

PROJET DE NORME INTERNATIONALE

ISO/DIS 3990

ISO/TC 106

Secrétariat: SCC

Début de vote:
2022-04-14

Vote clos le:
2022-07-07

Médecine bucco-dentaire — Évaluation de l'activité antibactérienne des matériaux de restauration dentaire, ciments de scellement, produits de comblement des fissures et matériaux de collage ou de scellement orthodontiques

Dentistry — Evaluation of antibacterial activity of dental restorative materials, luting cements, fissure sealants and orthodontic bonding or luting materials

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ICS: 11.060.10

ISO/FDIS 3990

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/0da61e6a-b51e-4581-8403-bd8e87013371/iso-fdis-3990>

Le présent document est distribué tel qu'il est parvenu du secrétariat du comité.

CE DOCUMENT EST UN PROJET DIFFUSÉ POUR OBSERVATIONS ET APPROBATION. IL EST DONC SUSCEPTIBLE DE MODIFICATION ET NE PEUT ÊTRE CITÉ COMME NORME INTERNATIONALE AVANT SA PUBLICATION EN TANT QUE TELLE.

OUTRE LE FAIT D'ÊTRE EXAMINÉS POUR ÉTABLIR S'ILS SONT ACCEPTABLES À DES FINS INDUSTRIELLES, TECHNOLOGIQUES ET COMMERCIALES, AINSI QUE DU POINT DE VUE DES UTILISATEURS, LES PROJETS DE NORMES INTERNATIONALES DOIVENT PARFOIS ÊTRE CONSIDÉRÉS DU POINT DE VUE DE LEUR POSSIBILITÉ DE DEVENIR DES NORMES POUVANT SERVIR DE RÉFÉRENCE DANS LA RÉGLEMENTATION NATIONALE.

LES DESTINATAIRES DU PRÉSENT PROJET SONT INVITÉS À PRÉSENTER, AVEC LEURS OBSERVATIONS, NOTIFICATION DES DROITS DE PROPRIÉTÉ DONT ILS AURAIENT ÉVENTUELLEMENT CONNAISSANCE ET À FOURNIR UNE DOCUMENTATION EXPLICATIVE.

TRAITEMENT PARALLÈLE ISO/CEN



Numéro de référence
ISO/DIS 3990:2022(F)

© ISO 2022

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO/FDIS 3990

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/0da61e6a-b51e-4581-8403-bd8e87013371/iso-fdis-3990>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2022

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +41 22 749 01 11
E-mail: copyright@iso.org
Web: www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction.....	v
1 Domaine d'application.....	1
2 Références normatives.....	1
3 Termes et définitions	2
4 Exigences	2
4.1 Généralités.....	2
4.2 Extrait.....	3
4.3 Contact direct.....	3
5 Préparation de l'échantillon et du matériau de contrôle.....	3
5.1 Généralités.....	3
5.2 Recommandations générales pour la préparation des échantillons.....	4
5.3 Recommandations spécifiques pour les matériaux photopolymérisables	4
5.4 Recommandations spécifiques pour les matériaux à polymérisation chimique	5
5.5 Recommandations spécifiques pour les matériaux de CFAO fraisés ou produits par fabrication soustractive	6
5.6 Préparation des extraits liquides de matériau.....	6
5.6.1 Principes d'extraction.....	6
5.6.2 Milieu d'extraction	6
5.6.3 Conditions d'extraction	7
5.6.4 Cycles d'élu­tion consécutifs.....	7
5.7 Préparation des matériaux pour les essais en contact direct	8
5.7.1 Forme des échantillons	8
5.7.2 Principes des essais par contact direct.....	8
5.7.3 Stérilité des échantillons	9
6 Souches bactériennes, bouillons nutritifs et préparation des cultures bactériennes.....	9
7 Modes opératoires d'essai.....	10
7.1 Généralités.....	10
7.2 Essais sur extraits.....	10
7.2.1 Essais sur extraits vis-à-vis des cultures bactériennes planctoniques.....	10
7.2.2 Essais sur extraits vis-à-vis des biofilms bactériens.....	11
7.3 Essai par contact direct	13
7.3.1 Essai par contact direct vis-à-vis des cultures bactériennes planctoniques.....	13
7.3.2 Essai par contact direct vis-à-vis des biofilms bactériens	14
7.4 Détermination des effets antibactériens	15
7.4.1 Généralités	15
7.4.2 Évaluation de la réduction de la capacité bactérienne à répliquer.....	15
7.4.3 Évaluation de l'endommagement de la membrane bactérienne.....	16
7.4.4 Évaluation de la réduction de l'activité métabolique bactérienne.....	18
8 Expression des résultats	19
9 Rapport d'essai final.....	20
Annexe A (normative) Souches bactériennes et bouillons nutritifs correspondants.....	21
Bibliographie.....	23

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets rédigées par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute autre information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant : www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html.

Le présent document a été élaboré par le Comité technique ISO/TC 106, *Médecine bucco-dentaire*.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

Introduction

En raison de l'applicabilité générale des essais *in vitro* pour l'activité antibactérienne et de leur utilisation courante pour l'évaluation d'une vaste gamme de matériaux de restauration dentaire, l'objet du présent document est de définir un schéma des essais qui nécessite la prise de décisions concernant une série de phases plutôt que de spécifier un essai unique. Cette démarche devrait mener à la sélection de l'essai le plus approprié pour un matériau de restauration dentaire à évaluer.

Deux catégories d'essai sont répertoriées : l'essai sur extrait et l'essai par contact direct.

Le choix d'une ou de plusieurs de ces catégories dépend de la nature du matériau à évaluer, du site d'utilisation potentiel et de la nature de l'utilisation du matériau correspondant. Les essais sur extraits concernent principalement les substances relarguées par les matériaux, tandis que les essais par contact direct concernent aussi bien les effets dus aux substances relarguées que les effets en surface. Le choix de l'essai détermine alors les détails de la préparation des échantillons à soumettre à essai, de la préparation des bactéries cultivées ou des biofilms, et la façon dont les bactéries ou les biofilms sont exposés aux échantillons ou à leurs extraits.

Les deux catégories d'essai sont destinées à être réalisées d'abord sur des cultures planctoniques de bactéries puis, en cas de résultats positifs, sur des biofilms bactériens.

Le présent document propose de mesurer la réduction de la capacité bactérienne à répliquer en tant que méthode principale d'évaluation des effets antibactériens. De plus, l'endommagement de la membrane bactérienne peut être évaluée afin de vérifier que la cellule bactérienne est morte, et les réductions de l'activité métabolique bactérienne peuvent être étudiées en tant que mesure supplémentaire de la viabilité bactérienne.

Il existe plusieurs moyens d'obtenir des résultats dans chacune de ces catégories d'essai. Afin de s'assurer de la comparabilité avec d'autres résultats intra- et interlaboratoires sur des matériaux similaires, il convient que l'investigateur connaisse les catégories d'essai à laquelle chaque technique particulière appartient.

Le présent document donne des exemples de protocoles d'essai quantitatif pour évaluer la réduction de la capacité bactérienne à répliquer par dosage des unités formant colonies (UFC), et également pour évaluer l'endommagement de la membrane bactérienne par cytométrie en flux et pour étudier les réductions de l'activité métabolique bactérienne par test MTT. Il fournit également des recommandations pour l'interprétation des résultats.

Médecine bucco-dentaire — Évaluation de l'activité antibactérienne des matériaux de restauration dentaire, ciments de scellement, produits de comblement des fissures et matériaux de collage ou de scellement orthodontiques

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie les méthodes d'essai pour l'évaluation des matériaux de restauration dentaire, ciments de scellement, produits de comblement des fissures et matériaux de collage ou de scellement orthodontiques qui sont revendiqués par leurs fabricants respectifs pour exercer des effets « antibactériens ».

NOTE Les matériaux de coiffage pulpaire (par exemple, formulations à base d'hydroxyde de calcium), les matériaux de remplissage endodontiques, les implants ou systèmes d'implants dentaires, les gouttières et les matériaux produits par fabrication additive (par exemple, par impression 3D) ne sont pas couverts par le présent document.

Le présent document ne couvre pas les essais portant sur l'efficacité des modes opératoires de stérilisation ou de désinfection. De plus, il ne doit pas être utilisé pour prouver l'absence de contamination microbienne des dispositifs médicaux utilisés en médecine bucco-dentaire.

2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 1942, *Médecine bucco-dentaire — Vocabulaire*

ISO 4049, *Médecine bucco-dentaire — Produits de restauration à base de polymères*

ISO 6344-1, *Abrasifs appliqués — Granulométrie — Partie 1 : Contrôle de la distribution granulométrique*

ISO 7405, *Médecine bucco-dentaire — Évaluation de la biocompatibilité des dispositifs médicaux utilisés en médecine bucco-dentaire*

ISO 10993-1, *Évaluation biologique des dispositifs médicaux — Partie 1 : Évaluation et essais au sein d'un processus de gestion du risque*

ISO 10993-5, *Évaluation biologique des dispositifs médicaux — Partie 5 : Essais concernant la cytotoxicité in vitro*

ISO 10993-12, *Évaluation biologique des dispositifs médicaux — Partie 12 : Préparation des échantillons et matériaux de référence*

ISO 10993-18, *Évaluation biologique des dispositifs médicaux — Partie 18 : Caractérisation chimique des matériaux des dispositifs médicaux au sein d'un processus de gestion du risque*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions donnés dans l'ISO 1942, l'ISO 7405, l'ISO 10993-1 et l'ISO 10993-5 s'appliquent.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes :

- ISO Online browsing platform : disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia : disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>

3.1 matériau de restauration dentaire
matériau ou combinaison de matériaux spécialement formulé et préparé pour une utilisation dans le domaine de la médecine bucco-dentaire et/ou des modes opératoires associés pour restaurer la perte d'intégrité des dents ou pour remplacer des dents

3.2 matériau de contrôle positif
matériau et/ou substance bien caractérisés, qui, soumis à essai conformément à une méthode d'essai spécifique, démontrent l'aptitude du système d'essai à conduire à une réponse reproductible, judicieusement positive ou réactive vis-à-vis du système d'essai particulier

[SOURCE : ISO 7405:2018, 3.3]

3.3 matériau de contrôle négatif
matériau et/ou substance bien caractérisés qui, soumis à essai conformément à une méthode d'essai spécifique, démontrent l'aptitude du système d'essai à conduire à une réponse reproductible, judicieusement négative, non réactive ou minimale vis-à-vis d'un système d'essai particulier

Note 1 à l'article En pratique, les matériaux de contrôle négatif comprennent les matériaux qui ne contiennent pas la substance active responsable de l'activité antibactérienne, ou les matériaux utilisés en milieu clinique et qui n'ont pas d'activité antibactérienne.

[SOURCE : ISO 7405:2018, 3.4, Note 1 modifiée]

3.4 matériau antibactérien
matériau présentant une activité antibactérienne par rapport au matériau de contrôle négatif

4 Exigences

4.1 Généralités

Le matériau dit antibactérien doit satisfaire à l'une des exigences suivantes.

4.2 Extrait

Pour les essais sur extraits, un matériau antibactérien doit présenter une réduction médiane de la capacité bactérienne à répliquer d'au moins 99,9 % (trois niveaux de \log_{10}) par rapport au contrôle négatif, lorsque l'essai est effectué conformément à section 7.1.

NOTE Cette exigence est conforme aux définitions de l'American Society of Microbiology (<https://aac.asm.org/content/abbreviations-and-conventions>) [1, 2].

4.3 Contact direct

Pour les essais par contact direct, un matériau antibactérien doit présenter une réduction médiane de la capacité bactérienne à répliquer d'au moins 99 % (deux niveaux de \log_{10}) par rapport au matériau de contrôle négatif, lorsque l'essai est effectué conformément à 7.2.

NOTE Cette exigence est conforme aux définitions données dans la norme JIS Z 2801 [3].

5 Préparation de l'échantillon et du matériau de contrôle

5.1 Généralités

Les essais décrits dans le présent document doivent être effectués sur :

a) un extrait de l'échantillon ;

et/ou

b) l'échantillon lui-même.

L'évaluation des propriétés antibactériennes doit être réalisée sur le matériau préparé conformément aux instructions du fabricant. Avant d'analyser les propriétés antibactériennes des matériaux de restauration dentaire conformément à la présente norme, les propriétés physiques et chimiques du matériau (et des extraits) doivent être évaluées conformément à l'ISO 10993-1 et à l'ISO 10993-18. Avant d'analyser les propriétés antibactériennes des matériaux de restauration à base de polymères, il convient de caractériser le comportement physique du matériau conformément à l'ISO 4049.

Des matériaux de contrôle positif et négatif doivent être incorporés à chaque essai. Si cela s'avère approprié et possible, il convient de préparer les contrôles en appliquant le même mode opératoire que pour l'échantillon (voir 5.2 à 5.5). Dans tous les cas, les contrôles doivent avoir les mêmes dimensions et propriétés que les autres matériaux, notamment la même rugosité que les matériaux d'essai. Pour les essais par contact direct, les matériaux d'essai et les contrôles doivent avoir une forme circulaire d'un diamètre de 10 mm utilisable dans des plaques à 48 puits (voir 7.3).

Pour les essais sur extraits, du digluconate de chlorhexidine à 0,2 % doit être utilisé comme contrôle positif [4]. En plus des extraits provenant du matériau de contrôle négatif, le bouillon nutritif utilisé pour la culture bactérienne dans la série d'expériences correspondante (voir l'Annexe A pour des exemples) doit être utilisé comme contrôle négatif supplémentaire afin d'assurer la validité expérimentale.

Pour les essais par contact direct, des plaques en cuivre (forme circulaire ; diamètre de 10 mm ; pureté ≥ 99 % ; absence d'impuretés superficielles visibles) doivent être utilisées comme contrôle positif [5]. Ces plaques doivent être poncées avec un papier P2000 conformément à l'ISO 6344-1 afin d'obtenir une rugosité similaire à celle des échantillons.

Tous les échantillons pour essai ou échantillons de contrôle doivent être stockés dans de l'eau stérile à (37 ± 1) °C après mélange/polymérisation/fraisage tel que décrit par le fabricant pendant 24 h avant essai, par exemple pour permettre la lixiviation des monomères dans les polymères. Après ces premières 24 h, tous les échantillons pour essai ou échantillons de contrôle doivent être soumis à essai immédiatement, et après 10 cycles d'élution consécutifs (voir 5.6.4) pour fournir une indication sur l'activité antibactérienne à long terme [6]. Si l'activité antibactérienne est toujours observée après 10 cycles d'élution, il convient d'effectuer un essai supplémentaire après 20 cycles d'élution afin de démontrer un plateau (= effet persistant) de l'activité antibactérienne.

NOTE Il convient d'effectuer l'analyse chimique des extraits conformément à l'ISO 10993-18.

5.2 Recommandations générales pour la préparation des échantillons

La préparation des échantillons doit être conforme à l'ISO 7405, à l'ISO 10993-12 et à l'ISO 4049.

Pour la préparation des échantillons, consulter les normes de produits respectives et/ou les instructions du fabricant, et suivre ces descriptions aussi scrupuleusement que possible. Justifier tout écart par rapport aux instructions du fabricant. Une description détaillée de la préparation des échantillons doit figurer dans le rapport d'essai. La préparation des échantillons doit tenir compte des facteurs suivants :

- a) température ;
- b) humidité ;
- c) exposition à la lumière : des échantillons de matériaux photosensibles doivent être fabriqués dans des conditions telles que la lumière ambiante ne les active pas ;
- d) matériau du moule d'échantillon : s'assurer que le matériau du moule d'échantillon et que l'éventuel lubrifiant utilisé n'affectent pas le processus de prise du matériau ;
- e) exposition à l'oxygène : pour les produits qui produisent une couche d'inhibition par l'oxygène pendant le durcissement, les deux extrémités du moule doivent être recouvertes d'une matière transparente imperméable à l'oxygène (par exemple, des bandes de polyester/mylar) pendant le durcissement ;
- f) les échantillons doivent être produits en conditions d'asepsie. En cas d'impossibilité, les échantillons peuvent être stérilisés par la méthode adaptée au matériau, si nécessaire et si possible (voir 5.7.3).

5.3 Recommandations spécifiques pour les matériaux photopolymérisables

Conformément à l'ISO 7405, les facteurs suivants doivent être pris en compte, en considérant l'utilisation finale du matériau photopolymérisable :

- a) matériau du moule d'échantillon : si possible, il convient que le matériau du moule d'échantillon soit conforme à l'ISO 4049, c'est-à-dire des moules en acier inoxydable avec un doublage blanc (papier-filtre blanc) au fond de l'échantillon. En cas d'impossibilité, il convient que les coefficients de réflexion des matériaux utilisés pour les moules d'échantillons soient les plus proches possible de ceux de la surface buccale sur laquelle le matériau doit être appliqué afin de simuler la situation clinique ;

NOTE Les matériaux du moule d'échantillon appropriés dont les coefficients de réflexion sont proches de ceux des tissus durs dentaires peuvent être des matériaux semi-translucides ou en plastique blanc tels que le polyéthylène (PE) ou le polytétrafluoroéthylène (PTFE).

- b) exposition à la lumière : la photopolymérisation doit être effectuée pour simuler l'usage clinique le plus précisément possible. Cela nécessitera souvent une photopolymérisation d'un seul côté, mais aussi quelquefois des deux côtés. La méthode de photopolymérisation est spécifique du matériau et/ou du procédé. Pour les matériaux monocomposants, il ne doit y avoir aucun vide, aucune fissure ni aucune bulle d'air lors d'une inspection à l'œil nu. Pour fournir le même niveau de polymérisation qu'en milieu clinique, suivre les instructions d'utilisation du fabricant du matériau, y compris l'activateur de polymérisation recommandé, qui doit comprendre la/les région(s) de longueur d'onde d'émission, l'éclairement énergétique ($\geq 1\ 000\ \text{mW/cm}^2$) et la durée d'exposition. Ces informations doivent être documentées dans le rapport d'essai. Veiller à ce que la source de lumière soit dans un état de fonctionnement satisfaisant. Par ailleurs, il est recommandé d'utiliser un radiomètre avant d'employer la source de lumière pour vérifier l'éclairement énergétique de l'unité ;
- c) exposition à l'oxygène : pour les produits qui produisent une couche d'inhibition par l'oxygène pendant la photopolymérisation, les deux extrémités du moule doivent être recouvertes d'une matière transparente imperméable à l'oxygène (par exemple, des bandes de polyester/mylar) pendant la photopolymérisation ;
- d) traitement de surface de l'échantillon : si le fabricant recommande une finition de surface du matériau après la polymérisation, les surfaces de l'échantillon doivent être poncées et polies suivant les modes opératoires cliniques recommandées. S'il n'existe pas de telles instructions, et si cela est exigé pour les essais, les deux extrémités des échantillons doivent être poncées avec du papier abrasif P2000 conformément à l'ISO 6344-1, après prise sous la matière transparente imperméable à l'oxygène.

ISO/FDIS 3990

5.4 Recommandations spécifiques pour les matériaux à polymérisation chimique

bd8e87013371/iso-fdis-3990

Conformément à l'ISO 7405, les facteurs suivants doivent être pris en compte, en considérant l'utilisation finale du matériau à polymérisation chimique :

- a) mélange : mélanger suffisamment de matériau pour s'assurer que la préparation de chaque échantillon s'effectue à partir d'un lot. Préparer un mélange frais pour chaque échantillon. Le mélange doit être effectué en conformité avec les normes de produits respectives, le cas échéant ;
- b) exposition à l'oxygène : pour les produits qui produisent une couche d'inhibition par l'oxygène pendant la polymérisation chimique, les deux extrémités du moule doivent être recouvertes d'une matière imperméable à l'oxygène (par exemple, une bande de polyester/mylar) pendant la polymérisation.
- c) traitement de surface de l'échantillon : si le fabricant recommande une finition de surface du matériau après la polymérisation, les surfaces de l'échantillon doivent être poncées et polies suivant les modes opératoires cliniques recommandées. S'il n'existe pas de telles instructions, et si cela est exigé pour les essais, les deux extrémités des échantillons doivent être poncées avec du papier abrasif P2000 conformément à l'ISO 6344-1, après prise sous la matière transparente imperméable à l'oxygène.

5.5 Recommandations spécifiques pour les matériaux de CFAO fraisés ou produits par fabrication soustractive

Les facteurs suivants doivent être pris en compte, en considérant l'utilisation finale du matériau de CFAO fraisé ou produits par fabrication soustractive :

- a) traitement de surface de l'échantillon : si le fabricant recommande une finition de surface du matériau après fraisage ou fabrication soustractive CFAO, les surfaces de l'échantillon doivent être poncées et polies suivant les modes opératoires cliniques recommandées. S'il n'existe pas de telles instructions, et si cela est exigé pour les essais, les deux extrémités des échantillons doivent être poncées avec du papier abrasif P2000 conformément à l'ISO 6344-1.

5.6 Préparation des extraits liquides de matériau

5.6.1 Principes d'extraction

La préparation des extraits doit être effectuée après un stockage de 24 h dans de l'eau stérile à (37 ± 1) °C suivi d'un mélange/d'une polymérisation tel que décrit par le fabricant, et après encore 10 cycles d'élution consécutifs (voir 5.6.4) pour fournir une indication sur l'activité antibactérienne à long terme [6].

Si l'activité antibactérienne est toujours observée pour l'extrait après le dixième cycle d'élution, il convient d'effectuer un essai supplémentaire sur un extrait après 20 cycles d'élution afin de démontrer un plateau (= effet persistant) de l'activité antibactérienne.

NOTE Il convient d'effectuer l'analyse chimique des extraits conformément à l'ISO 10993-18.

Il convient que les conditions d'extraction simulent ou exagèrent les conditions d'utilisation clinique du matériau afin de définir l'activité antibactérienne potentielle sans induire de modifications significatives de l'échantillon telles qu'une fusion, un ramollissement ou une altération de sa structure chimique, en dehors de celles prévues lors de son utilisation clinique. En raison de la nature de certains matériaux (par exemple les matériaux biodégradables), une altération de la structure chimique peut se produire au cours du mode opératoire d'extraction.

NOTE La concentration de toute substance endogène ou exogène dans l'extrait, et donc la quantité de ces substances mise au contact des bactéries utilisées dans l'essai, dépendent de la surface de contact, du volume d'extraction, du pH, de la solubilité chimique, de la vitesse de diffusion, de l'osmolarité, de l'agitation, de la température, de la durée et d'autres facteurs.

5.6.2 Milieu d'extraction

Le choix du (des) milieu(x) d'extraction tenant compte des caractéristiques chimiques de l'échantillon doit être justifié et documenté. Un ou plusieurs des milieux suivants doivent être utilisés :

- a) bouillon nutritif utilisé pour la culture bactérienne dans la série d'expériences correspondante (voir l'Annexe A pour des exemples) ;
- b) tampon phosphate salin (PBS) ;
- c) sérum (pour l'extraction des lipides) ;