**LES TESTS BIOLOGIQUES**

**Chronologie**

Il existe une chronologie des tests réalisés

* Essais primaires

Essais d’hydrolyse (***in vitro***)

Essais de cytotoxicité **(*in vitro*)**

* Essais secondaires

Essais d’irritation muqueuse (***in vivo***)

Essais d’irritation cutanée (***in vivo***)

Essais de sensibilisation (***in vivo***)

Essais d’implantation (***in vivo***)

* Essais d’utilisation chez l’animal, dans les conditions normales d’utilisation du biomatériau
* Essais cliniques chez l’homme.

**Corrélation tests primaires-tests secondaires**

Du point de vue éthique, une bonne corrélation entre les tests primaires et secondaire est souhaitable. Elle permet de diminuer le nombre d’animaux sacrifié car seuls les produits ayant passé avec succès les tests primaires sont soumis aux tests secondaires. Elle permet aussi d’éviter les faux positifs et les faux négatifs.

Du point de vue financier, une bonne corrélation est aussi souhaitable car les tests secondaires sont longs et onéreux et doivent être réservés aux biomatériaux prometteurs.

**Avantages et inconvénients des tests *in vitro* et des tests *in vivo***

**Les tests *in vitro***

**Avantages**

Plus rapides que les tests *in vivo*

Moins onéreux

Reproductibles

Les tests *in vitro* permettant d’évaluer séparément les effets biologiques de chacun des composants du matériau.

**Inconvénients**

Ils n’ont que peu de rapport avec la clinique

Ils sont trop sensibles

**Les tests *in vivo***

**Avantages**

* Ils sont beaucoup plus proches de la clinique
* Ils permettent d’évaluer les effets d’un matériau sur des organes loin de l’organe cible.
* Ils permettent d’évaluer la toxicité des métabolites. Un matériau peut en effet se révéler biocompatible alors que ses produits de dégradation, une fois métabolisés par l’organisme se révèlent dangereux.
* L’interprétation des résultats est parfois plus facile car le rapport avec la clinique est souvent plus évident.

**Inconvénients**

* Les tests réalisés sur des animaux de laboratoire (deux espèces de mammifères) peuvent ne pas avoir de rapport avec l’espèce humaine
* L’effet néfaste peut passer inaperçu s’il est non recherché donc non évalué
* Timing incorrect de l’essai (l’effet délétère se manifeste après les périodes d’observation) l’évaluation et l’interprétation des résultats peut être difficile

**La norme ISO 10-993**

La norme ISO concernant l’évaluation biologique des dispositifs médicaux est la norme 10-993 qui annule et remplace les anciennes normes nationales de biocompatibilités (AFNOR, BSI, DIN). Son but avoué est la protection des êtres humains et celle des animaux.

* **LES TESTS PRIMAIRES**

**1. TEST DE CYTOTOXICITÉ**

Le matériau est mis en contact avec les cellules cibles puis leur viabilité est évaluée.

Il faut se poser trois questions pour juger de la validité du test de cytotoxicité :

● Quelles cellules cibles choisir ?

● Quel critère choisir pour évaluer la viabilité cellulaire ?

●Le mode de mise en présence des cellules et du matériau est-il judicieux ?

**1.1. Les cellules cibles**

Deux grandes possibilités existent :

● **Les lignées cellulaires établies** qui n'ont rien à voir avec les cellules cibles rencontrées en clinique. Par contre elles sont faciles à cultiver et sont disponibles partout dans le monde. Les plus connues sont les fibroblastes cancéreux de poumon de souris L 929.

● **Les cellules de culture primaire** qui ont l'avantage d'être plus proches de la cellule cible : fibroblastes pulpaires, gingivaux. Ces cellules présentent comme inconvénient d’avoir une durée de vie limitée car elles se dédifférencient après quelques multiplications.

**1.2. Les critères d’évaluation de la cytotoxicité**

● **Test de toxicité basale**, valable sur toutes les cellules. Il répond à la question : la cellule est elle vivante ou non (Exemple : bleu trypan), ou mieux : la cellule est vivante mais ses fonctions cellulaires sont elles intactes ? (Exemple : étude de la fonction mitochondriale par le test du MTT)

**1.3. Les différents tests**

● **Les tests de contact direct**

Le matériau est mis en place à l’aide d’une colle biologique au fond d’une boite de culture cellulaire. Des cellules en suspension dans du milieu de culture sont alors ensemencées dans la boite. Les cellules cibles adhérent alors au fond de la boite et après un temps donné, la distance qui sépare les cellules du matériau est mesurée, les cellules venant au contact du matériau s’il est non toxique alors qu’elles en restent éloignées s’il libère des produits cytotoxiques.

Il peut y avoir l’existence d’une zone d’inhibition entre les cellules et le biomatériau montrant une certaine cytotoxicité.

● **Surimposition de gélose (agarose)**

Les cellules sont ensemencées au fond d’une boîte de culture. Le milieu de culture est remplacé par de l’agarose. Après gélification de l’agarose sur les cellules, le matériau à tester est disposé à la surface de la gélose durcie et le tout est remis à l’étuve pendant 24 h.

Les produits cytotoxiques libérés par le matériau diffusent à travers l’agarose pour atteindre les cellules cibles.

● **Interposition de dentine naturelle**

Une tranche de dentine coupée avec une scie diamantée est interposée entre les cellules cibles et le matériau à tester. Le matériau est mis en place sur la dentine en suivant les recommandations du fabricant.

* **LES TESTS SECONDAIRES**

**1. ESSAI DE SENSIBILISATION**

Le test de référence est le Guinea Pig Maximization Test (GPMT) réalisé sur des cochons d’inde. Les animaux sont mis 2 fois en contact avec le biomatériau à 15 jours d’intervalle. La peau est observée à 24, 48 et 72 heures et la réaction cutanée évaluée selon un tableau permettant de la classer en 5 grades. L’animal n’est pas sacrifié et il n’y a aucune évaluation histologique des résultats.

* **LES ESSAIS D’UTILISATION (DE BIOFONCTIONNALITÉ)**

Lors des essais d’utilisation, les matériaux sont utilisés chez l’animal dans les conditions réelles de mise en place et de fonction. Ils ne sont pas obligatoires et restent sous la responsabilité du fabricant qui doit décider ou non de la nécessité de sacrifier des animaux de laboratoires. Il peut s’agir par exemple de tester un matériau de restauration coronaire en obturant des cavités de classe V chez le singe, ou bien de tester un matériau endodontique en faisant un traitement canalaire complet chez le singe ou le chien.

Ces essais sont peu nombreux car ils sont onéreux, et difficiles à justifier quand un fabricant propose un nouveau matériau qui ressemble comme deux gouttes d’eau à un matériau déjà existant.

* **LES ESSAIS CLINIQUES**

Ils sont réalisés chez l’homme après avis du comité départemental d’éthique. Ils sont initiés par un « promoteur », réalisés en clinique par un « investigateur » et les résultats sont vérifiés par un « moniteur » indépendant.

**Références :**

* Camps, J. (2009). Notions de biocompatibilité. *SFBD Dentaires*.
* AFNOR, N. 30993-5-ISO 10993-5: Evaluation biologique des dispositifs médicaux.