
**Évaluation biologique des dispositifs
médicaux —**

Partie 10:
Essais d'irritation et de sensibilisation

iTeh STANDARD PREVIEW

Biological evaluation of medical devices —
(standards.iteh.ai)

Part 10: Tests for irritation and sensitization
ISO 10993-10:1995

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a5140b46-3995-41a3-89f3-a7b3b8db49e5/iso-10993-10-1995>



Sommaire

	Page
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Définitions	1
4 Principes généraux, approche par étapes	2
5 Essais d'irritation	2
5.1 Facteurs à prendre en considération lors de la conception et du choix des essais	2
5.2 Essai d'irritation de la peau.....	3
5.3 Essai d'irritation oculaire.....	6
5.4 Essai de réactivité intracutanée (intradermique)	8
6 Essais de sensibilisation	10
6.1 Facteurs à prendre en considération lors de la conception et du choix des essais	10
6.2 Essai de maximisation de sensibilisation	11
6.3 Essai de sensibilisation avec système occlusif	13
 Annexes	
A Préparation des matériaux pour les essais.....	16
B Méthode d'extraction des matériaux pour les essais biologiques	17
C Les animaux et leur élevage.....	19
D Essais d'irritation supplémentaires.....	20
E Informations générales.....	28
F Bibliographie	31

© ISO 1995

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 10993-10 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 194, *Évaluation biologique des dispositifs médicaux*.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6440b630/fc41-3-1995/iso-10993-10-1995>

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*
- *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*
- *Partie 11: Essais de toxicité systémique*
- *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: Lignes directrices générales concernant la conception de l'étude toxicocinétique des produits de dégradation et des substances relargables*
- *Partie 17: Résidus de glutaraldéhyde et de formaldéhyde dans des dispositifs médicaux stérilisés industriellement*

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

La présente partie de l'ISO 10993 est le résultat de l'harmonisation de nombreuses normes et lignes directrices, y compris de la norme britannique BS 5736, des lignes directrices de l'OCDE, de la Pharmacopée des États-Unis et de la Pharmacopée européenne. Elle vise à constituer le document global de référence pour la sélection et la conduite des essais permettant d'évaluer les réactions d'irritation et de sensibilisation au matériau et la sécurité du dispositif.

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

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 10993-10:1995](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a5140b46-3995-41a3-89f3-a7b3b8db49e5/iso-10993-10-1995)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a5140b46-3995-41a3-89f3-a7b3b8db49e5/iso-10993-10-1995>

Introduction

La présente partie de l'ISO 10993 évalue les risques éventuels dus au contact des produits chimiques libérés par des dispositifs et pouvant provoquer une irritation de la peau et des muqueuses, une irritation des yeux et une sensibilisation retardée par contact.

Certains matériaux contenus dans ces dispositifs ont fait l'objet d'essais, et le risque d'irritation ou de sensibilisation de la peau ou des muqueuses qu'ils présentent a été documenté. D'autres matériaux ainsi que leurs constituants chimiques n'ont pas fait l'objet d'essais et peuvent agir différemment lorsque des tissus biologiques y sont exposés. Il appartient au fabricant d'évaluer le potentiel de toxicité humaine de chaque dispositif avant de le commercialiser.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.int)

Traditionnellement, des essais limités sur les petits animaux sont effectués avant les essais sur l'homme, afin de faciliter la prévision de la réaction humaine. Plus récemment, des essais in vitro ont été introduits comme une alternative. Malgré les progrès réalisés et les efforts considérables déployés dans ce sens, l'examen des résultats suggère que la panoplie ne comporte à ce jour aucun essai in vitro suffisamment satisfaisant pour éliminer la prescription d'essais in vivo. Lorsque c'est possible, l'emploi préliminaire de méthodes in vitro est encouragé comme essais de sélection préalables aux essais sur les animaux. Afin de réduire le nombre des animaux employés, les présentes normes utilisent une approche par étapes, avec examen et analyse des résultats des essais à chaque étape.

Il incombe au chercheur de conduire ces études en employant de bonnes pratiques de laboratoire, conformes à la réglementation relative au bien-être des animaux. Étant donné que le nombre des animaux est limité, les informations obtenues peuvent ne pas être suffisantes pour justifier l'application des méthodes statistiques.

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10993-10:1995

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a5140b46-3995-41a3-89f3-a7b3b8db49e5/iso-10993-10-1995>

Évaluation biologique des dispositifs médicaux —

Partie 10:

Essais d'irritation et de sensibilisation

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 10993 décrit les méthodes d'essai

- a) pour évaluer le risque d'irritation que présentent les dispositifs et les matériaux qui les constituent;
- b) pour évaluer le risque de sensibilisation que présentent les dispositifs et les matériaux qui les constituent.

Ces méthodes d'essais sont recommandées pour la plupart des catégories de dispositifs et de modes de contact donnés dans l'ISO 10993-1. Dans la liste des essais, choisir ceux qui sont en rapport avec l'utilisation finale du dispositif. Il est également indiqué des lignes directrices sur la préparation des matériaux concernant spécifiquement les essais précités.

NOTE 1 L'annexe D donne des lignes directrices sur la conduite d'essais supplémentaires qui peuvent être spécifiquement requis pour l'évaluation de l'irritation orale, rectale, pénienne et vaginale.

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 10993-12:—¹⁾, *Évaluation biologique des dispositifs médicaux — Partie 12: Préparation des échantillons et matériaux de référence.*

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a5140b46-3995-41a3-89f3-10993-10-1995>

3 Définitions

Pour les besoins de la présente partie de l'ISO 10993, les définitions données dans l'ISO 10993-1 ainsi que les définitions suivantes s'appliquent.

3.1 sensibilisation (allergique par contact); hypersensibilité retardée par contact: Réaction allergique faisant intervenir des systèmes immunologiques qui ont été activés par une exposition préalable.

3.2 irritation: Réaction inflammatoire localisée à une application unique ou à l'application répétée ou continue de la substance soumise à l'essai, sans mise en cause d'un mécanisme immunologique.

3.3 œdème: Gonflement dû à l'infiltration anormale d'un fluide dans la peau.

3.4 érythème: Rougissement de la peau ou d'une membrane muqueuse.

3.5 escarre: Croûte ou lividité de la peau.

1) À publier.

3.6 corrosion: Détérioration irréversible des tissus au point de contact avec la peau, par suite de l'application d'une substance à l'essai.

3.7 ulcération: Plaie ouverte représentant une perte des tissus superficiels.

3.8 nécrose: Mort de cellules et/ou de tissus.

3.9 témoin négatif: Substance qui ressemble étroitement par sa forme à la substance étudiée et qui, soumise à l'essai conformément à la présente partie de l'ISO 10993, ne se révèle ni irritante, ni sensibilisatrice.

3.10 témoin positif: Substance qui, soumise à l'essai conformément à la présente partie de l'ISO 10993, donne une réaction d'irritation ou de sensibilisation reproductible.

3.11 solvant: Substance (produit chimique, excipient, milieu, etc.) utilisée pour humidifier, diluer, mettre en suspension, extraire ou dissoudre la substance soumise à l'essai.

3.12 substance témoin: Solvant utilisé pour humidifier, diluer, mettre en suspension, extraire ou dissoudre la substance étudiée et qui est soumis aux essais en même temps que la substance étudiée humidifiée, diluée, mise en suspension, extraite ou dissoute.

4 Principes généraux, approche par étapes

La présente partie de l'ISO 10993 préconise une approche qui peut être composée des étapes suivantes:

- étude de la littérature;
- essais in vitro (s'il en existe et s'ils ont été approuvés);
- essais in vivo;
- essais non invasifs sur l'homme/essais cliniques.

La première étape est une étude de la littérature et elle doit comporter une évaluation des caractéristiques chimiques et physiques ainsi qu'une information sur les produits chimiques et les matériaux structurellement associés. S'ils ne sont pas déjà connus, le pH et le pKa du matériau (liquide, solution ou extraits du matériau) doivent être mesurés avant tout essai in vivo ou in vitro.

La seconde étape prévoit des essais in vitro. Ces derniers doivent toujours être envisagés de préférence aux essais in vivo qu'ils doivent remplacer, chaque fois que de nouvelles méthodes in vitro apparaissent et sont approuvées.

Dans la troisième étape, des études sur la toxicité aiguë sont entreprises in vivo pour étudier des matériaux qui n'ont pas déjà été classés comme des irritants sévères ou des sensibilisateurs puissants au cours des étapes a) ou b). Les matériaux qui ne présentent pas de risque de toxicité aiguë peuvent faire l'objet d'une évaluation plus approfondie avec exposition répétée.

Il n'existe actuellement aucune méthode d'essai in vitro approuvée (en dehors des balayages simples) pour détecter les irritants ou les sensibilisateurs; par conséquent, les lignes directrices sont fournies pour la conduite d'essais in vivo sur des espèces autres que l'espèce humaine.

Il n'est pas nécessaire d'utiliser des témoins positifs pour chaque essai in vivo. Un témoin positif doit être employé périodiquement pour valider le système d'essai et démontrer une réaction positive.

Si une évaluation n'est pas possible par les étapes ci-dessus, il convient d'envisager des essais non invasifs sur l'homme.

STANDARD PREVIEW 5 Essais d'irritation (standards.iteh.ai)

5.1 Facteurs à prendre en considération lors de la conception et du choix des essais

Les facteurs affectant les résultats des études d'irritation comportent

- la compresse d'essai;
- le degré d'occlusion;
- l'application de la substance soumise à l'essai;
- la zone d'application;
- la durée de l'exposition;
- les techniques employées pour évaluer l'essai.

Des informations complémentaires d'ordre général figurent dans l'annexe E.

Tandis qu'une souplesse accrue permet au chercheur d'améliorer la sensibilité de l'essai pour simuler les conditions d'utilisation et d'exposition de la population, l'homogénéité des modes opératoires contribue à la comparabilité des résultats des essais avec des matériaux différents provenant de laboratoires différents.

Des dispositions ont été incluses dans les modes opératoires d'essai pour l'évaluation des dispositifs et des matériaux dont l'exposition est répétée et/ou prolongée. Il convient que le chercheur, en consultation avec le fabricant du dispositif, conçoive l'étude

de manière à exagérer le contact (temps et/ou concentration) prévu en situation clinique. Bien que l'utilisation d'une concentration ou d'un extrait exagéré de matériau soit acceptable, il convient d'en tenir compte lors de l'interprétation des résultats.

Pour les produits destinés à être utilisés en grandes quantités sur peau normale ou anormale, aucun risque sérieux n'est généralement accepté; cependant, malgré leur tendance à irriter, un grand nombre de produits sont tout à fait acceptables en raison des avantages qui leur sont inhérents.

Si le pH du matériau soumis à l'essai est inférieur ou égal à 2 ou supérieur ou égal à 11,5, le matériau en question peut être déclaré irritant et des essais complémentaires sont superflus. Cependant, les résultats des expériences suggèrent que l'acidité et l'alcalinité du matériau soumis à l'essai ne sont pas les seuls facteurs à prendre en considération pour juger de la capacité d'une substance à affecter gravement la santé. La concentration du matériau soumis à l'essai, la durée du contact et de nombreuses autres caractéristiques physiques et chimiques sont également importantes.

Étant donné que les concentrations des doses des modes opératoires d'essai peuvent être exagérées, un essai positif n'exclut pas nécessairement l'utilisation du matériau en question.

5.2 Essai d'irritation de la peau

5.2.1 Principe

Évaluation du risque d'irritation dermique que présente le matériau soumis à l'essai.

5.2.2 Matériau soumis à l'essai

Si le matériau soumis à l'essai est un solide ou un liquide, il doit être préparé conformément à l'annexe A.

Si le matériau doit être soumis à l'essai sous forme d'extrait, il doit être préparé conformément à l'annexe B.

5.2.3 Les animaux et leur élevage

Des lapins albinos, adultes, sains et jeunes, des deux sexes et de même race pesant au minimum 2 kg doivent être utilisés.

Les animaux doivent être acclimatés et soignés conformément à l'annexe C.

Au départ, un animal doit être utilisé pour évaluer le matériau soumis à l'essai.

Une réaction bien définie chez un animal évite la nécessité de poursuivre les essais.

Pour les matériaux solides ou liquides, sauf si une réaction bien définie a été observée, au moins deux animaux supplémentaires doivent être utilisés. Pour les extraits, au moins deux animaux supplémentaires par extrait doivent être utilisés.

Si, lors de l'essai avec au moins trois animaux, la réaction est douteuse ou équivoque, des essais complémentaires doivent être envisagés.

5.2.4 Mode opératoire

5.2.4.1 Préparation des animaux

La veille de l'essai, tondre avec soin la fourrure sur le dos des animaux sur une distance suffisante des deux côtés de l'épine dorsale pour permettre l'application et l'observation de toutes les zones d'essai (environ 10 cm x 15 cm). N'utiliser que des animaux dont la peau est intacte et saine.

NOTE 2 L'abrasion de la zone d'essai n'est pas nécessaire car l'expérience montre que les réactions sur les zones abrasées et sur les zones non abrasées sont identiques.

Si une exposition répétée est requise, suivre le mode opératoire de 5.2.4.2, 5.2.4.3 ou 5.2.4.4, répétée sur un maximum de 21 jours.

5.2.4.2 Échantillon en poudre ou liquide

Appliquer 0,5 g ou 0,5 ml du matériau soumis à l'essai directement sur chaque zone d'essai de la peau selon les indications de la figure 1. Si la substance est une poudre, elle doit être légèrement humidifiée avec de l'eau ou un autre solvant approprié avant l'application.

Couvrir les zones d'application d'un pansement non occlusif (par exemple une compresse de gaze) de 25 mm x 25 mm, puis envelopper la zone d'application d'un bandage semi-occlusif qui doit être maintenu pendant un minimum de 4 h. À la fin de cette période de contact, enlever les pansements et repérer la position des zones. Éliminer les résidus de la substance étudiée par les moyens appropriés, tels que lavage à l'eau tiède ou avec tout autre solvant approprié non irritant, et sécher soigneusement.

5.2.4.3 Extraits et agents d'extraction

Appliquer l'extrait ou les extraits appropriés sur les compresses de gaze quatre plis de 25 mm x 25 mm (0,5 ml par compresse), une compresse de gaze étant appliquée sur chaque côté de l'animal selon les indications de la figure 1. Appliquer une compresse de gaze témoin humidifiée avec le milieu d'extraction sur l'autre côté.

Envelopper la zone d'application d'un bandage semi-occlusif qui doit être maintenu pendant un minimum de 4 h. À la fin de cette période de contact, enlever les pansements et repérer la position des zones.

Éliminer les résidus de la substance soumise à l'essai par les moyens appropriés, tels que lavage à l'eau tiède ou avec tout autre solvant approprié non irritant, et sécher soigneusement.

5.2.4.4 Échantillon solide

Appliquer les échantillons du matériau soumis à l'essai directement sur la peau des côtés de chaque lapin selon les indications de la figure 1. De la même manière, appliquer les échantillons témoins sur chaque lapin.

Lorsqu'on fait un essai avec des solides (qui peuvent être pulvérisés si on le juge nécessaire), la substance soumise à l'essai doit être suffisamment humidifiée avec de l'eau ou, suivant le cas, avec un autre solvant, pour assurer un bon contact avec la peau. En cas d'utilisation de solvants, l'influence du solvant sur l'irritation de la peau par la substance soumise à l'essai doit être prise en considération.

Couvrir les zones d'application de pansements non occlusifs de 25 mm x 25 mm (par exemple une compresse de gaze) puis envelopper la zone d'application d'un bandage semi-occlusif qui doit être maintenu

pendant un minimum de 4 h. À la fin de cette période de contact, enlever les pansements et repérer la position des zones. Éliminer les résidus de la substance soumise à l'essai par les moyens appropriés, tels que lavage à l'eau tiède ou avec tout autre solvant approprié non irritant, et sécher soigneusement.

5.2.5 Observation des animaux

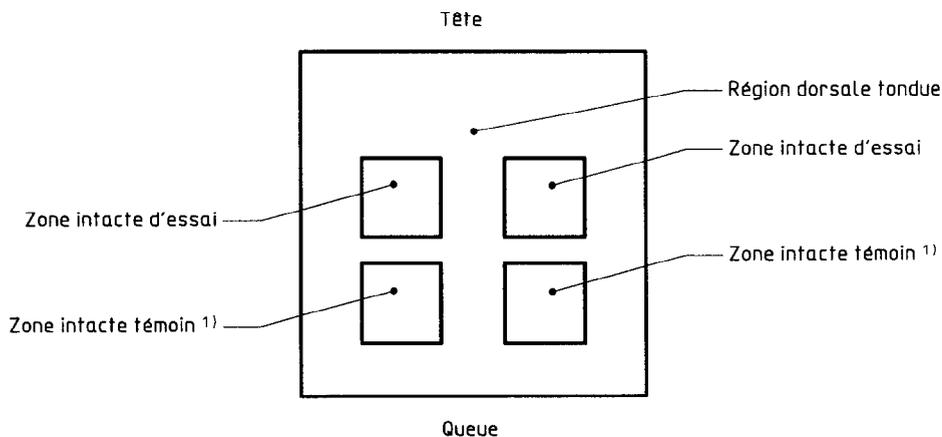
Pour les études de toxicité aiguë (une seule exposition), noter l'aspect de chaque zone d'application à 1 h, 24 h, 48 h et 72 h après avoir enlevé les compresses. La période d'observation peut être prolongée en cas de lésions persistantes, afin de déterminer s'il s'agit de lésions réversibles ou irréversibles, mais ne doit pas dépasser 14 jours.

Pour l'exposition répétée, noter l'aspect de la zone d'application 1 h après avoir enlevé les compresses et immédiatement avant l'application suivante. Après la dernière exposition, noter l'aspect de chaque zone d'application 1 h, 24 h, 48 h et 72 h après avoir enlevé les compresses. La période d'observation peut être prolongée en cas de lésions persistantes, afin de déterminer s'il s'agit de lésions réversibles ou irréversibles, mais ne doit pas dépasser 14 jours.

(standards.iteh.ai)

ISO 10993-10:1995

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a5140b46-3995-41a3-89f3-a7b3b8db49e5/iso-10993-10-1995>



1) Si la préparation de l'échantillon nécessite ce type de témoin

Figure 1 — Position des zones d'application sur la peau

Décrire et classer les réactions d'érythème et d'œdème de la peau selon le système de classification donné dans le tableau 1 pour chaque zone d'application et à chaque intervalle de temps et enregistrer les résultats pour le procès-verbal d'essai.

NOTE 3 Dans certains cas, on peut recourir à des techniques histologiques non invasives.

Tableau 1 — Système de classification des réactions de la peau

Réaction	Classification numérique
Formation d'érythème et d'escarre	
Pas d'érythème	0
Très léger érythème (à peine perceptible)	1
Érythème bien défini	2
Érythème modéré	3
Érythème grave (couleur rouge betterave) à formation d'escarre empêchant la dégradation de l'érythème	4
Formation d'œdème	
Pas d'œdème	0
Œdème très léger (à peine perceptible)	1
Œdème bien défini (bords de la zone bien délimités par un gonflement net)	2
Œdème modéré (gonflement d'environ 1 mm)	3
Œdème grave (gonflement de plus de 1 mm se prolongeant au-delà de la zone d'exposition)	4
Résultat total possible pour l'irritation	8
NOTE — Toute autre modification préjudiciable sur les zones de peau concernées doit être enregistrée et consignée dans le rapport.	

5.2.6 Évaluation des résultats

En cas d'exposition aiguë, déterminer l'indice d'irritation primaire (IIP) en procédant de la manière suivante.

Pour chaque animal, faire la somme des résultats d'irritation primaire obtenus avec le matériau étudié pour les réactions d'œdème et d'érythème à la fin de chaque période prescrite et diviser le résultat par le nombre total des observations (six; deux à la fin de chaque période prescrite). Si des excipients témoins sont utilisés, calculer le résultat d'irritation primaire pour l'excipient témoin et soustraire ce résultat du résultat du matériau soumis à essai pour obtenir le résultat d'irritation primaire.

N'utiliser pour les calculs que les observations faites au bout de 24 h, 48 h et 72 h. Les observations faites avant l'administration ou au-delà de 72 h pour sur-

veiller la guérison ne sont pas utilisées pour cette détermination.

Faire la somme des résultats obtenus pour chacun des animaux et diviser le total par le nombre des animaux. Cette valeur est l'indice d'irritation primaire.

Pour l'exposition répétée, déterminer l'indice d'irritation cumulé en procédant de la manière suivante.

Pour chaque animal, faire la somme des résultats d'irritation (pour à la fois érythème et œdème), à la fin de chaque période prescrite. Diviser le total obtenu par le nombre total des observations pour obtenir le résultat d'irritation par animal.

Faire la somme des résultats d'irritation de chacun des animaux et diviser par le nombre total des animaux. La valeur obtenue est l'indice d'irritation cumulé.

L'indice d'irritation cumulé est alors comparé aux catégories d'indices d'irritation cumulés définies dans le tableau 2 et la catégorie appropriée est enregistrée pour le rapport.

NOTE 4 Les catégories d'indices d'irritation cumulés ont pour base les informations associant l'indice d'irritation primaire (IIP) pour les produits chimiques chez les lapins à la réaction d'irritation primaire chez l'homme pour un certain nombre de produits chimiques qui ont été essayés sur les deux espèces.

Pour toute réaction, déterminer la réaction d'irritation maximale, le délai d'apparition de la réaction et le délai de réaction maximale.

L'indice d'irritation primaire ou l'indice d'irritation cumulé sont caractérisés par l'un des nombres et par l'une des descriptions du tableau 2.

Tableau 2 — Catégories de réactions d'irritation chez le lapin

Catégorie de la réaction	Résultat moyen
Négligeable	0 à 0,4
Légère	0,5 à 1,9
Modérée	2 à 4,9
Grave	5 à 8

5.2.7 Présentation des résultats

Le rapport d'essai doit comporter

- une description du (ou des) matériau(x) ou du dispositif soumis à essai;
- l'utilisation ou l'application auxquelles sont destinés le (ou les) matériau(x) ou le dispositif soumis à l'essai;

- c) une description détaillée de la méthode utilisée pour préparer le matériau ou le dispositif soumis à l'essai;
- d) les animaux de l'essai;
- e) la méthode d'application sur les zones d'essai;
- f) la manière dont l'examen visuel des zones concernées a été effectué et un enregistrement des observations;
- g) l'évaluation des résultats.

5.3 Essai d'irritation oculaire

5.3.1 Principe

Évaluation du risque d'irritation oculaire que présente le matériau soumis à l'essai.

5.3.2 Matériaux exclus de l'essai

Les matériaux et/ou produits finaux dont une étude dermique a démontré des propriétés corrosives nettes ou un pouvoir d'irritation grave n'ont pas à faire l'objet d'essais complémentaires d'irritation oculaire. Les substances fortement acides ou alcalines ($\text{pH} \leq 2$ ou $\text{pH} \geq 11,5$) ne doivent pas être soumises à ces essais car leurs propriétés corrosives sont prévisibles. Ces produits doivent être considérés comme irritants pour les yeux.

5.3.3 Matériau soumis à l'essai

Si le matériau soumis à l'essai est un liquide, instiller 0,1 ml de cette substance non diluée dans le sac conjonctival inférieur d'un œil.

Si le matériau soumis à l'essai est un produit solide ou granulaire, le réduire en une fine poussière. Après un tassement modéré, instiller cette quantité, dont le volume et le poids sont respectivement 0,1 ml et moins de 100 mg, dans le sac conjonctival inférieur d'un œil.

NOTE 5 Certains produits ne peuvent pas être soumis à des essais directement dans l'œil. Une dégradation mécanique peut rendre l'essai inutile.

Si le matériau soumis à l'essai se trouve dans un pulvérisateur, il doit être expulsé et on doit en administrer 0,1 ml comme pour les liquides.

Si le matériau soumis à l'essai se trouve dans une bombe aérosol, il peut être examiné

- a) soit par une seule pulvérisation d'une durée de 1 s à une distance de 10 cm dirigée vers l'œil ouvert;
- b) soit par expulsion du produit aérosol dans un récipient frais pour procéder comme pour les liquides.

Si le matériau soumis à l'essai est tel qu'il ne puisse être appliqué que sous forme d'extrait, préparer les extraits selon les indications de l'annexe B. Instiller un aliquote de 0,1 ml de l'extrait dans le sac conjonctival inférieur d'un œil.

Préparer les substances témoins dans des conditions identiques à celles décrites ci-dessus, en utilisant et le solvant polaire, et le solvant non polaire, en l'absence de matériau soumis à l'essai.

5.3.4 Les animaux et leur élevage

Utiliser des lapins albinos, adultes jeunes et sains, des deux sexes et de même race, pesant entre 2 kg et 3 kg.

Les animaux doivent être acclimatés et soignés conformément aux modes opératoires prescrits dans l'annexe C.

Au départ, utiliser un animal pour évaluer le matériau soumis à l'essai.

Une réaction bien définie chez un animal ne nécessite pas la poursuite des essais.

Pour les matériaux solides ou liquides, sauf s'il a été observé une réaction bien définie, prévoir au minimum deux animaux supplémentaires. Pour les extraits, prévoir au minimum deux animaux supplémentaires par extrait.

Si, lors de l'essai avec au moins trois animaux, la réaction est douteuse ou équivoque des essais complémentaires doivent être envisagés.

5.3.5 Mode opératoire

Au plus tard 24 h avant le début de l'essai, examiner visuellement les deux yeux de chaque lapin pour déceler toute anomalie oculaire éventuelle. Si l'un des yeux présente une anomalie quelconque, choisir un autre lapin.

Lors de l'examen des yeux, il est possible d'utiliser de la fluorescéine sodique à 2 % BP pour visualiser une éventuelle dégradation de la cornée. Il est recommandé d'utiliser un ophtalmoscope, une lampe à fente manuelle ou tout autre dispositif approprié.

Instiller le matériau soumis à l'essai selon les indications de 5.3.3.

Maintenir les paupières closes pendant 1 s environ après l'instillation.

NOTE 6 L'œil controlatéral de chaque animal sert de témoin non traité.

Si une exposition répétée au matériau est prévue et si le matériau soumis à l'essai n'a pas démontré lors de

l'essai de toxicité aiguë une réaction significative, une étude par exposition répétée peut être réalisée. Il convient que la durée de l'exposition soit du même ordre que la durée d'utilisation du matériau ou du dispositif en situation clinique.

5.3.6 Observation des animaux

Pour des animaux qui reçoivent une seule instillation du matériau soumis à l'essai, examiner les deux yeux de chaque animal environ 1 h, 24 h, 48 h et 72 h après l'instillation.

Il peut être nécessaire de prolonger l'observation en cas de lésions persistantes pour déterminer l'aggravation des lésions ou leur recul; il n'y a généralement pas lieu de dépasser 21 jours. Une prolongation de l'observation n'est pas justifiable pour les animaux atteints de lésions graves.

Classer et enregistrer toutes les réactions observées en fonction de l'échelle de classement des lésions oculaires donnée dans le tableau 3.

Pour des animaux qui reçoivent des instillations multiples du matériau soumis à l'essai, examiner les deux yeux de chaque animal immédiatement avant et environ 1 h après chaque instillation.

Dans le cas de signes évidents d'irritation à la suite du dernier traitement, les observations peuvent être prolongées. Il peut être nécessaire de prolonger l'observation si la cornée demeure affectée ou en cas de persistance d'une autre irritation oculaire afin de déterminer l'évolution des lésions et leur réversibilité.

Classer et enregistrer les réactions observées conformément à l'échelle de classement des lésions oculaires donnée dans le tableau 3.

Éliminer immédiatement de l'étude et tuer avec humanité tout animal qui, à n'importe quel moment, manifeste

- a) des lésions oculaires graves (par exemple écoulement et ulcération de la membrane conjonctivale, perforation de la cornée, présence de sang ou de pus dans la chambre antérieure); ou
- b) des taches de sang ou un écoulement purulent; ou
- c) une ulcération significative de la cornée.

Éliminer de l'étude tout animal qui présente les effets maximaux d'après le système de classification du tableau 3 — absence de réflexion de la lumière (réaction de l'iris de niveau 2) ou opacité de la cornée (de niveau 4) — sans signe de récupération dans les 24 h ou inflammation conjonctivale maximale (chémose de niveau 4 et rougeur de niveau 3) — sans signe de récupération dans les 48 h, et tuer l'animal non cruellement.

5.3.7 Évaluation des résultats

Les différences entre l'œil qui a subi l'essai et l'œil témoin doivent être caractérisées et expliquées dans les termes du système de classification utilisé dans le tableau 3.

5.3.7.1 Exposition aiguë

Si l'œil traité chez plus d'un animal présente une réaction positive (chiffres repérés par un astérisque dans le tableau 3) à l'un quelconque des moments d'observation, le matériau est alors considéré comme irritant pour les yeux et il n'est pas nécessaire de poursuivre les essais.

Si un seul des trois yeux traités présente une réaction positive ou si les réactions sont équivoques, d'autres animaux doivent être traités.

Lorsque d'autres animaux ont été traités, le matériau soumis à l'essai est considéré comme irritant pour les yeux si plus de la moitié des yeux traités dans le groupe d'essai présentent une réaction positive (chiffres repérés par un astérisque dans le tableau 3) à l'un quelconque des stades de l'observation.

Une réaction grave chez un seul animal est considérée comme suffisante pour qualifier le matériau d'irritant pour les yeux.

5.3.7.2 Exposition répétée

Le matériau soumis à l'essai est considéré comme irritant pour les yeux si plus de la moitié des animaux du groupe soumis à l'essai présentent une réaction positive (chiffres repérés par un astérisque dans le tableau 3) à l'un quelconque des stades de l'observation.

5.3.8 Présentation des résultats

Le rapport d'essai doit comporter

- a) une description du (ou des) matériau(x) soumis à l'essai;
- b) l'utilisation et/ou l'application auxquelles sont destinés le (ou les) matériaux ou le dispositif soumis à l'essai;
- c) une description détaillée de la méthode employée pour préparer le matériau soumis à l'essai;
- d) les animaux de l'essai;
- e) la méthode d'instillation;
- f) la manière dont les examens visuels ont été effectués et un enregistrement des observations;
- g) l'évaluation des résultats.