

Sommaire

	Page
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Considérations générales sur les méthodes d'essai d'implantation	1
4 Méthode d'essai pour implantation dans les tissus sous-cutanés	5
5 Méthode d'essai pour implantation dans les tissus musculaires	6
6 Méthode d'essai pour implantation dans les tissus osseux	7

Annexes

A Matériaux de contrôle	9
B Éprouvette cylindrique	10
C Bibliographie	11

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 10993-6:1994](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5ab14f4b-f96e-46d6-bbe7-7b795101dd0e/iso-10993-6-1994)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5ab14f4b-f96e-46d6-bbe7-7b795101dd0e/iso-10993-6-1994>

© ISO 1994

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, 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 et les microfilms, sans l'accord écrit de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation
Case Postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse

Imprimé en Suisse

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 (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 10993-6 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 194, *Évaluation biologique des dispositifs médicaux*.

L'ISO 10993 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Évaluation biologique des dispositifs médicaux*:

- *Partie 1: Lignes directrices pour le choix des essais*
- *Partie 2: Exigences concernant la protection des animaux*
- *Partie 3: Essais concernant la génotoxicité, la cancérogénicité et la toxicité sur la reproduction*
- *Partie 4: Choix des essais concernant les interactions avec le sang*
- *Partie 5: Essais de cytotoxicité: méthodes in vitro (Publiée actuellement en anglais seulement)*
- *Partie 6: Essais concernant les effets locaux après implantation*
- *Partie 7: Résidus de stérilisation à l'oxyde d'éthylène*
- *Partie 9: Dégradation des matériaux relative aux essais biologiques [Rapport technique]*
- *Partie 10: Essais d'irritation et de sensibilisation (DIS distribué en version anglaise seulement)*
- *Partie 11: Essais de toxicité générale*
- *Partie 12: Préparation des échantillons et matériaux de référence*
- *Partie 13: Identification et quantification de produits de dégradation de polymères*

- *Partie 14: Identification et quantification de produits de dégradation de céramiques*
- *Partie 15: Identification et quantification de produits de dégradation de métaux et alliages revêtus et non revêtus*
- *Partie 16: Directives générales concernant la conception de l'étude toxicocinétique pour produits de dégradation et de solution des dispositifs médicaux*
- *Partie 17: Résidus de glutaldéhyde et de formaldéhyde dans des dispositifs médicaux stérilisés industriellement*

Les prochaines parties traiteront des autres aspects relatifs aux essais biologiques.

Les annexes A, B et C de la présente partie de l'ISO 10993 sont données uniquement à titre d'information.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 10993-6:1994](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5ab14f4b-f96e-46d6-bbe7-7b795101dd0e/iso-10993-6-1994)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5ab14f4b-f96e-46d6-bbe7-7b795101dd0e/iso-10993-6-1994>

Introduction

La présente partie de l'ISO 10993 donne les méthodes d'essai biologique des matériaux et dispositifs médicaux et dentaires, ainsi que l'évaluation de leur compatibilité biologique.

L'ISO 10993-1 est un guide qui permet de sélectionner les méthodes d'essai biologique. Elle est conçue de manière à réduire les expérimentations sur les animaux dans une limite raisonnable (voir ISO 10993-2). Une recherche de littérature est entreprise avant tout essai pour recueillir les données disponibles en matière de sécurité biologique du matériau candidat.

Les méthodes d'essai décrites dans la présente partie de l'ISO 10993 se fondent sur des essais d'implantation confirmés. La présente partie de l'ISO 10993 décrit des essais sur les animaux permettant d'étudier les effets locaux après implantation. L'utilisation de techniques d'implantation *in vivo* visant à caractériser la réaction biologique des tissus aux matériaux implantés permet de fournir une évaluation de ces matériaux impossible à réaliser avec les autres procédures.

[ISO 10993-6:1994](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/10993-6-1994/iso-10993-6-1994)

Ces méthodes d'essai peuvent ne pas être appropriées à tous les types de dispositifs médicaux. Il est conseillé à l'utilisateur de bien choisir sa méthode en fonction des matériaux essayés, de leurs applications potentielles et des recommandations données dans l'ISO 10993-1.

L'ISO/TC 194 accueillera avec le plus vif intérêt toute information nouvelle susceptible de faire évoluer la présente partie de l'ISO 10993.

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10993-6:1994

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5ab14f4b-f96e-46d6-bbe7-7b795101dd0e/iso-10993-6-1994>

Évaluation biologique des dispositifs médicaux —

Partie 6:

Essais concernant les effets locaux après implantation

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 10993 prescrit des méthodes d'essai permettant d'évaluer les effets locaux des implants sur les tissus vivants, aussi bien au niveau macroscopique que microscopique.

Le matériau d'essai est implanté dans un lieu et un tissu appropriés à l'évaluation de la garantie qu'il offre au niveau biologique. L'implant n'est pas conçu pour être soumis à une charge mécanique ou fonctionnelle. Les effets locaux sont évalués par comparaison des réactions des tissus face au matériau d'essai et face à des matériaux utilisés dans des dispositifs médicaux dont l'effet clinique a été jugé acceptable.

Les méthodes d'essai concernant les effets locaux après implantation sont utilisées pour évaluer les effets semi-chroniques (implantation à court terme, jusqu'à 12 semaines) ou chroniques (implantation à long terme, plus de 12 semaines).

2 Références normatives

Les normes suivantes contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente partie de l'ISO 10993. Au moment de la publication, les éditions indiquées étaient en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente partie de l'ISO 10993 sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des normes indiquées ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

ISO 10993-1:1992, *Évaluation biologique des dispositifs médicaux — Partie 1: Lignes directrices pour le choix des essais.*

ISO 10993-2:1992, *Évaluation biologique des dispositifs médicaux — Partie 2: Exigences concernant la protection des animaux.*

3 Considérations générales sur les méthodes d'essai d'implantation

3.1 Généralités

Pour les besoins de la présente partie de l'ISO 10993, les définitions de l'ISO 10993-1 et de l'ISO 10993-2 s'appliquent.

Les dispositions du présent article doivent s'appliquer aux méthodes d'essai décrites aux articles 4 à 6.

Il est important que le chercheur planifie son étude suffisamment à fond pour extraire le maximum d'informations sur chaque animal exploité (voir ISO 10993-2).

3.2 Préparation des éprouvettes d'implant

3.2.1 Éprouvettes solides (à l'exclusion des poudres)

Les caractéristiques physiques (forme, dureté, finition superficielle) peuvent affecter le caractère de la réaction des tissus au matériau essayé.

Chaque implant doit être fabriqué, traité, débarrassé de tout agent contaminant et stérilisé suivant la méthode prévue pour le produit final.

Après une dernière préparation et une dernière stérilisation, les éprouvettes à implanter doivent être manipulées de manière à éviter qu'elles ne soient éraflées, endommagées ou contaminées en aucune façon avant ou pendant leur insertion.

3.2.2 Éprouvettes non solides (y compris les poudres)

Les éprouvettes non solides peuvent se présenter sous forme de liquides, de pâtes ou de particules, ce qui les différencie de celles couvertes en 3.2.1. Les composants peuvent être mélangés avant leur utilisation (par exemple les ciments pour les os ou les matériaux dentaires) et prendre sur des durées variables.

Les matériaux peuvent être enfermés dans des tubes afin de tester les effets locaux après implantation. Des tubes de polyéthylène (PE), de polypropylène (PP) ou de polytétrafluoroéthylène (PTFE) sont couramment utilisés à cet effet.

Les tubes doivent avant l'essai être rincés avec un mélange d'éthanol à 70 % (V/V) et d'eau distillée, puis stérilisés en autoclave ou par d'autres méthodes appropriées correspondant aux usages cliniques. Les matériaux à essayer venant d'être mélangés doivent être contrôlés sur le plan de la contamination micro-biologique.

Préparer le matériau d'essai selon les prescriptions du fabricant et en remplir le tube à ras bord. Prendre le plus grand soin pour éviter toute contamination de la surface extérieure du tube par le matériau d'essai. Éviter l'emprisonnement d'air dans ce dernier et s'assurer que la surface d'extrémité du matériau introduit et les extrémités du tube sont lisses.

NOTE 1 Les tubes de PE peuvent se déformer à l'autoclavage. Il est difficile de sectionner les tubes de PTFE dans le microtome, et leur remplacement par des tubes de PE ou de PP de mêmes dimensions peut être préférable lorsque les tubes sont destinés à rester dans les masses des tissus pendant leur sectionnement.

3.2.3 Éprouvettes de contrôle

La dimension, la forme et surtout l'état de surface des éléments de contrôle doivent être les plus proches possibles de ceux des éprouvettes d'essai d'implantation. Si le matériau d'essai est contenu dans un tube, l'élément de contrôle devra alors être constitué d'une tige d'un matériau identique à celui du tube et d'un diamètre correspondant au diamètre extérieur du tube. Les éprouvettes de contrôle doivent être manipulées, nettoyées et stérilisées de telle sorte qu'elles

demeurent des éléments de contrôle conformes et avec des caractéristiques bien définies.

Il convient de baser le choix du (des) matériau(x) de contrôle sur le fait que son (leur) utilisation antérieure s'est avérée satisfaisante dans des applications cliniques similaires à celles prévues pour le matériau soumis à l'essai et ce choix n'est pas limité aux matériaux listés dans l'annexe A et en C.1.

3.3 Animaux, tissus, périodes d'essai, chirurgie, soins postopératoires, euthanasie

3.3.1 Animaux et tissus

L'élevage doit être conforme à l'ISO 10993-2 et/ou aux prescriptions nationales réglementaires relatives aux animaux de laboratoire.

Choisir l'espèce animale en fonction de la taille des éprouvettes d'essai d'implantation, de la durée prévue de l'essai par rapport à la durée moyenne de vie de l'animal, ainsi que des différences reconnues entre espèces au niveau de la réaction biologique des tissus durs et mous.

Pour des essais à court terme sur les tissus musculaires et sous-cutanés, des animaux tels que les souris, les rats, les cochons d'Inde et les lapins sont couramment utilisés. Sélectionner une espèce parmi ces dernières.

Pour les essais à long terme sur les tissus musculaires, sous-cutanés et osseux, des animaux tels que les rats, les cochons d'Inde, les lapins, les chiens, les moutons, les chèvres et certains autres animaux dont l'espérance de vie est relativement longue conviennent. Sélectionner une espèce parmi ces dernières.

Les éprouvettes d'essai et les matériaux de contrôle doivent être implantés dans les mêmes conditions sur les mêmes espèces de même âge, sexe et race, dans des lieux anatomiques correspondants. Le nombre et la taille des implants introduits dans l'animal dépendent de la taille des espèces et de l'emplacement anatomique.

3.3.2 Périodes d'essai

La réaction locale du tissu aux matériaux implantés est évaluée au cours d'essais à court terme inférieurs à 12 semaines et au cours des essais à long terme dépassant 12 semaines.

Les durées sont choisies de façon à atteindre un niveau stable de réaction biologique. Cette réaction locale aux matériaux implantés dépend à la fois des propriétés des matériaux et du traumatisme causé par

l'opération chirurgicale. La configuration tissulaire à proximité d'un implant varie en fonction de la durée écoulée après l'opération. Normalement, sur des périodes d'observation d'une semaine, on détecte une importante activité cellulaire, suivie d'une phase transitoire. Dans les tissus musculaires et conjonctifs, qui diffèrent en fonction des espèces, on observe un niveau stable du milieu cellulaire après 9 à 12 semaines. L'implantation dans les tissus osseux peut nécessiter des périodes d'observation plus longues.

Les périodes d'observation doivent être choisies dans le tableau 1 pour les implantations à court terme et dans le tableau 2 pour les implantations à long terme.

Tableau 1 — Choix des périodes d'essai pour implantations à court terme dans les tissus sous-cutanés et musculaires

Espèce	Période d'implantation				
	semaines				
	1	3	4	9	12
Souris	x	x		x	
Rats	x		x		x
Cochons d'Inde	x		x		x
Lapins	x		x		x

Tableau 2 — Choix des périodes d'essai pour implantations à long terme dans les tissus sous-cutanés, musculaires et osseux

Espèce	Période d'implantation				
	semaines				
	12	26	52	78	(104)
Rats	x	x	x		
Cochons d'Inde	x	x	x		
Lapins	x	x	x	x	
Chiens	x	x	x	x	x
Moutons	x	x	x	x	x
Chèvres	x	x	x	x	x
Porcs	x	x	x	x	x

Puisqu'elles dépendent de l'utilisation prévue pour le matériau d'essai, toutes les périodes d'implantation ne sont pas forcément nécessaires (voir ISO 10993-1). Une période d'observation de 104 semaines peut être intéressante dans certains cas choisis.

Le nombre d'implants par animal et le nombre d'animaux utilisés pour une période d'observation donnée

sont indiqués aux articles 4 à 6. Un nombre suffisant d'implants doit être placé afin d'assurer la validité des résultats fournis par le nombre final d'éprouvettes à évaluer.

3.3.3 Chirurgie

Anesthésier les animaux. Enlever les poils de la zone chirurgicale par tonte, rasage ou tout autre moyen mécanique. Nettoyer l'emplacement de l'implant avec une solution antiseptique. Vérifier que les poils ne viennent pas en contact avec les implants ou les surfaces de la plaie. Les procédures spécifiques d'insertion ou d'implantation sont décrites aux articles 4 à 6.

La technique chirurgicale adoptée peut influencer profondément sur les résultats d'une procédure d'implantation. L'opération chirurgicale doit être menée dans des conditions d'asepsie et de manière à minimiser le traumatisme sur le lieu de l'implant.

Après l'opération, refermer la plaie au moyen d'agrafes ou de fils de suture, et en prenant des précautions pour maintenir les conditions aseptiques.

3.3.4 Évaluation postopératoire

Observer le comportement de chaque animal à intervalles adéquats pendant la période d'essai et relever toute indication anormale, y compris les anomalies locales, systémiques ou comportementales.

3.3.5 Euthanasie

À la fin de la période d'expérimentation, euthanasier les animaux par overdose anesthésique ou par toute autre méthode acceptable n'entraînant pas de souffrances inutiles (voir ISO 10993-2).

3.4 Évaluation de la réaction biologique

Évaluer la réponse biologique en classant et documentant les réactions macroscopiques et histopathologiques en fonction du temps. Comparer les réactions au matériau essayé et les réactions au matériau de contrôle.

Effectuer la comparaison entre l'implant de contrôle et l'implant d'essai en des emplacements d'implantation équivalents, de manière à minimiser le plus possible l'influence du mouvement relatif entre l'un et l'autre (voir note 2).

NOTE 2 Avec une éprouvette cylindrique, cet emplacement correspond à la partie médiane de l'éprouvette. Avec des implants cylindriques comportant des gorges, ce sont les parties centrales situées entre les gorges et les

surfaces planes des extrémités supérieures de l'implant qui conviennent pour l'évaluation.

Pour un matériau non solide ou particulaire enfermé dans un tube, seule la zone située à l'extrémité de ce dernier est valable pour l'évaluation.

3.4.1 Évaluation macroscopique

À l'aide d'un système de lentilles à faible grossissement, examiner chaque lieu d'implantation. Relever la nature et la valeur de la réaction des tissus observée.

3.4.2 Préparation histologique — Recherche d'implant et préparation des éprouvettes

Exciser l'implant en laissant autour suffisamment de parties de tissu non affecté, pour rendre possible l'évaluation de la réaction biologique locale. Procéder aux études histopathologiques et à toute autre recherche, selon les méthodes appropriées, sur les tissus excisés contenant les implants d'essai et de contrôle.

Avec les techniques classiques, on peut ouvrir l'enveloppe tissulaire avant et après exposition à un fixateur. Cette technique entraîne toutefois généralement une destruction des couches tissulaires.

Si l'on veut étudier l'interface implant/tissu, il est préférable d'enrober de plastique dur in situ l'enveloppe tissulaire intacte et l'implant. La préparation des coupes histologiques se fait de préférence par sectionnement ou polissage. Il doit être démontré que la technique d'enrobage dans du plastique n'altère pas de façon marquée les tissus à l'interface.

3.4.3 Évaluation histologique

La valeur de la réaction peut être déterminée par mesure de la distance entre l'interface implant/tissu et les zones non affectées, en se fondant sur les caractéristiques d'un tissu sain et d'une vascularisation normale. Noter l'orientation des coupes par rapport à la dimension des implants. Relever l'orientation des implants, le nombre de coupes et la géométrie de coupe.

Les paramètres de réaction biologique à évaluer et à prendre en compte comprennent

- l'importance de la fibrine et du dépôt fibrineux, ainsi que de l'inflammation;
- la dégénérescence déterminée selon les variations de morphologie tissulaire;

- le nombre et la répartition des cellules inflammatoires en fonction de leur distance à l'interface matériau/tissu, qui se nomment leucocytes polymorphonucléaires, lymphocytes, plasmocytes, éosinophiles, macrophages et cellules multinuclées;
- la présence de nécroses déclenchées par les déchets des noyaux de cellules et/ou par défaillance de la paroi capillaire;
- d'autres paramètres tels que les débris de matériaux, l'infiltration grasseuse ou la présence de granulome;
- avec les matériaux d'implant poreux, la qualité et la quantité de tissu de réhabitation.

Dans le cas des os, l'interface tissu/matériau est d'un intérêt particulier. Évaluer la zone de contact entre l'os et la masse d'os située à proximité de l'implant, ainsi que l'existence d'une réaction des tissus non calcifiés. Noter la présence d'une éventuelle résorption ou croissance de l'os.

3.5 Rapport d'essai

3.5.1 Contenu du rapport d'essai

Le rapport doit être suffisamment détaillé pour permettre une évaluation indépendante des résultats. Il doit comporter les rubriques listées de 3.5.2 à 3.5.6.

3.5.2 Éprouvettes d'implant

Décrire les matériaux d'essai et de contrôle, leurs conditions d'utilisation, leur fabrication, leur état de surface ainsi que la forme et la taille des implants.

Consigner le raisonnement utilisé pour sélectionner le(s) matériau(x) de contrôle.

La qualité de la préparation de la surface des éprouvettes peut influencer sur la réaction des tissus. Le rapport doit par conséquent contenir la procédure de préparation.

Relever les techniques de nettoyage, de manipulation et de stérilisation employées. Si ceci n'est pas fait en interne, ces informations doivent être transmises par le fabricant avant de procéder aux examens.

3.5.3 Animaux et implantation

Relever l'origine, l'âge, le sexe et la race des animaux. Noter leurs conditions de vie: habitat, régime alimentaire et masse pendant l'étude. La santé des animaux doit être évaluée au cours de l'étude. Toutes les ob-

servations, y compris une mort inattendue survenant pendant cette période, doivent être relevées.

Consigner également les techniques d'insertion, ainsi que le nombre d'implants insérés par animal, par lieu et par période d'observation.

3.5.4 Recherche et procédure histologique

Le rapport doit comporter une description de la technique de recherche. Il doit contenir le nombre d'implants recherchés sur chaque animal et pour chaque période d'observation. L'ensemble des éprouvettes doit être pris en compte comme faisant partie de l'essai. Les techniques employées pour la préparation des coupes histologiques doivent également être décrites.

3.5.5 Évaluation

Les observations macroscopiques doivent inclure les observations effectuées sur chaque implant ainsi que l'aspect macroscopique du tissu entourant l'implant. Le rapport doit comprendre les résultats obtenus à partir de chaque examen histologique.

3.5.6 Évaluation finale

Le rapport d'essai doit comporter une évaluation comparative des réactions biologiques au matériau d'essai et de contrôle, ainsi qu'un exposé descriptif de chaque réaction biologique.

4 Méthode d'essai pour implantation dans les tissus sous-cutanés

4.1 Domaine d'application

La présente méthode d'essai est employée pour évaluer la réaction biologique des tissus sous-cutanés aux matériaux implantés.

L'étude peut être utilisée pour comparer les effets produits par des textures de surface ou des conditions d'utilisation différentes d'un même matériau, ou pour évaluer l'effet produit par des traitements différents ou des modifications apportées à un matériau.

4.2 Principe

Insertion des implants dans les tissus sous-cutanés des animaux servant aux essais. La méthode est fondée sur la comparaison entre la réaction biologique des matériaux d'essai aux implants et la réaction biologique aux implants des matériaux de contrôle cliniquement satisfaisants (voir 3.2.3).

4.3 Éprouvettes d'essai

Les dispositions communes relatives à la préparation des éprouvettes d'essai et de contrôle sont décrites en 3.2. Les dimensions d'implants sont fonction de la taille de l'animal.

4.3.1 Les éprouvettes en feuille doivent avoir 10 mm à 12 mm de diamètre et 0,3 mm à 1 mm d'épaisseur.

NOTE 3 Le milieu sous-cutané, qui se prolonge jusqu'au muscle peaucier, convient particulièrement à l'évaluation des matériaux en feuille polymère. En milieu intramusculaire, les matériaux en feuilles peuvent se plier et rendre difficile l'évaluation de l'effet du matériau en soi.

4.3.2 Les matériaux massifs doivent être transformés en éprouvettes de 1,5 mm de diamètre et 5 mm de long et avoir leurs extrémités arrondies.

4.3.3 Les éprouvettes comportant des gorges doivent avoir 4 mm de diamètre et 7 mm de long (voir annexe B).

NOTE 4 La réhabilitation des tissus à l'intérieur des gorges minimise l'irritation tissulaire provoquée par le mouvement de la zone de liaison.

4.3.4 Les éprouvettes non solides (y compris les poudres) doivent être placées dans des tubes de 1,5 mm de diamètre et 5 mm de long (voir 3.2.2).

4.4 Animaux d'essai et lieux d'implantation

Les implants doivent être insérés dans les tissus sous-cutanés dorsaux de souris, rats, cochons d'Inde ou lapins adultes. Choisir une espèce parmi ces dernières.

Utiliser au moins trois animaux et suffisamment de lieux d'implantation pour avoir 10 éprouvettes par matériau et par période.

4.5 Procédure d'implantation

Choisir l'une des procédures indiquées en 4.5.1 et 4.5.2.

4.5.1 Implantation dans l'axe du dos

À travers une incision de la peau, pratiquer une ou plusieurs poches sous-cutanées par dissection mousse. La base de la poche doit être au moins à 10 mm de la ligne d'incision. Placer un implant dans chaque poche. Les implants ne doivent pas se toucher.