

Considérations sur des tests de biocompatibilité «*in vivo*» et «*in vitro*» de quelques ciments endodontiques

L. FONZI, V. KAISTAS, A. GASPARONI, M. BELLI, L. CAPEZZUOLI

Institut d'Anatomie Humaine Normale, Université de Sienne

RÉSUMÉ

Dans le domaine odontologique, ainsi que dans les autres branches de la médecine, l'exigence d'améliorer constamment la biocompatibilité des matériaux utilisés comme thérapeutique, surtout quand ces matériaux sont destinés à «cohabiter» longtemps avec l'organisme, est de plus en plus ressentie.

Dans le cadre d'un vaste programme de recherche, les auteurs se sont proposé d'évaluer la biocompatibilité réelle de quelques matériaux endodontiques choisis parmi les plus courants en Italie: c'est dans ce but qu'ont été effectués des tests «*in vitro*» (test de l'hémolyse d'hématies de lapin) et «*in vivo*» (selon la technique de Safavi et al. qui prévoit l'implantation du matériel à tester dans le tissu sous-cutané du rat).

Les résultats des tests ont démontré la variabilité du grade de biocompatibilité des matériaux soumis à l'expérimentation. Certains matériaux n'ont provoqué en effet qu'une légère réaction des tissus, d'autres ont déterminé la formation d'importants infiltrats de cellules inflammatoires, de macrophages, de cellules géantes de corps étranger et de colliquation nécrotique tissulaire.

MOTS CLÉS:

Ciments endodontiques, toxicité, biocompatibilité.

SUMMARY

The major goal endodontic therapy has been achieved by condensing filling materials into the root canal. It's not uncommon to find excess material into the periapical tissue. It therefore becomes obligatory to use fillings materials that have acceptable biocompatibility.

The purpose of this investigation was to obtain a «toxicity profile» of some endodontics materials and to compare our observations to results present in literature.

The gutta-percha and five endodontic filling cements were tested «*in vivo*» and «*in vitro*».

The *in vivo* biocompatibility involved the placement of the test material in 10 mm. Teflon tubes with an outer diameter of 1.3 mm which were implanted subcutaneously into rats. The implants were left in situ for periods of 30 and 90 days. The «hemolysis test» is designed for «*in vitro*» evaluations.

The istological examination showed different intensity and extent cellular responses. In some cases severe infiltration of inflammatory cell and areas with necrotis were seen.

At conclusion, the endodontics material evaluated showed slight, moderate and severe reactions; therefore a different pattern in tissue response.

KEY WORDS:

Endodontic materials, toxicity, biocompatibility.

INTRODUCTION

De nombreuses branches de la médecine, comme par exemple la cardiologie, l'orthopédie, l'odontologie, l'ophtalmologie, la neurochirurgie, se trouvent dans la nécessité d'employer des matériaux destinés à «cohabiter» avec l'organisme. D'où une recherche constante visant à perfectionner la biocompatibilité de ces matériaux ou à évaluer leur grade de toxicité pour l'organisme et la réaction de ce dernier envers ces matériaux.

En ce qui concerne l'odontologie, les matériaux mis en contact plus ou moins direct avec les divers tissus dentaires ou parodontaux forment un groupe hétérogène comprenant amalgame, composites, céramiques, ciments, pâtes scellantes, matériaux polymères, etc. La nécessité d'améliorer les propriétés de ces matériaux a conduit les fabricants à employer, dans leur composition, des substances très variées, notamment dangereuses, qui d'un côté améliorent sans aucun doute les propriétés fonctionnelles des matériaux, mais qui rendent d'un autre côté ces matériaux mêmes extrêmement nocifs si l'on ne prend pas de précautions particulières pour les isoler parfaitement des tissus dento-parodontaux. En effet, une des caractéristiques essentielles qu'un matériau destiné à l'usage odontologique doit posséder est l'absence (ou du moins la très faible quantité) de toxicité envers le tissu avec lequel il devra «cohabiter» (toxicité locale) et envers l'organisme pris dans sa totalité (toxicité générale). Comme pour tous les autres matériaux à usage médical, en effet, les matériaux à usage odontologique sont sujets, dans la majeure partie des Pays, à des tests sévères en mesure d'en garantir la biocompatibilité des contenus et/ou d'en modérer les effets nocifs (Autian, 1987: FDI Technical Report, 1981).

Selon leur utilisation, il faut tenir compte du temps pendant lequel ces matériaux restent en contact avec les muqueuses de la cavité orale ou avec les tissus de la dent et sur celles-ci, par rapport au temps, de l'éventuelle toxicité qui peut être variable. Si l'action plus ou moins irritante des matériaux utilisés pour prendre les empreintes peut être de brève durée, l'éventuelle action cytotoxique provenant des matériaux de reconstruction ou des matériaux utilisés d'habitude en endodontie pourrait s'avérer bien plus dangereuse (Dowden et Langeland, 1983: Horsted et coll. 1981; Kawahara et coll. 1955; Spangberg, 1969). D'où la nécessité de procéder, grâce à des tests appropriés et des méthodologies de recherche précises, à l'évaluation qualitative et quantitative des réactions des tissus à l'égard des matériaux utilisés. Ceci permettrait également, tout en améliorant la définition

des propriétés physiques et chimiques des matériaux, d'en évaluer l'éventuelle toxicité locale et/ou générale envers l'organisme ou les tissus avec lesquels les matériaux entrent en contact. Cette étude fait partie d'un vaste programme de recherche ayant pour but de tester le grade de biocompatibilité des ciments endodontiques. Sur la base des résultats significatifs obtenus précédemment (Perrini et Fonzi, 1987), nous avons pensé qu'il était opportun d'approfondir nos connaissances en la matière en testant, selon une méthodologie plus raffinée et méticuleuse, une série de ciments endodontiques sélectionnés selon leur composition. Le choix des ciments endodontiques comme matériaux à tester en priorité se trouve motivé par plusieurs circonstances:

- 1) Tous les ciments possèdent des constituants potentiellement irritants et toxiques.
- 2) Les ciments endodontiques sont mis en contact avec les tissus parodontaux et sont destinés à «cohabiter» avec ces derniers pendant une longue période de temps.
- 3) La caractérisation anatomique variable de l'apex radiculaire, même à la suite de modifications dues à des pathologies en cours, nous oblige à avoir une connaissance parfaite des propriétés biologiques, chimiques et physiques des ciments ainsi qu'à les utiliser d'une façon correcte et adéquate.

MATERIEL ET METHODES

Les ciments endodontiques soumis dans le cadre de cette étude aux tests de biocompatibilité «*in vitro*» et «*in vivo*» ont été marqués dans le Tableau 1 par les lettres F, G, H, L.

Les ciments marqués par les lettres B, C, D, E avaient été testés lors d'une recherche préliminaire.

Les tests ont également été effectués sur la gutta-percha (Echantillon A).

Tests *in vivo*

42 rats mâles de souche Sprague-Dawley, pesant environ 250 gr. ont été utilisés.

La biocompatibilité a été évaluée selon la technique d'implantation sous-cutanée d'après Safavi et coll. Pour ce faire, nous avons utilisé des petits tubes de teflon de 10 mm de long, d'un diamètre interne de 1,3 mm, lavés au préalable au chloroforme, alcool et eau et ensuite stérilisés à l'autoclave avant d'être remplis avec le matériel à tester.

TABLE I.

Echantillon A. Composition : Gutta-percha Oxyde de Zinc Sulphate de Baryum Colorants		Echantillon I. Composition : Poudre Oxyde de Zinc Sous-nitrate de bismuth Desamétazone acétate Hydrocortisone Iodure de Thymol Paraformaldéhyde	Liquide Eugénol
Echantillon B. Composition : Poudre Oxyde de Zinc Stéarate de Zinc Acétate de Zinc Bioxyde de Titane Desamétazone acétate Polyoxyméthylène Tungstate de Calcium Huile d'Anis	Liquide Eugénol Colophane Huile de Ricin Glycérine Ethanol	Echantillon L. Composition : Poudre Oxyde de Zinc Résine Staybelite Sub-carbonate de Bismuth Sulphate de Baryum Borate de Sodium anhydre	Liquide Eugénol
Echantillon C. Composition : Poudre Oxyde de Zinc Stéarate de Zinc Acétate de Zinc Dioxyde de Titane Desamétazone acétate Hydrocortisone acétate Nitrofurazone Polyoxyméthylène Tungstate de Calcium Huile d'Anis	Liquide Eugénol Colophane Huile de Ricin Glycérine Ethanol	Les composants les plus variés rentrent dans la composition des ciments endodontologiques : l'oxyde de zinc, l'eugénol (irritant qui peut se comporter comme un allergène), des constituants pour donner au matériel la radioopacité, l'adhésivité ou des propriétés antiseptiques ou anti-inflammatoires : d'où l'argent, les résines, produits à base de cortisone, etc...	
Echantillon D. Composition : Poudre Oxyde de Zinc Acétate de Zinc Bioxyde de Titane Tungstate de Calcium Huile d'Anis	Liquide Eugénol Colophane Huile de Ricin Glycérine Ethanol	Le mélange constitué par les divers composants de chaque matériau endodontique a été introduit dans des petits tubes de téflon au moyen d'une pompe péristaltique (Pharmacia, Peristaltic Pump P1) et laissé se solidifier tout de suite avant l'implantation. Nous avons préféré solidifier le matériel endodontique dans les tubes de Téflon avant l'implantation afin d'éviter qu'il ne s'écoule dans le tissu sous-cutané, inconvénient qui se vérifie fréquemment quand le matériel endodontique est injecté directement dans les petits tubes déjà insérés. La méthode que nous avons choisie ne nous laisse pas la possibilité d'évaluer la toxicité initiale des composants endodontiques avant la solidification (qui est par ailleurs très rapide) mais elle s'est révélée être, dans une étude préliminaire, la plus valable du point de vue méthodologique. Les animaux ont été divisés en 7 groupes de 6 animaux chacun, correspondant aux ciments testés et au groupe de contrôle. Trois animaux de chaque groupe ont été sacrifiés au 30 ^e jour, les autres 90 jours après l'implantation. Chaque animal a reçu trois implantations sous-cutanées dans la région dorsale. Comme contrôle, nous avons utilisé des petits tubes de téflon vides. Les animaux ont été anesthésiés avec de l'éther éthylique et la zone d'implantation a été soigneusement désinfectée.	
Echantillon E. Composition : Poudre Oxyde de Zinc Argent Oléorésine Iodure de Thymol	Liquide Huile de girofle Baume du Canada		
Echantillon F. Composition : Oxyde de Silice Calcium Sodium de Phosphore Aluminium			
Echantillon G. Composition : Beta-phosphatocalcium			
Echantillon H. Composition : Poudre Oxyde de Zinc Hydroxyapatite Résine naturelle Diiodothymol	Liquide Eugénol bidistillé		

Les petits tubes, aussi bien les vides utilisés comme contrôle que les pleins contenant le matériel à tester, ont été insérés sous la peau au moyen d'un petit tube métallique en bec de clarinette fait à cet usage et préalablement stérilisé, à une distance de 20 mm du trou pratiqué par l'aiguille.

Les animaux ont été sacrifiés 30 ou 90 jours après ce traitement. Les petits tubes contenant les matériaux endodontiques ont été extirpés avec le tissu tout autour et fixés dans du Karnowsky. Après la fixation, la portion terminale du tube avec le tissu autour ont été inclus dans du méthacrylate. Les sections de tissu (environ 1 micron d'épaisseur) ont été colorées avec de l'hématoxyline-éosine.

Les préparations histologiques ont été examinées par deux observateurs différents et les réactions des tissus ont été classifiées en: légères, modérées ou graves.

Pour la microscopie électronique à transmission, nous avons utilisé le microscope électronique à transmission EM9. Les prélèvements, fixés dans du Karnowsky et ensuite postfixés dans de l'acide osmique, ont été inclus dans de l'Epon 812 et sectionnés, à 400 Å d'épaisseur, avec l'ultramicrotome Ultratome IV LKB.

Tests « in vitro »

Nous reportons ici à titre exclusif de comparaison avec la méthode utilisée dans la présente recherche, le test utilisé dans nos expériences précédentes sur les échantillons B, C, D, E, I, pour lequel nous avons adopté 1 « Agar Overlay Test » selon Wannberg et coll. (Wannberg et coll., 1979).

La cytotoxicité a été évaluée aussi bien sur des matériaux préparés sur le moment (groupe A) que sur des matériaux laissés se solidifier pendant 24 heures (groupe B).

Nous avons utilisé pour une telle étude des cellules épithéliales humaines (NCTC 2544) cultivées dans du MEM (Eagle's Minimal Essential Medium) tamponné au bicarbonate avec adjonction de sérum de chèvre à 10% et d'antibiotiques. Les cellules ont été incubées à 37°C dans une atmosphère humidifiée à 5% de CO₂ et 95% d'air.

Les plaques pour les cultures cellulaires (Falcon 3002) ont été recouvertes avec 10% de medium contenant $1,5 \times 10^5$ cellules. Les cellules monostratifiées obtenues après 24 heures d'incubation ont été recouvertes avec de l'Agar Medium (Eagle's MEM $\times 2$ et

Agar 1,5%), puis elles ont été colorées, en les laissant incuber pendant 15 minutes dans une solution à 0,01% de NRVD (Neutral Red Vital Dye).

A ce point, les matériaux endodontiques à examiner ont été placés sur la superficie de l'Agar et les cultures ont été incubées pendant 24 heures au thermostat à CO₂. L'effet des matériaux testés a été évalué au microscope à lumière invertie. Les zones de lyse correspondant aux échantillons examinés et visibles comme zones décolorées ont été évaluées par deux techniciens différents.

Pour ce test, l'échelle suivante de cytotoxicité a été suivie:

Négatif : ---
Léger : +--
Modéré : ++-
Grave : +++

Pour la présente étude, se référant aux ciments désignés par les lettres F, G, H, L et A (gutta-percha), nous avons adopté le test de l'hémolyse d'hématies de lapin sur des matériaux laissés solidifier pendant 12 heures.

Les matériaux solidifiés (5 gr. pour chaque échantillon) et finement broyés ont été incubés pendant 30 minutes à 37°C dans 10 ml de solution physiologique. Nous avons ajouté à chaque échantillon 0,2 ml de sang frais de lapin dilué dans de la solution physiologique. Le contrôle positif a été obtenu en ajoutant 0,2 ml de sang dilué à 10 ml de solution de carbonate de soude à 0,1%, le contrôle négatif en ajoutant 0,2 ml de sang dilué à 10 ml de solution physiologique. Après 60 minutes d'incubation à 37°C, tous les échantillons ont été centrifugés pendant 5 minutes à 500 G., puis les particules flottantes ont été enlevées et transférées dans des cuvettes spectrophotométriques.

La quantité d'hémoglobine libérée par le processus de lyse cellulaire a été déterminée au spectrophotomètre à 545 nm.

Le pourcentage d'hémolyse se calcule en utilisant la formule suivante:

$$\% \text{ Hémolyse} = \frac{(A \text{ matériel dentaire}) - (A \text{ contrôle négatif})}{(A \text{ contrôle positif}) - (A \text{ contrôle négatif})} \times 100$$

où A est la D.O. de chaque échantillon lue à 545 nm.

RÉSULTATS

Tests «in vivo»

Le tissu situé autour des petits tubes de téflon qui contiennent la gutta-percha (Fig. 1) apparaît comme une masse centrale sombre et ne donne pas de signes évidents d'inflammation. En effet, à un agrandissement plus fort, nous découvrons une population de cellules et une vascularisation typique du tissu positif sain (Fig. 2).

De semblables aspects caractérisent les préparations histologiques relatives au mélange F et se référant à des prélèvements de tissus effectués à l'intervalle de 30 et 90 jours.

De très légères réactions histogènes, observées par ailleurs chez un seul animal du groupe des 90 jours, semblent par contre caractériser le ciment H. Le tableau histologique révèle dans ce cas de rares et parcellaires infiltrats de petites cellules lymphocytaires aux voisinages électifs de la zone d'implantation (Fig. 3, 4, 5). Les prélèvements de tissus provenant des autres animaux (aussi bien du groupe à 30 jours que de celui à 90 jours) n'ont pas mis en évidence des signes phlogistiques ou d'une infiltration significative.

Il est possible d'observer une réponse histologique différente dans tous les tissus provenant des deux groupes de rats (30 et 90 jours) traités avec le ciment. L'observation au microscope optique (Fig. 6,7,8) fournit une réponse constante, à savoir une réaction évidente de la part des tissus, définie par un infiltrat de petites cellules imposant; les macrophages contenant du matériel phagocyté et des cellules géantes ne manquent pas (Fig. 9,10,11).

Parmi les cellules inflammatoires ressort la présence ubiquitaire, extra et intracellulaire de matériel corpusculé. L'autre pouvoir résolutif offert par la microscopie électronique à transmission permet de définir l'implication cellulaire. Le cytoplasme des cellules semble en effet occupé sur presque toute son étendue par des granules ou corpuscules plus ou moins denses aux électrons: tableau d'une implication pathologique irréversible de la cellule (Fig. 12, 13).

Nous pouvons observer aussi, dans les préparations se référant au ciment G (Fig. 14, 15), 90 jours après l'implantation, des réactions productives et granulomateuses plus intenses, avec la présence de nombreux éléments de corps étranger et de fragments de matériel. Nous rencontrons en outre de nombreuses zones de colliquation nécrotique (Fig. 16, 17).



Fig. 1 - Tissu entourant les petits tubes de téflon qui contiennent l'échantillon A (gutta-percha), 90^e jour (MO 80 ×).

Fig. 1 - Tissue around teflon tubes containing sample 1 (gutta-percha), 90th day (LM 80 ×).

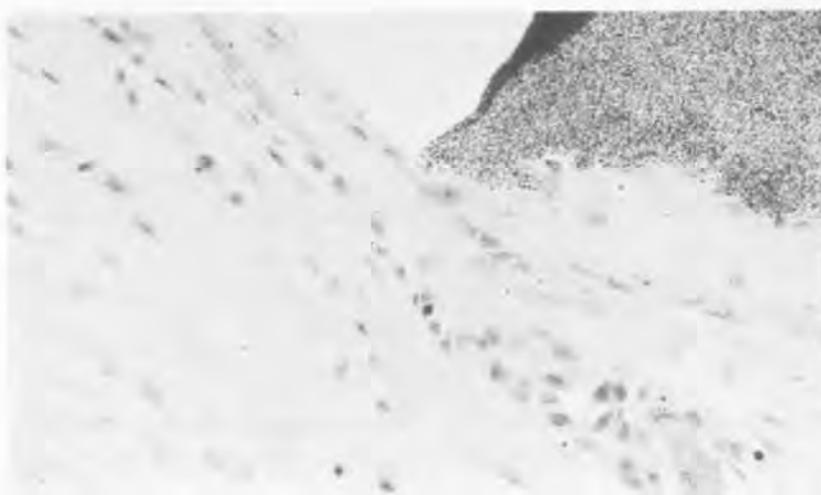


Fig. 2 - Détail de la figure précédente (MO 250 ×).

Fig. 2 - Detail of the preceding figure (LM 250 ×).



Fig. 3 - Echantillon H, 90^e jour (MO 100 ×).

Fig. 3 - Sample H, 90th day (LM 100 ×).

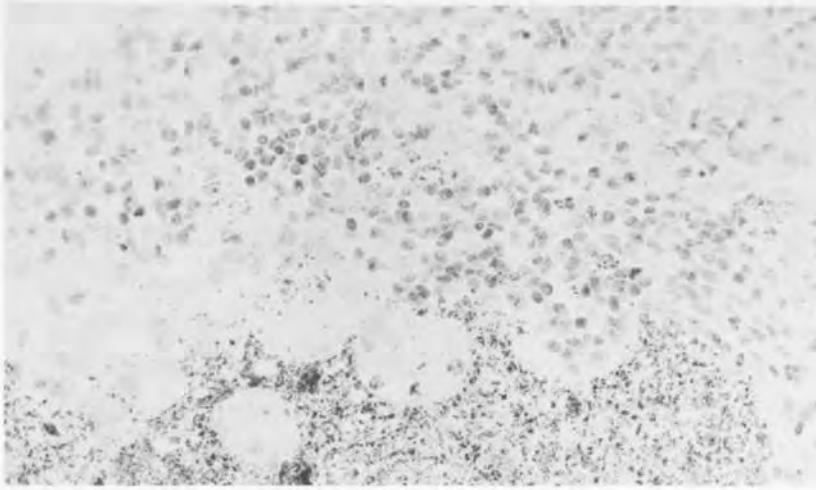


Fig. 4 - Echantillon L, 90^e jour. Infiltrat de petites cellules, macrophages, cellules géantes (MO 200 ×).
Fig. 4 - Sample L, 90th day. Inflammatory infiltrate, macrophages and giant cells (LM 200 ×).

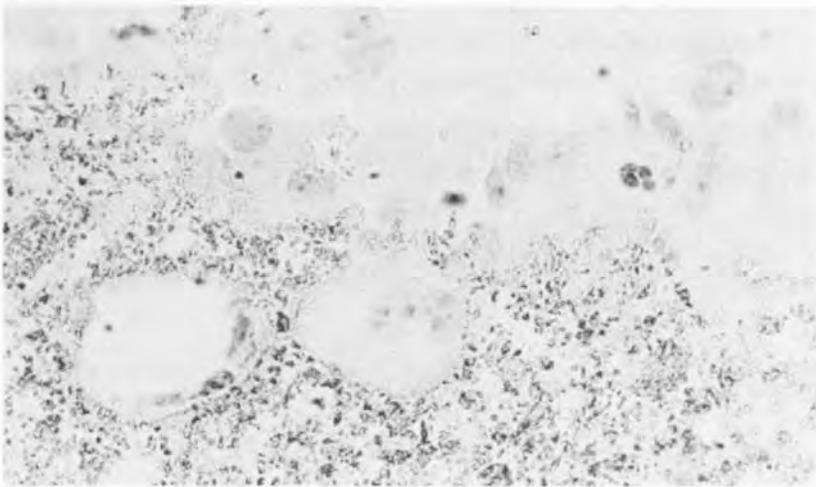


Fig. 5 - Echantillon L, 90^e jour. Macrophages avec matériel phagocyté et fragments de matériel dans la zone extra-cellulaire (MO 200 ×).
Fig. 5 - Sample L, 90th day. Macrophages with phagocytosed materials and fragments of the material in extracellular area (LM 200 ×).

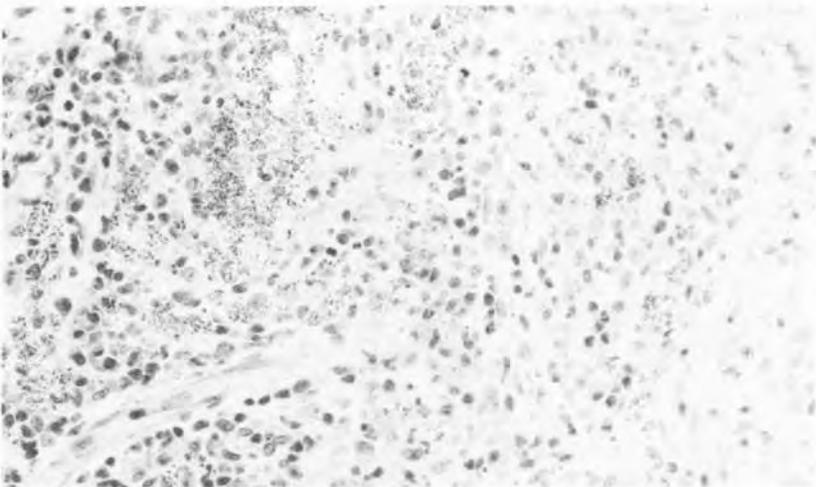


Fig. 6 - Echantillon L, 90^e jour. Présence d'infiltrat de petites cellules, macrophages avec matériel phagocyté et cellules géantes (MO 200 ×).
Fig. 6 - Sample L, 90th day. Presence of inflammatory infiltrate, macrophages with phagocytosed material and giant cells (LM 200 ×).

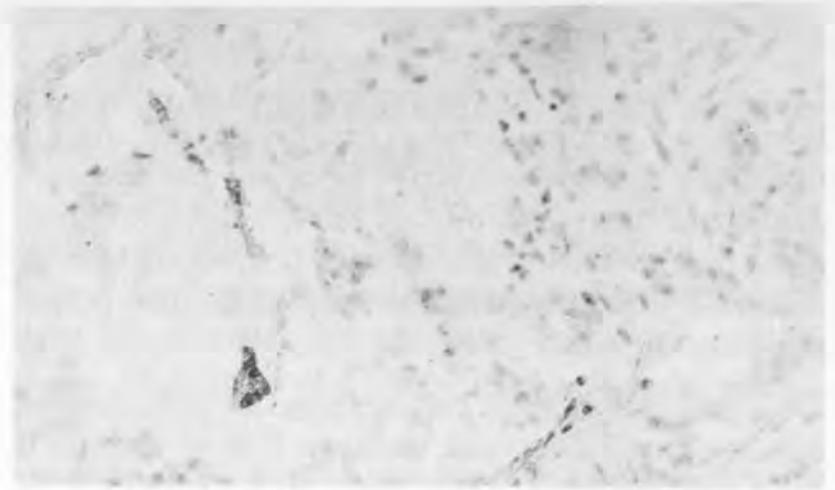


Fig. 7 - Echantillon G, 90^e jour. Réaction inflammatoire histogène. Fragments de matériel et cellules provenant d'un corps étranger (MO 200 ×).
Fig. 7 - Sample G, 90th day. Inflammatory histogenic reaction. Fragments of material and foreign body cells (LM 200 ×).



Fig. 8 - Echantillon G, 90^e jour. Zones de colliquation nécrotique (MO 1000 ×).
Fig. 8 - Sample G, 90th day. Areas with necrosis (LM 1000 ×).

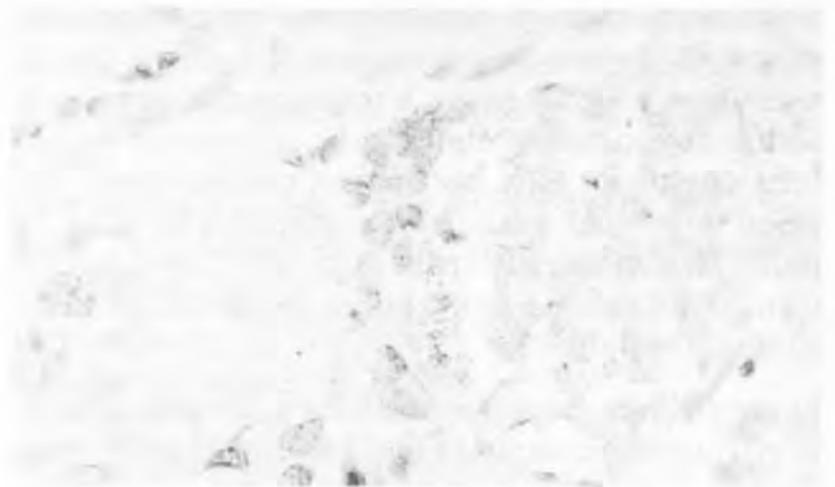


Fig. 9 - Echantillon G, 90^e jour. Zones de colliquation nécrotique avec phénomène dégénératifs aux dépens des cellules avoisinantes (MO 1000 ×).
Fig. 9 - Sample G, 90th day. Areas with necrosis and degeneration of the surrounding cells (LM 1000 ×).

Dans ce cas aussi, au MET, la dégénération cellulaire constitue un aspect d'une alarmante fréquence. Le matériel envahit également le réticule endoplasmique, le cytosol, les mitochondries, dont bien d'entre eux avec des phénomènes dégénératifs irréversibles.

Tests «in vitro»

Les matériaux soumis au test de l'hémolyse sur hématies de lapin ont tous donné un pourcentage d'hémolyse compris entre 0,3 et 1,13%.

DISCUSSION

Avant de commenter les résultats obtenus et d'en tirer des indications précises, il est opportun de faire certaines considérations sur la méthodologie employée pour l'évaluation de la biocompatibilité des matériaux.

A la lumière des indications provenant des résultats de nombreuses études effectuées dans des laboratoires de différents pays, les tests aptes à permettre une évaluation biologique de la toxicité des matériaux dentaires devraient être classés en trois grands groupes méthodologiques qui, dans l'expérimentation pré-clinique, devraient se succéder dans un ordre chronologique précis (ANSI/ADA Document, 1982, Langeland et Langeland 1981; Holz et coll., 1968). Les matériaux dentaires ayant des composants primaires non mutagènes ou cancérogènes (la vérification de la mutagénicité des composants primaires doit être effectuée par l'entreprise pharmaceutique encore même avant l'étude et la réalisation du matériau) devraient être «reconstruits» selon les indications fournies par la Maison productrice et testés pour la cytotoxicité «in vitro» (tests du 1^{er} groupe), pour la toxicité «in vivo» (tests du 2^e groupe) et pour la toxicité sur tissus spécifiques (tests du 3^e groupe).

Les tests du 1^{er} et du 2^e groupes, à notre avis, devraient être effectués obligatoirement sur tous les matériaux dentaires avant leur expérimentation clinique. Les tests du 3^e groupe devraient être effectués seulement dans quelques cas spécifiques et pour des matériaux particuliers.

En bref, les tests du 1^{er} et du 2^e groupes peuvent être schématiquement illustrés comme suit :

Tests du 1^{er} groupe

a) *Test de cytotoxicité sur cultures cellulaires de cellules HeLa pré-marquées au Cr51.* Dans ce test, l'émission de Cr51 de la part des cellules dans les liquides de culture est un indice des dommages que le mélange a éventuellement provoqué sur les cellules.

En synthèse, ce test s'effectue en marquant de façon convenable les cellules au Cr51 pendant 24 heures et en les cimentant ensuite avec les différents matériaux. Successivement, le Cr51 émis dans le liquide de culture est mesuré sur des aliquotes de l'échantillon centrifugées, au moyen d'un scintillateur en phase liquide. Ce test a l'avantage d'être très sensible. Il a toutefois l'inconvénient de devoir utiliser des isotopes radioactifs.

b) *Technique du «Tissue culture Agar Overlay Test».* C'est une des techniques modernes servant à l'évaluation biologique des matériaux, conseillée par le F.D.I. dans le but de chercher directement la présence de substances toxiques contenues dans des matériaux solides.

Ce test n'utilise pas de substances radioactives et, bien que moins sensible que le test avec le Cr51, il donne toutefois des résultats strictement identiques.

c) *Test de l'hémolyse sur hématies de lapin.* Bien que moins sophistiqué que les deux premiers, ce test offre l'avantage de pouvoir être répété, d'être quantifiable et simple à exécuter vu qu'il ne prévoit pas l'utilisation de cellules en culture.

Tests du 2^e Groupe

Parmi les tests du 2^e groupe, le plus employé et peut-être le plus sûr est celui de l'*implantation sous-cutanée chez le rat des matériaux à examiner*» (Langeland et Walton, 1983; Safavi et coll. 1983; Langeland et Spangberg, 1965; Langeland et coll., 1981).

L'implantation de matériaux dans le tissu sous-cutané de l'animal de laboratoire constitue l'une des méthodologies les plus indiquées, surtout (mais pas seulement) pour les matériaux à usage endodontique destinés aux coiffages directs de la pulpe.

En général, en ce qui concerne ces tests «in vivo», nous pouvons dire qu'ils offrent les conditions réelles de travail, c'est-à-dire le contact des matériaux avec les tissus connectifs.

Quant aux résultats que nous avons obtenus des tests de biocompatibilité «in vitro» et «in vivo», nous pouvons faire les considérations suivantes :

Tests «in vivo»

Une première considération immédiate d'ordre général ne peut pas ne pas se focaliser sur l'extrême variabilité de la réponse de la part des tissus aux différents ciments ou composés.

En prenant comme constantes la concentration et le volume du matériau utilisé, le mode de mise en place du matériau, le temps de contact de ce dernier avec le tissu, les caractéristiques histologiques de la zone d'implantation et la réponse individuelle, nous som-

mes autorisés à penser que tous les ciments ne provoquent pas des réactions tissulaires semblables.

Et ceci concorde parfaitement avec nos recherches précédentes (Perrini, N., Fonzi, L.).

L'évidence d'une certaine gradation dans la gravité de la réponse laisse penser en outre à une implication modulée, et différente, des cellules de défense de notre organisme.

Les résultats obtenus indiquent que :

1) Les petits tubes contenant les échantillons F et H n'ont pas donné lieu à des réactions tissulaires évaluables 30 et 90 jours après le traitement.

2) Les réactions tissulaires plus intenses (caractérisées par la présence d'éléments inflammatoires du type cellules géantes de corps étranger, macrophages, mononucléates) ont été observées sur les échantillons G, L et I. Ces réactions, déjà appréciables au 30^e jour, sont devenues plus intenses au 90^e jour après l'implantation.

La réponse tissulaire différente observée « *in vivo* » pour les différents matériaux examinés pourrait être vue comme une réaction phlogistique visant d'une certaine façon à éliminer le matériel « étranger ».

La persistance des dépôts de matériel corpusculé, présent 90 jours après l'implantation mais variable selon les différents groupes, laisse penser que ces substances pourraient être éliminées lentement par le tissu ou que, en l'absence de nécrose, les réactions phlogistiques observées aux divers matériaux seraient destinées à rester localisées ou à s'acheminer vers un processus lent de réparation.

Les granulomes provoqués par un corps étranger ne montrent pas en effet des signes de nécrose ou de productivité et ceci nous amène à prendre en considération le manque d'activation immunologique, lymphocytaire et macrophage. Mais nos analyses ne laissent aucun doute, à cause de la gravité de certains tableaux, sur l'implication des composants solubles et cellulaires de l'inflammation et donc une implication bien précise du système immunitaire.

Pour conclure, il nous semble opportun de souligner, pour ne pas proposer une classification pragmatique des divers ciments en groupes de biocompatibilité supposée ou de non biocompatibilité vérifiée, que certains ciments possèdent un grade acceptable et réconfortant de biocompatibilité.

Parmi ceux-ci, mentionnons l'échantillon H (Bio-seal, Ognafarmaceutici) qui est le ciment offrant les meilleures caractéristiques biologiques sous le profil de la compatibilité tissulaire. L'absence d'hémolyse dans les tests « *in vitro* » et la négativité absolue des aspects les plus infimes de phlogose tissulaire dans les

tests « *in vivo* » nous semblent être, grâce à la méthodologie très rigoureuse que nous avons observée, la garantie d'une biocompatibilité très acceptable, même en termes d'effets systématiques.

Bien que nous ne soyons pas habitués à considérer la réaction biologique à un matériau dentaire comme un processus inflammatoire local, il serait toutefois opportun de réaliser que n'importe quel matériau en contact avec un tissu, à plus forte raison si ce dernier est atteint par un processus inflammatoire, pourrait déclencher des effets systémiques nocifs.

Des données réconfortantes nous sont fournies par les réponses aux tests sur la gutta-percha et sur un composé, le Biovetro.

BIBLIOGRAPHIE

American National Standard Association. American Dental Association, ANSI/ADA Document 41. *J. Am. Dent. Assoc.*, 104: 680; 1982.

Autian, A. — Toxicological evaluation of biomaterials: primary acute toxicity screening program. *Artificial Organs*, 1: 53; 1977.

Dowden, W.E., Langeland, K. — An evaluation and comparison of the pulpal response to gold foil and indium alloy. *J. Prosthet. Dent.*, 50: 497-504; 1983.

Fédération Dentaire Internationale FDI Technical Report. 9: Recommended standards for the biological evaluation of dental materials. *Int. Dent. J.*, 30: 140; 1981.

Holz, J., Fiore-Donno, G. et Baume, L.J. — Controles biologiques des matériaux d'obturation: Normalisation des méthodes expérimentales et des critères d'évaluation. *Rev. Mens. Suisse Odonto-stomatol.*, 78: 307-351; 1968.

Horsted, P., El Attar, K., Langeland, K. — Capping monkey pulps with Dycal and Ca-eugenol cement. *Oral Surg.*, 52: 531; 1981.

Kawahara, H., Shiota, J. et Yamakawa, Y. — Studies on the effects of dental metals upon the mesenchymal cells in tissue culture. *J. Osaka Odont.*, 18: 343; 1955.

Langeland, K., Langeland, L.K. — Problems of intradental testing of restorative materials. *Int. Endod. J.*, 14: 80; 1981.

Langeland, K., Walton, R. — Sargenti (N2) technique. In: Clark, J. (ed.) 1983. *Clinical Dentistry*, 1983; Vol. 4, Chap. 13. Lippincott, Philadelphia, Pennsylvania, 1-13.

Langeland, K., Spangberg, L. — Methodology and criteria in evaluation of dental endosseous implants. *J. Dent. Res. Special Issue*, 54: 158; 1981.

Langeland, K., Olsson, B. et Pascon, E.A. — Biologic evaluation of Hydron. *J. Endod.*, 7: 196; 1981.

Perrini, N., Fonzi, L. — Reazioni sottocutanee di biocompatibilità all'innesto di alcuni cementi endodontici. *R.I.S.*, 9: 33-44; 1987.

Safavi, K.E., Pascon, E.A., Langeland, K. — Evaluation of tissue reaction to endodontic materials. *J. Endod.*, 9: 421-429; 1983.

Spangberg, L. — Biologic effect canal filling materials, 7: Reaction of bony tissue to implanted root canal filling materials in guinea pigs. *Odont. Rev. Suppl.*, 20: 501; 1969.

US Congress (Senate) — Medical Device Amendments of 1976, Public Law 94-295, 94th Congress, S 510. US Government Printing Office, Washington DC.

Wannberg, A., Hasselgren, G., Tronstad, L. — A method for toxicity screening of biomaterial using cells cultured on millipore filters. *J. Biomed Mater. Res.*, 13: 109; 1979.

Adresse de l'auteur :

Prof. Luciano Fonzi
Istituto di Anatomia Umana Normale
Via Del Laterino 8
53100 Siena (Italia)