


**RESEARCH ARTICLE**

# Assessment of Bisphenol A Release by Orthodontic Aligners : In Vitro Study

El Idrissi Intissar <sup>a</sup> , Bouchafra Houda <sup>b</sup>, Zaoui Fatima <sup>a</sup>, Cheikh Amine <sup>b</sup>, Faouzi My Abbes <sup>c</sup>, Bahije Loubna <sup>c</sup>

<sup>a</sup>Service d'orthopédie dento-faciale, faculté de médecine dentaire, Rabat, Maroc.

<sup>b</sup>Centre des études de bioéquivalence, Fondation Cheikh Zaid, Rabat, Maroc.

<sup>c</sup>Laboratory of Pharmacology and Toxicology, Biopharmaceutical and Toxicological Analysis Research Team, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed V University in Rabat, BP 6203, Rabat, Morocco.

## ABSTRACT

**Background:** In orthodontic practice, for several years we have witnessed the rise of orthodontics for adults who are particularly concerned about their appearance and who most often refuse conventional metal multi-brackets. Technological advances and new materials currently allow patients to receive orthodontic treatments with invisible devices, namely orthodontic aligners. Although the thermoplastic materials that make up these aligners are biocompatible, they are not inert; In order to protect the health of our patients, it has been proposed to demonstrate a possible release of bisphenol A (BPA) by orthodontic aligners and to determine its concentration through an in vitro study.

**Methods:** Our sample consisted of 10 new orthodontic aligners "SCHEU Dental Clear Aligner®" and 10 aged orthodontic aligners from the same supplier recovered after an average stay in the mouth of 15 days. Each aligner was immersed in 30 ml of artificial saliva. Samples were taken regularly for 2 weeks to monitor a possible release of bisphenol over time by high performance liquid chromatography (HPLC).

**Results:** Interpretation of the chromatograms of bisphenol samples in new and aged aligners did not show traces of bisphenol for up to 8 weeks.

**Conclusion:** Further research with a larger sample and a longer duration will lead to more conclusive results since current scientific data report effects at very low doses.

**KEYWORDS:** Aligners; Orthodontic Treatment; Bisphenol A.

## RESUME

**Position de problème :** Dans la pratique orthodontique, nous assistons depuis plusieurs années, à l'essor de l'orthodontie de l'adulte particulièrement soucieux de son apparence et qui refuse le plus souvent les appareils multi-attaches métalliques conventionnels. Les avancées technologiques et les nouveaux matériaux permettent actuellement d'offrir aux patients des traitements orthodontiques avec des dispositifs invisibles à savoir les aligneurs orthodontiques.

Bien que les matériaux thermoplastiques qui constituent ces aligneurs sont biocompatibles, ils ne sont pas inertes ; Ainsi dans le souci de protéger la santé de nos patients, il a été proposé de mettre en évidence une éventuelle libération du bisphénol A (BPA) par les aligneurs orthodontiques et de déterminer sa concentration à travers une étude in vitro.

**Méthodes :** Notre échantillon a été constitué de 10 aligneurs orthodontiques neufs « SCHEU Dental Clear Aligner® » et 10 aligneurs orthodontiques vieillissants du même fournisseur récupérés après un séjour en bouche d'une durée moyenne de 15 jours. Chaque aligneur a été immergé dans 30 ml de salive artificielle. Des prélèvements ont été réalisés régulièrement pendant 2 semaines pour suivre un éventuel relargage du bisphénol dans le temps par la chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP).

**Résultats :** L'interprétation des chromatogrammes des prélèvements du bisphénol dans les échantillons des aligneurs neufs et vieillissants n'ont pas montré de traces de bisphénol jusqu'à 8 semaines.

**Conclusion :** Des recherches plus poussées avec un échantillon plus large et une durée plus longue permettront de tirer des résultats plus concluants puisque les données actuelles de la science rapportent des effets à très faible dose.

**KEYWORDS:** Aligneurs ,Traitement Orthodontique, Bisphenol A.

**Correspondence:** Dr EL Idrissi Intissar, Faculté de médecine dentaire, BP 6212 Madinat Al Irfane, Rabat, Maroc : . Email: [elidrissi.intissar@gmail.com](mailto:elidrissi.intissar@gmail.com)

**Copyright © 2020 El Idrissi I et al.** This is an open access article distributed under the [Creative Commons Attribution 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## INTRODUCTION

Dans notre pratique orthodontique, nous assistons depuis plusieurs années, à l'essor de l'orthodontie de l'adulte particulièrement soucieux de son apparence au cours du traitement et qui refuse le plus souvent les appareils multi-attaches métalliques conventionnels pour des raisons esthétiques, sociales ou professionnelles. Les avancées technologiques et les nouveaux matériaux permettent actuellement d'offrir aux patients des traitements orthodontiques avec des dispositifs esthétiques, discrets voire totalement invisibles à savoir les aligneurs orthodontiques.

L'aligneur est une gouttière transparente fabriquée à partir d'une feuille de plastique thermoformable qui, chimiquement parlant, est un polymère (polypropylène, polyéthylène, polyuréthane, ...). Ce dispositif, à visée orthodontique, permet de déplacer les dents par des mouvements dento-alvéolaires suite au changement successif de gouttières transparentes thermoformées.

Maîtriser ces outils et leur biomécanique est indispensable au succès de nos traitements des malocclusions et des défauts d'alignement dentaire. Un aligneur est capable d'engendrer un mouvement dentaire et cela grâce à deux approches différentes :

- L'approche dite des déplacements dirigés
- L'approche dite des forces dirigées

Dans la première approche, l'aligneur est conçu selon l'emplacement de la dent après le mouvement désiré. Ainsi, à partir de l'instant de pose de l'aligneur, la dent se déplace graduellement jusqu'à atteindre la position imprimée dans l'aligneur.

Dans la seconde approche, l'aligneur est conçu de sorte à émettre une force pure ou un système de forces spécifiques dans le but de déplacer une dent ou un bloc dentaire. Des logiciels, permettant d'ajouter des auxiliaires à l'aligneur afin d'augmenter l'efficacité du déplacement dentaire et contrôler les mouvements, peuvent être utilisés.

La majorité des systèmes d'aligneurs combinent les deux approches mais de façon différente.

L'efficacité des aligneurs repose essentiellement sur la compliance du patient mais également sur la capacité du praticien à poser la bonne indication et gérer la biomécanique du traitement.

Plusieurs systèmes existent sur le marché et qui diffèrent selon leurs conceptions, les procédés de fabrication et les étapes de traitement, avec le même objectif : offrir plus de confort, d'esthétique et de meilleures conditions pour assurer une hygiène orale optimale.

Ces aligneurs doivent être portés en permanence, et changés tous les 14 jours, pendant cette période l'aligneur est exposé continuellement aux enzymes salivaires, aux liquides ingérés, à l'air inhalé et au traumatisme causé par la phonation et le bruxisme.

Bien que les matériaux thermoplastiques qui constituent ces aligneurs sont biocompatibles, ils ne sont pas inertes ; plusieurs études ont démontré leur sensibilité à la chaleur, à l'humidité et au contact prolongé avec les enzymes salivaires qui peuvent modifier ou altérer leurs propriétés mécaniques et/ou chimiques et par conséquent compromettre l'efficacité du traitement par aligneurs

orthodontiques. Ainsi dans le souci de protéger la santé de nos patients, il a été proposé de mettre en évidence une éventuelle libération du bisphénol A (BPA) par les aligneurs orthodontiques et de déterminer sa concentration à travers une étude in vitro.

Le bisphénol A (BPA) est une substance synthétique couramment utilisée depuis plus de 50 ans dans plusieurs applications industrielles grâce à ses différentes propriétés à savoir : sa clarté, sa dureté, sa transparence, et sa résistance à la chaleur et aux chocs. Ses deux principales utilisations sont la fabrication des plastiques polycarbonates et des résines époxydes. En médecine dentaire et en orthodontie, le bisphénol A est utilisé dans la fabrication des monomères des composites orthodontiques ainsi que dans la production de la matrice polycarbonate de nombreux brackets en plastique et des gouttières orthodontiques.

Plusieurs études ont été menées sur les effets du BPA sur la santé générale ; Le BPA a été associé à l'obésité, le diabète, les maladies cardiovasculaires, les cancers hormono-sensibles, les déficiences liées à la prostate et à la thyroïde et les déficiences liées au développement neurologique. Ces effets varient avec la dose et le moment de l'exposition ; les fœtus et les nouveau-nés sont considérés comme étant les plus vulnérables.

En ce qui concerne la santé bucco-dentaire, différentes études (sur les rats) mettent en évidence une association entre une exposition périnatale au BPA et le MIH.

Le présent travail décrit une méthode simple et rapide pour l'analyse du BPA dans la salive artificielle. L'HPLC avec un détecteur de fluorescence a été utilisé comme méthode analytique pour quantifier la plus faible concentration de BPA dans la salive artificielle cette méthode est validée en assurant les critères de la linéarité, de la fidélité et de la justesse. Le but de cette étude était de chercher si les aligneurs orthodontiques libèrent le BPA dans la salive artificielle ou non. (1) (2) (3) (4) (5)

## MATERIELS ET METHODES

### Echantillon des aligneurs

Notre échantillon a été constitué de 10 aligneurs orthodontiques neufs « SCHEU Dental Clear Aligner® » et 10 aligneurs orthodontiques vieillis du même fournisseur récupérés après un séjour en bouche d'une durée moyenne de 15 jours. Chaque aligneur a été immergé dans 30 ml de salive artificielle.

### Composition de la salive artificielle

Cette salive artificielle a été préparée suivant la formule décrite par Preetha (6) (Figure 1), les constituants ont été mélangés avec 1000 ml d'eau distillée puis agités pendant 8 h. La préparation était conservée dans une étuve à 37°. (Figure 2)

Artificial saliva Components
Xanthan gum
Sodium carboxymethylcellulose
Potassium chloride
Sodium chloride
Magnesium chloride
Calcium chloride
Di-potassium hydrogen orthophosphate
Potassium di-hydrogen orthophosphate
Sodium fluoride
Sorbitol
Methyl p-hydroxybenzoate
Spirit of lemon
N – Not present

**Figure 1** : Composition de la salive artificielle « Saliveze »

### Réactifs et standards

Le bisphénol (pureté > 99%), l'acétonitrile, et le méthanol sont de qualité HPLC et acheté chez Sigma Aldrich, France

### Appareillages

Le dosage du Bisphénol A est réalisé par chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC de marque Waters (2695) et une détection par fluorescence.

### Conditions chromatographiques

Colonne : Phenomenex 150 mm, (2mm, 4µm)

Phase mobile : H<sub>2</sub>O (62%) / Acétonitrile (38%)

Température de la colonne : 35°C

Température de l'échantillon : 25°C

La longueur d'onde d'excitation est de 230 nm et d'émission de 316 nm.

Le débit est de 0,5 mL/min

Le volume injecté est de 20 µl

### Conditions d'extraction

A 1 mL de salive artificielle (dans laquelle l'aligneur a été immergé), on rajoute 1 mL d'acétonitrile, le mélange est bien vortexé pendant 2 min, après on centrifuge le tout pendant 10 min à 3000 tours/min. le surnageant est récupéré et filtré sur un filtre de diamètre de 0.2 µm et ensuite mis dans les vials d'HPLC pour injection.

### Validation de la méthode

#### Préparation de la gamme d'étalonnage

Le Bisphénol est dissous dans le méthanol à la concentration de 1 mg/mL.

A partir de cette solution mère on réalise des dilutions successives dans de la salive artificielle pour préparer une gamme d'étalonnage allant de 0,023 µg/mL à 1,5 µg/mL

#### Les standards de répétabilité

L'étude de la répétabilité est réalisée sur cinq préparations indépendantes de la concentration de 0,5 µg/ml avec le même opérateur le même jour sur le même appareil.

#### Les standards de la fidélité intermédiaire

L'étude de la fidélité intermédiaire est réalisée sur cinq préparations indépendantes de la concentration de 0,5 µg/ml avec le même opérateur avec trois différentes séries sur trois jours.

### Protocole de la préparation des échantillons à tester

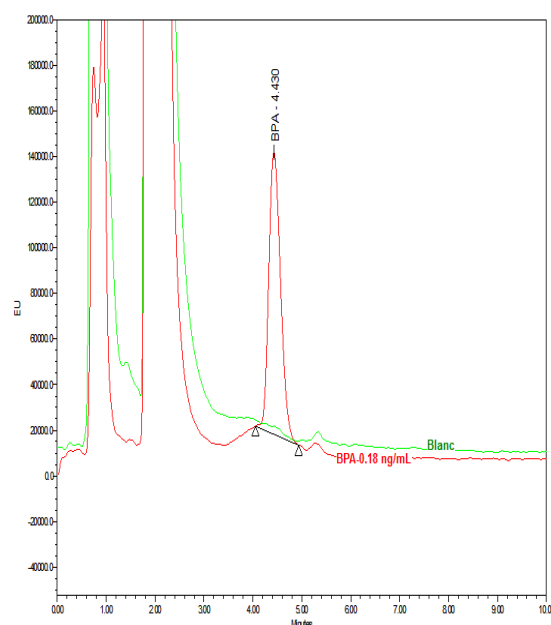
Les aligneurs orthodontiques sont confectionnés par thermoformage de la plaque de plastique thermoformable sur des modèles imprimés en 3D. Ces modèles sont obtenus à l'aide d'un scanner intra-oral des arcades dentaires du patient. Une étape de nettoyage et polissage des gouttières a été réalisé avant de passer à l'étape d'immersion de chaque aligneur dans 30 ml de salive artificielle pendant 15 jours.

## RESULTS

### Résultats de la validation de la méthode

#### Spécificité

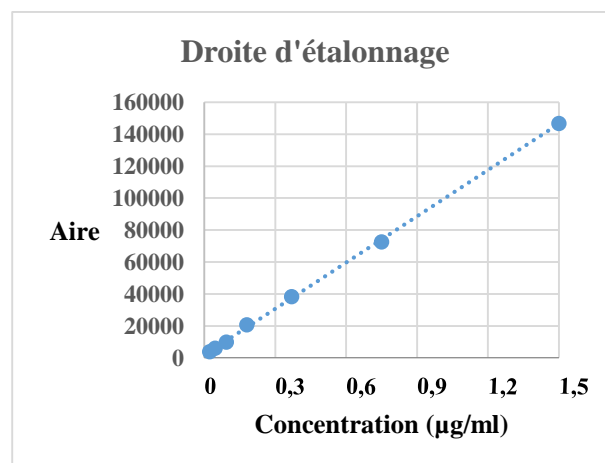
La figure 3 montre l'absence d'une interférence au même temps de rétention du BPA dans le Blanc on peut dire que la méthode est spécifique pour le dosage du BPA dans la salive artificielle.



**Figure2** : Chromatogramme type de la spécificité de la méthode

#### Linéarité

La linéarité est étudiée sur un intervalle de dosage de 0,023 µg/ml jusqu'à 1,5 µg/ml avec trois séries différentes. Les paramètres de la courbe d'étalonnage (figure 4) sont résumés dans le tableau 1.



**Figure 3** : Droite d'étalonnage

**Tableau 1 :** Paramètre de la linéarité

<b>Droite d'étalonnage</b>	96,5x +1707
<b>Coefficient de corrélation</b>	0,999

**Fidélité****Répétabilité****Tableau 2 :** résultats de répétabilité

Séries	Essai	Quantité introduite (µg/ml)	Quantité retrouvée	% de Recouvrement
1	1/1	0,5000	0,5355	107,09
	2/1	0,5000	0,5482	109,65
	3/1	0,5000	0,5534	110,67
	4/1	0,5000	0,5479	109,59
	5/1	0,5000	0,5117	102,34

Coefficient de variation de répétabilité	CVr (%)	3,11
--	---------	------

**Fidélité intermédiaire****Tableau 3 :** résultats de fidélité intermédiaire

Séries	Essai	Quantité introduite (µg/ml)	Quantité retrouvée	R% de Recouvrement
1	1/1	0,5000	0,5239	104,79
	2/1	0,5000	0,5663	113,26
	3/1	0,5000	0,5123	102,47
	4/1	0,5000	0,5163	103,25
	5/1	0,5000	0,5087	101,75
2	1/2	0,5000	0,5355	107,09
	2/2	0,5000	0,5482	109,65
	3/2	0,5000	0,5534	110,67
	4/2	0,5000	0,5479	109,59
	5/2	0,5000	0,5117	102,34
3	1/3	0,5000	0,5225	104,50
	2/3	0,5000	0,5310	106,19
	3/3	0,5000	0,5396	107,93
	4/3	0,5000	0,5366	107,32
	5/3	0,5000	0,5414	108,29

Coefficient de variation de la fidélité intermédiaire	CVr(%)	3,37
---	--------	------

**Justesse**

La justesse de la méthode est étudiée sur la concentration de 0,5µg/mL. Nous avons obtenu un intervalle de recouvrement moyen de [104,69-108,31].

**Tableau 4 :** résultat de la justesse

ICRm	
Min	Max
104,69	108,31

- **Limite de quantification (LOQ)**

La limite de quantification est déterminée comme la plus faible quantité de bisphénol dans la salive quantifiée avec un CV<5%

La limite de quantification est de 0,023 µg/ml

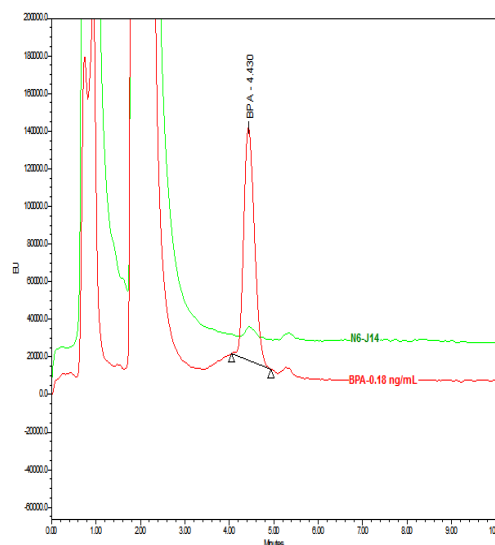
**\* Pourcentage de rendement**

Le pourcentage de rendement du bisphénol à partir de la salive est >70% avec un CV<5%

A travers ces résultats on peut dire que la méthode de dosage du bisphénol dans la salive est validée.

**Résultats du dosage du BPA dans la salive artificielle contenant les aligneurs**

L'interprétation des chromatogrammes des prélèvements du bisphénol dans les échantillons des aligneurs neufs et vieilliss n'ont pas montré de traces de bisphénol jusqu'à 8 semaines

**Figure 4 :** Chromatogrammes du standard à 0.018 µg/ml et de l'aligneur à 14 j dans la salive**DISCUSSION**

La molécule de bisphénol A (BPA) est un perturbateur endocrinien qui a des similitudes avec le β-œstradiol, et donc peut se lier à son récepteur. (7)

L'exposition humaine au BPA peut se produire par de multiples voies d'exposition, principalement par ingestion à partir des aliments et des boissons contenus dans des emballages plastiques par diffusion du contenant vers le contenu, mais également par l'inhalation et l'exposition cutanée. (3)

Les taux de BPA observés dans l'environnement n'atteignent pas, cependant, les doses considérées comme toxiques. La dose journalière tolérable a été fixée à 4µg/kg de poids corporel /jour selon l'EFSA en 2015 (European Food Safety Authority). Toutefois, de nombreuses données expérimentales, in vitro et in vivo, suggèrent qu'une exposition chronique à de « faibles doses » de BPA, de type environnemental, peuvent perturber les régulations physiologiques et déréguler divers systèmes. (7)

En odontologie, de nombreux biomatériaux sont fabriqués à partir de dérivés du BPA, notamment les monomères méthacrylates constituant les résines composites et certains adhésifs, certains ciments verres ionomères modifiés par adjonction de résine, certains sealants, ou

encore les résines époxy de certains ciments endodontiques. (4)

Pour cela, il a été décidé d'investiguer une éventuelle libération du bisphénol A (BPA) par les aligneurs orthodontiques que nous utilisons « SCHEU Dental Clear Aligner® » avant et après utilisation en bouche. Les chromatogrammes obtenus du dosage du bisphénol A dans la salive artificielle dans laquelle nos aligneurs ont été immergés pendant 15 jours, ont montré une absence quasi totale de relargage du bisphénol A pour tous les échantillons neufs et vieilliss.

Plusieurs études ont confirmé ces propos, Eliades et al ont étudié la cytotoxicité des aligneurs Invisalign sur des fibroblastes gingivaux humains et leur œstrogénicité en mesurant leur effet sur la prolifération des cellules de cancer du sein MCF-7 sensibles aux œstrogènes, et ont conclu que l'utilisation des aligneurs Invisalign ne semblait pas induire une cytotoxicité ni d'effets œstrogéniques dans les conditions expérimentales de cette étude. (8)

Dans l'étude de Premaraj et al les cellules épithéliales orales ont été exposées à l'éluât obtenu par trempage des aligneurs Invisalign dans une solution saline ou de la salive artificielle pendant 2, 4 et 8 semaines. Les cellules cultivées dans la solution saline se sont détachées des plaques de culture et ont montré une augmentation significative de l'inactivité métabolique ainsi que des morts cellulaires (p 0,05). Quant aux cellules cultivées dans la salive aucun changement significatif de la viabilité cellulaire n'a été remarqué. (9)

Shuster et al ont procédé à la caractérisation qualitative et quantitative des substances relarguées après vieillissement accéléré des aligneurs Invisalign in vitro. Pour cela, un échantillon constitué d'aligneurs neufs et utilisés a été soumis à un vieillissement artificiel pendant 2 semaines, et analysé par chromatographie en phase gazeuse avec une spectroscopie de masse.

Il a été constaté que ces aligneurs ne libéraient aucune quantité décelable de substances dans une solution de vieillissement à l'éthanol. (10)

## REFERENCES

- [1] Pascal BARON, Les appareils orthodontiques invisibles et presque invisibles Orthod Fr 2014;85:59-91
- [2] Abdelali HALIMI, Hicham BENYAHIA, Loubna BAHJE, Hanane ADLI, Mohamed-Fauzi AZEROUAL, Fatima ZAOUI
- [3] Ellen M Wells, Bisphenol A, Encyclopedia of Environmental Health, 2nd Edition, 2019, Pages 424-428. Etude systématique de la libération du bisphénol : A par les matériaux orthodontiques et ses effets biologiques, International Orthodontics 2016 ; X : 1-19.
- [4] Lieven robberecht, Le bisphénol a en odontologie, Biomateriaux cliniques vol. 1 - n° 2 octobre 2016.
- [5] Jedeon K, De la Dure-Molla M, Brookes SJ, Loiodice S, Marciano C, Kirkham J et al. Enamel defects reflect perinatal exposure to bisphenol A, Am J Pathol 2013;183(1):108-18.
- [6] A. Preetha and R. Banerjee, Comparison of Artificial Saliva Substitutes, Trends Biomater. Artif. Organs, Vol 18 (2), January 2005.

Kotyk et al ont mesuré le taux de BPA libéré à partir des matériaux orthodontiques (un composite orthodontique photo-polymérisable et une gouttière orthodontique), les échantillons de ces matériaux ont été soumis à une abrasion intraorale simulée, à une immersion dans la salive artificielle pendant 2 semaines, et au choc thermique via des cycles de température. Cette étude a objectivé la libération des quantités quantifiables de BPA à partir du composite orthodontique (2,75 mg/g de matériau), et de la gouttière (7,63 mg/g). Le relargage de BPA n'a été observé que dans les 3 premiers jours de l'immersion dans la salive artificielle, et les quantités relarguées ont été bien inférieures à la dose journalière tolérable. (11)

## CONCLUSION

Dans les conditions expérimentales de notre étude, on a noté une absence de relargage du BPA à partir des aligneurs. Cependant, des recherches plus poussées avec un échantillon plus large et une durée plus longue permettront de tirer des résultats plus concluants puisque les données actuelles de la science rapportent des effets à très faible dose.

## CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

La participation de chaque auteur correspond aux critères de paternité et de contribution soulignés dans les [Recommandations pour la conduite, la rédaction, la rédaction et la publication de travaux universitaires dans les revues médicales du Comité international des rédacteurs de revues médicales](#). En effet, tous les auteurs ont participé activement à la rédaction, à la révision du manuscrit et ont donné leur approbation à cette version finale révisée.

## DECLARATION DE LIENS D'INTERETS

Les auteurs déclarent ne pas avoir des conflits d'intérêts vis-à-vis des marques d'aligneurs.

## SOURCES DE FINANCEMENT

Aucun.

- [7] J.-L. Schlienger, Impact métabolique de l'exposition au bisphénol A : état des lieux. Médecine des maladies Métaboliques Volume 8, n° 3 pages 340-345 (juin 2014).
- [8] Theodore Eliades, Harris Pratsinis, Athanasios E. Athanasiou, George Eliades, and Dimitris Kletsas. Cytotoxicity and estrogenicity of Invisalign appliances. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, Volume 136, Number 1
- [9] Thyagaseely Premaraj, Samantha Simet, Mark Beatty, and Sundaralingam Premaraj Oral epithelial cell reaction after exposure to Invisalign plastic material. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics January 2014, Vol 145, Issue 1
- [10] Susan Schuster, George Eliades, Spiros Zinelis, Theodore Eliades, and T. Gerard Bradley. Structural conformation and leaching from in vitro aged and retrieved Invisalign appliances. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, December 2004.
- [11] Matthew W. Kotyk, William A. Wiltshire. An investigation into bisphenol-A leaching from orthodontic materials. Angle Orthodontist, Vol 84, No 3, 2014.