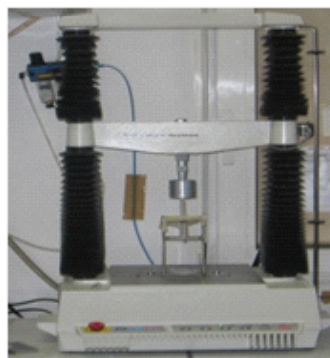


Figure 2 : Analyseur de texture

Avec le ciment à évaluer, nous avons confectionné des échantillons cylindriques de 12 mm de hauteur et 6 mm de diamètre qui respectent les échantillons des normes ISO (fig.3).



Figure 3 : Echantillon cylindrique

Le ciment est préparé en mélangeant la poudre avec les quatre liquides selon les deux rapports L/P. Ce mélange permet d'obtenir huit types de ciment. Chaque ciment obtenu est introduit dans un moule en Téflon® préalablement lubrifié (fig.4).



Figure 4 : moule de Teflon

Ces moules ont été trempées dans une solution saline (NaCl 0.9%) à 37°C (ph 7.4) pendant 24 heures avant d'être démoulées. Les huit échantillons cylindriques de ciment (obtenus avec les quatre liquides et les deux rapports L/P) ont été déposés dans l'analyseur de texture. Les essais ont consisté à appliquer une force croissante sur chaque échantillon cylindrique du ciment jusqu'à ce que ce dernier s'écrase. La force à partir de laquelle le cylindre s'écrase (force de rupture) est affichée sur l'écran de l'analyseur de texture. Cette force représente la résistance à la compression du matériau. Nous avons testé la résistance à la compression des huit échantillons 24 h et 72 après la prise du ciment.

2- RESULTATS

2-1 TEMPS DE PRISE

Les résultats de la mesure du temps de prise sont représentés dans le tableau I.

On note que le temps de prise est plus court pour le liquide le plus concentré (2%) et ayant le plus petit rapport L/P (0,36 ml/g). Le ciment préparé avec le liquide basique donne les temps de prise plus court (I= 10 min) que celui préparé avec le liquide acide (I=15 min).

Tableau I : Temps de prise du ciment selon le rapport L/P et la concentration du liquide

Liquides	L/P = 0.36 ml/g		L/P = 0.40 ml/g	
	Ti (min)	Tf (min)	Ti (min)	Tf (min)
1% NaH ₂ PO ₄ (PH 9.3)	16 ± 1	40 ± 1	15 ± 1	56 ± 2
2% NaH ₂ PO ₄ (PH 9.3)	10 ± 1	28 ± 1	15 ± 1	48 ± 2
1%NaH ₂ PO ₄ /NaH ₂ PO ₄ (PH 6.5)	21 ± 1	46 ± 2	26 ± 1	60 ± 2
2% NaH ₂ PO ₄ /NaH ₂ PO ₄ (PH 6.5)	15 ± 1	35 ± 1	18 ± 1	50 ± 2

2-2 RÉSISTANCE À LA COMPRESSION

Les résultats regroupés dans le tableau II permettent d'observer que la valeur de la Rc pour le rapport L/P= 0.36 est plus élevée (15 MPa) que celle obtenue avec le rapport L/P= 0.40 (12 MPa). Le liquide acide donne de meilleurs résultats que le liquide basique (20 MPa contre 15 MPa). La Rc est plus importante après 72h de prise.

Tableau II : Résistance à la compression en fonction du rapport L/P et la concentration du liquide

Liquides	L/P = 0.36 ml/g		L/P = 0.40 ml/g	
	24 H	72 H	24 H	72 H
1% NaH ₂ PO ₄ (PH 9.3)	10 ± 2	15 ± 2	8 ± 1	12 ± 2
2% NaH ₂ PO ₄ (PH 9.3)	8 ± 1	12 ± 2	6 ± 2	9 ± 2
1%NaH ₂ PO ₄ /NaH ₂ PO ₄ (PH 6.5)	15 ± 1	20 ± 2	11 ± 2	15 ± 2
2%NaH ₂ PO ₄ /NaH ₂ PO ₄ (PH 6.5)	11 ± 2	18 ± 2	8 ± 1	15 ± 1

3- DISCUSSION

Cette étude a permis d'évaluer le Temps de prise et la résistance à la compression d'un nouveau ciment de comblement osseux mis au point par Le LIOAD de Nantes (France). La phase solide de ce ciment est composée d'un mélange d' α -TCP, d'ACP, de MPCM et de granules microporeux et macroporeux de BCP (taille des grains 80- 200 microns). La phase liquide est composée de tampon de phosphates de sodium. Les propriétés étudiées étaient, le temps de prise et la résistance mécanique. Elles ont une influence significative sur les capacités régénératrices osseuses du ciment phosphocalcique [17]. Les premières évaluations du temps de prise et de la résistance à la compression de ce ciment ont donné respectivement (15 min) et (10 Mpa) [12,13,14]. Ce qui ne respectant pas ainsi le cahier de charges des CPC (Ti. inf à 15 min et RC proche de 30 Mpa).

Le but de ce travail était donc d'optimiser le temps de prise et la résistance mécanique de ce ciment. Des études précédentes ont montré que la composition de la phase liquide et le rapport L/P influencent le temps de prise et la résistance mécanique d'un CPC [15,16]. Aussi, avons-nous testé quatre types de liquide tampon de phosphate de sodium avec deux rapports L/P afin de déterminer le meilleur liquide et le rapport L/P le plus approprié.

Les résultats de notre expérimentation ont mis en évidence l'influence des paramètres suivants : le rapport liquide/poudre, la concentration du liquide et, l'état acide ou basique de la solution.

Concernant le temps de prise, les mesures ont été faites avec les aiguilles de Gillmore [18] pour se

conformer aux normes internationales et faciliter ainsi les comparaisons dans la littérature. En observant les résultats obtenus dans le tableau I, on note un temps de prise court avec le rapport L/P de 0,36 par rapport au rapport L/P de 0,40 ml/g. Il a été remarqué également que l'élévation du rapport L/P c'est-à-dire l'augmentation du liquide retarde la prise. Cela s'explique par le fait que la préparation d'un ciment nécessite une quantité bien précise de liquide. Tout excès du liquide allonge le temps de prise en maintenant le matériau à l'état pâteux plus longtemps^[48,10] ; ceci explique les temps de prise plus longs avec un rapport L/P plus élevé.

De façon générale, le temps de prise est plus court pour le liquide le plus concentré en phosphate de sodium (2%). Cette réduction du temps de prise est due à l'effet de l'ion commun (PO₄⁻) entre le liquide et la poudre. Il est à remarquer aussi que dans les mêmes proportions (2% de liquide et L/P de 0,36), le liquide basique (Na₂HPO₄) réduit considérablement le temps de prise par rapport au liquide acide (Na₂HPO₄/NaH₂PO₄). Ceci est en adéquation avec l'effet des liquides acides sur les phosphates de calcium^[19]. En effet, le liquide acide permet une forte dissolution des phosphates de calcium et par conséquent une augmentation de la formation des cristaux de CaP, allongeant ainsi le temps de prise. Le meilleur temps de prise (10 min) est obtenu avec le liquide basique à 2% et le rapport L/P de 0,36 ml/g.

Quant à la résistance à la compression, elle est élevée pour le plus faible rapport L/P (0,36). En revanche, la résistance à la compression est plus importante avec le liquide acide moins concentré (1%). Par ailleurs, la résistance à la compression du ciment évolue avec le temps. En effet, après 72h de prise, elle est plus importante qu'après 24h. Cela montre que les cristaux de CaP qui se forment continuent de croître, augmentant ainsi la résistance du ciment^[19,20]. Le milieu acide favorise la croissance des cristaux en provoquant une forte dissolution-précipitation, ce qui modifie la cinétique de la formation des cristaux, affectant ainsi, les propriétés mécaniques du ciment.

CONCLUSION

Cette étude a permis de déterminer la meilleure concentration de la phase liquide et le rapport liquide-poudre (L/P) adéquat qui optimisent le temps de prise et la résistance mécanique du ciment phosphocalcique. Le liquide basique (Na₂HPO₄) à 2%

avec le rapport L/P de 0,36 ml/g a donné le temps de prise le plus court de 10 min, tandis que le liquide acide (Na₂HPO₄/NaH₂PO₄) à 1% avec le rapport L/P de 0,36 ml/g a donné la meilleure résistance à la compression de 20 Mpa. Ce qui est conforme aux cahiers des charges des ciments phosphocalciques. Le liquide basique, en favorisant un temps de prise court, permettra un durcissement rapide du ciment phosphocalcique qui peut alors s'adapter plus facilement au défaut osseux après comblement. La bonne résistance à la compression obtenue avec le liquide acide permettra au ciment durci de résister aux contraintes mécaniques après comblement osseux. Le CPC étant commercialisé avec un seul liquide, une autre étude incluant l'évaluation de la porosité du ciment avec ces deux liquides pourrait aider à choisir le liquide idéal.

REFERENCES

1. DACULSI G. Biphasic calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitute. *Biomaterials* 1998; 19:1473-1478.
2. LEGEROS RZ. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. *Clin Orthop Relat Res* 2002 (395):81-98.
3. GUO H, SU J, WEI J, KONG H, LIU C. Biocompatibility and osteogenicity of degradable Ca-deficient hydroxyapatite scaffolds from calcium phosphate cement for bone tissue engineering. *Acta Biomater.* 2009 Jan;5(1):268-78.
4. CALAFIORI AR, DI MARCO G, MARTINO G, MAROTTA M. Preparation and characterization of calcium phosphate biomaterials. *J Mater Sci Mater Med.* 2007 Dec ; 18 (12) :2331-8.
5. KHAIROUN I., MAGNE D., DACULSI G., and al. In vitro caractérisation and in vivo properties of a carbonated apatite bone cement. *Wiley Periodicals, Inc* 2002, 60 : 632-642.
6. SMARTT Jr JM., KARMACHARYA J., GANNON FH., ONG G., JAKSON O. BARLETT SP. Repair of the immature and mature craniofacial skeleton with a carbonate calcium phosphate cement: assessment of biocompatibility, osteoconductivity, and remodelling capacity. *Plast Reconstr Surg* 2005 ; 115 (6): 1642-50.
7. GINEBRA M.P., FERNANDEZ E., BOLTONG M. G., BERMUDEZ O., PLANELL J. A., DRIESSENS F. C. M. Compliance of an apatitic calcium phosphate cement with the short term clinical requirements in bone surgery, orthopaedics and dentistry. *Clin Mater.* 1994, 17 (2) : 99-104.
8. KHAIROUN I., BOLTONG MG., DRIESSENS FCM., PLANELL JA. Effect of calcium carbonate on clinical compliance of apatitic calcium phosphate bone cements. *J Biomed. Mater. Res.* 1997, 38 (4) : 356-360.

9. TANG PF, LI G, WANG JF, ZHENG QJ, WANG Y. Development, characterization, and validation of porous carbonated hydroxyapatite bone cement. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2009 Aug ; 90 (2) : 886-93.
10. GINEBRA MP, DELGADO JA, HARR I, ALMIRALL A, DEL VALLE S, PLANELL JA. Factors affecting the structure and properties of an injectable self-setting calcium phosphate foam. *J Biomed Mater Res A.* 2007, Feb ; 80 (2) : 351-61.
11. KHAIROUN I. and al. Macroporous, resorbable and injectable calcium phosphate-based cements (MCPC) for bone repair, augmentation and regeneration, and for osteoporosis treatment. *US Provisional patent 1049-1-041 N.*, WO, 2005/077049 A2
12. JULIEN M., KHAIROUN I., RACQUEL Z., and al. Physico-chemical-mechanical and in vitro biological properties of calcium phosphate cements with doped amorphous calcium phosphates. *Biomaterials*, 2007, 28 : 956-965.
13. MOBIO S. Contribution à l'optimisation d'un Biomatérial type ciment phosphocalcique pour Application Biomédicales. *Mémoire Master « Sciences , Santé et Applications » ; Université Paris 5 ; 2005.*
14. MOBIO S., COULIBALY T., KAMAGATE A., KHAIROUN I., SOUEIDAN A. Etude comparative de la porosité et de la résistance à la compression d'un nouveau ciment phosphocalcique versus trois ciments phosphocalciques poreux. *Rev. Iv. Odonto-Stomatol*, 2010, 2 (2) : 38-43.
15. PINA S, OLHERO SM, GHEDUZZI S, MILES AW, FERREIRA JM. Influence of setting liquid composition and liquid-to-powder ratio on properties of a Mg-substituted calcium phosphate cement. *Acta Biomater.* 2009 May; 5(4) :1233-40.
16. Burguera EF, Xu HH, Sun L. Injectable calcium phosphate cement: effects of powder-to-liquid ratio and needle size. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008 Feb; 84 (2) : 493-502.
17. MOBIO S., KHAIROUN I., COULIBALY N., SOUEIDAN A. Evaluation du pouvoir ostéoconducteur d'un nouveau ciment phosphocalcique apatitique. *Rev. Col. Odonto-Stomatol. Afr. Chir. Maxillo-fac.*, 2009, 16 (3) : 14-18.
18. FERNANDEZ E., BOLTONG M. G., GINEBRA M.P., DRIESSENS F. C. M., BERMUDEZ O., PLANELL J. A. Development of a method to measure the period of swelling of calcium phosphate cements. *J Mater. Sci. Lett.* 1996, 15, 1004-1005.
19. HESARAKI S, ZAMANIAN A, MOZTARZADEH F. The influence of the acidic component of the gas-foaming porogen used in preparing an injectable porous calcium phosphate cement on its properties: acetic acid versus citric acid. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008 Jul ; 86 (1) : 208-16.
20. GINEBRA MP, DELGADO JA, HARR I, ALMIRALL A, DEL VALLE S, PLANELL JA. Factors affecting the structure and properties of an injectable self-setting calcium phosphate foam. *J Biomed Mater Res A.* 2007 Feb ; 80 (2) : 351-61.