



Source : Alhades

Pré-incubation des épidermes

## Tests d'irritation *in vitro* : une avancée pour l'éthique animale

Justine Michelat  
et Isa-Laure Dalissier  
du laboratoire Alhades

Fort de son expérience dans la réalisation de tests d'irritation *in vitro* soumis à l'inspection de l'ANSM, Alhades élargit la réalisation de ces tests au secteur des dispositifs médicaux. Ces essais réalisés selon l'ISO 10993-23 permettent d'envisager le remplacement des essais *in vivo* sur animaux.

L'évaluation des risques biologiques s'intègre dans le processus de gestion des risques qui doit permettre d'identifier les dangers biologiques, de les estimer et de les évaluer au regard des bénéfices attendus et apportés par le dispositif. La première étape de ce processus nécessite de réunir toutes les informations relatives aux constituants chimiques et d'évaluer les résultats obtenus sur le plan toxicologique. Des essais biologiques supplémentaires sont souvent nécessaires et la réalisation de tests *in vitro* validés pour les dispositifs médicaux est fortement recommandée comme alternative aux tests *in vivo*. Il est en effet rappelé que l'un des objectifs de la série de normes ISO 10993 est de limiter les essais *in vivo* lorsque cela est possible.

Ce principe s'appuie sur la règle des 3R ("Reduce", "Refine", "Replace") élaborée en 1959, qui constitue le fondement de la démarche éthique appliquée à

l'expérimentation animale en Europe et en Amérique du Nord. L'ISO 10993-2 adopte ce principe des 3R et spécifie les exigences minimales à satisfaire pour garantir et démontrer que des dispositions appropriées ont été prises afin de limiter au maximum la douleur et la détresse des animaux. C'est avec cet objectif que la norme ISO 10993-23:2021 a été publiée. Etant harmonisée au sens du Règlement UE 2017/745 du 5 avril 2017, cette norme permet de se conformer aux « Exigences Générales de Sécurité et de Performance » de ce dernier.

### Évaluer le risque patient via la viabilité cellulaire des épidermes

Les essais d'irritation permettent d'identifier les dispositifs médicaux, matériaux et/ou leurs extraits qui peuvent présenter pour l'homme des risques d'irritation de la peau et/ou des muqueuses. Ils

fournissent une évaluation de la réponse locale des tissus inflammatoires après un contact direct ou indirect avec un dispositif médical ou un extrait de celui-ci.

À l'heure actuelle, plusieurs modèles d'épidermes humains reconstruits *in vitro* (RhE) sont validés pour les essais d'irritation cutanée des produits chimiques. Seuls deux de ces modèles sont validés pour les essais d'irritation sur des extraits de dispositifs médicaux solides : SkinEthic RHE de EpiSkin et EpiDerm EPI-200 de MatTek.

Ces épidermes humains sont reconstruits *in vitro* sur un insert, à partir de kératinocytes d'épiderme humain mis en culture dans des conditions permettant de reproduire un modèle tridimensionnel d'épiderme humain, possédant les mêmes propriétés physiques et fonctionnelles que la peau humaine.

Ces tests d'irritation *in vitro* commencent par la préparation d'extraits de dispositifs médicaux polaires et non polaires conformément à la norme ISO 10993-12 : 2021. Les conditions d'extraction (durée, température, rapport d'extraction) sont déterminées en fonction du dispositif médical à tester et du temps de contact avec le patient. Des contrôles négatifs et positifs, bien connus et traités dans les mêmes conditions que les dispositifs médicaux à l'essai, sont inclus afin de pouvoir comparer les résultats des essais aux contrôles et valider les essais. Chaque condition est réalisée en triplicata.

Après une période de pré-incubation des épidermes, les extraits et contrôles sont appliqués à la surface des épidermes et les inserts sont incubés pour une durée de 18 ou 24 heures (selon le modèle). Au cours de cette période, les éventuelles molécules chimiques irritantes vont induire une réaction inflammatoire au niveau des épidermes.

Les RhE sont ensuite rincés, dans le but de stopper l'exposition aux échantillons d'essai. Afin d'évaluer la viabilité cellulaire des épidermes, ces derniers sont mis en contact avec une solution de révélation jaune de MTT pendant 3 heures. Pendant ce temps, les déshydrogénases mitochondriales des cellules vivantes des épidermes vont réduire le MTT et le convertir en cristaux de formazan bleus violets. L'intensité de la coloration sera donc proportionnelle au nombre de cellules vivantes.

Les cristaux de formazan sont ensuite extraits dans l'isopropanol et la densité optique des solutions ainsi obtenues est lue avec un spectrophotomètre à la longueur d'onde de 570 nm. De cette manière, le test évalue quantitativement la viabilité cellulaire dans les épidermes traités. Le pourcentage de réduction de viabilité par rapport au témoin négatif permet de conclure sur le potentiel d'irritation du dispositif médical (non irritant ou irritant).

### Nouveaux modèles *in vitro* à venir ?

Aujourd'hui, d'autres modèles *in vitro* pour les muqueuses spécifiques sont validés pour les produits chimiques. À mesure que le marché des dispositifs médicaux se développe, l'intérêt vis à vis des alternatives de tests *in vitro* pour évaluer la sécurité des dispositifs augmente. Nous pouvons donc espérer que ces modèles soient validés pour les dispositifs médicaux dans les années à venir. *eg*

[www.albhades.com](http://www.albhades.com)



Source : Albhades

**Justine Michelat, pharmacien toxicologue chez Albhades**



Source : Albhades

**Isa-Laure Dalissier, Chargée de projet Sénior Développement des Produits de Santé / Biologie chez Albhades**

### DeviceMed INFO

Albhades se distingue par sa combinaison d'expertises en :

- consulting,
- physico-chimie,
- microbiologie,
- biologie cellulaire.

# POSITIVE COATING

VOTRE PARTENAIRE DANS LES TRAITEMENTS PVD ET ALD DE HAUTE QUALITÉ



SOLUTIONS SUR MESURE DE FILMS PVD ET ALD ULTRAMINCES DESTINÉS AUX DISPOSITIFS MÉDICAUX

ENCAPSULATION  
CODIFICATION  
CONDUCTION

**POSITIVE COATING SA**

Rue des Champs 12

2300 La Chaux-de-Fonds – Suisse

T. +41 (0) 32 924 54 54

[info@positivecoating.ch](mailto:info@positivecoating.ch)

[www.positivecoating.ch](http://www.positivecoating.ch)