
**Évaluation biologique des dispositifs
médicaux —**

Partie 5:
Essais concernant la cytotoxicité in vitro

Biological evaluation of medical devices
Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity
(standards.iteh.ai)

[ISO 10993-5:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/38efc185-aa0d-4266-b7f8-c9dab53857b4/iso-10993-5-1999)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/38efc185-aa0d-4266-b7f8-c9dab53857b4/iso-10993-5-1999>



Sommaire	Page
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions.....	1
4 Préparation des échantillons.....	3
5 Lignées cellulaires.....	4
6 Milieu de culture.....	5
7 Préparation de la culture-stock cellulaire	5
8 Modes opératoires d'essai.....	5
9 Rapport d'essai	9
10 Interprétation des résultats	9

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 10993-5:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/38efc185-aa0d-4266-b7f8-c9dab53857b4/iso-10993-5-1999)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/38efc185-aa0d-4266-b7f8-c9dab53857b4/iso-10993-5-1999>

© ISO 1999

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
Internet iso@iso.ch

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 Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 3.

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 10993-5 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 194, *Évaluation biologique des dispositifs médicaux*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 10993-5:1992), dont elle constitue une révision technique.

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

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

- *Partie 1: Évaluation et 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 concernant la cytotoxicité in vitro*
- *Partie 6: Essais concernant les effets locaux après implantation*
- *Partie 7: Résidus de stérilisation à l'oxyde d'éthylène*
- *Partie 8: Guide des matériaux de référence*
- *Partie 9: Cadre pour l'identification et la quantification des produits potentiels de dégradation*
- *Partie 10: Essais d'irritation et de sensibilisation*
- *Partie 11: Essais de toxicité systémique*
- *Partie 12: Préparation des échantillons et des matériaux de référence*
- *Partie 13: Identification et quantification de produits de dégradation à base de polymères*
- *Partie 14: Identification et quantification des produits de dégradation de céramiques*
- *Partie 15: Identification et quantification des produits de dégradation de métaux et alliages*
- *Partie 16: Conception des études toxicocinétiques des produits de dégradation et des substances relargables*

- *Partie 17: Méthodes d'établissement des limites tolérables des résidus dans les dispositifs médicaux au moyen d'évaluation de risques relatifs à la santé*
- *Partie 18: Caractérisation chimique des matériaux*

Des parties ultérieures traiteront d'autres aspects en rapport avec les essais biologiques.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 10993-5:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/38efc185-aa0d-4266-b7f8-c9dab53857b4/iso-10993-5-1999>

Introduction

Étant donné l'utilisation généralisée des essais de cytotoxicité in vitro et de leur utilisation largement répandue pour l'évaluation d'un grand nombre de dispositifs et matériaux médicaux, la présente partie de l'ISO 10993, plutôt que de spécifier un essai unique, a pour objet de définir un programme d'essais impliquant une prise de décision graduelle afin de permettre de choisir l'essai le plus approprié.

Trois catégories d'essais sont présentées: les essais utilisant un extrait, les essais en contact direct, les essais en contact indirect.

Le choix d'une ou plusieurs de ces catégories dépend de la nature de l'échantillon devant être évalué, du site potentiel d'utilisation et de la nature de l'utilisation.

Ce choix détermine alors les détails de la préparation des échantillons à soumettre à un essai, la préparation des cellules en culture, et la manière dont les cellules sont exposées aux échantillons ou à leurs extraits.

À la fin de la période d'exposition, l'évaluation de la présence et de l'étendue de l'effet cytotoxique est effectuée. La présente partie de l'ISO 10993 a pour objet de laisser ouvert le choix quant au type d'évaluation. Cette stratégie permet d'utiliser différents essais et reflète l'approche de nombreux groupes qui préconisent les essais biologiques in vitro.

Les nombreuses méthodes utilisées et les valeurs extrêmes mesurées lors de la détermination de la cytotoxicité peuvent être regroupés en quatre catégories de type d'évaluation.

- a) l'évaluation de l'atteinte des cellules par des observations morphologiques;
- b) le mesurage de l'atteinte des cellules;
- c) le mesurage de la croissance des cellules;
- d) le mesurage de certains aspects spécifiques du métabolisme cellulaire.

Il existe ainsi plusieurs moyens d'obtenir des résultats dans ces quatre différentes catégories. Il convient que la personne réalisant l'étude connaisse les différentes catégories d'essai et sache dans laquelle classer une technique particulière, afin qu'il soit possible de comparer les résultats avec ceux obtenus sur des dispositifs ou matériaux médicaux similaires, et de procéder à des essais interlaboratoires.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10993-5:1999

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/38efc185-aa0d-4266-b7f8-c9dab53857b4/iso-10993-5-1999>

Évaluation biologique des dispositifs médicaux —

Partie 5: Essais concernant la cytotoxicité in vitro

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 10993 décrit des méthodes d'essai pour mesurer la cytotoxicité in vitro des dispositifs médicaux.

Ces méthodes spécifient l'incubation de cellules en culture soit directement, soit par diffusion

a) avec des extraits du dispositif, et/ou

b) en contact direct avec le dispositif.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 10993-5:1999
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/38efc185-aa0d-4266-b7f8-c9dab53857b4/iso-10993-5-1999>

Ces méthodes sont destinées à déterminer la réponse biologique de cellules de mammifères in vitro, à l'aide de paramètres biologiques appropriés.

2 Références normatives

Les documents normatifs suivants contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui y est faite, constituent des dispositions valables pour la présente partie de l'ISO 10993. Pour les références datées, les amendements ultérieurs ou les révisions de ces publications ne s'appliquent pas. Toutefois, les parties prenantes aux accords fondés sur la présente partie de l'ISO 10993 sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des documents normatifs indiqués ci-après. Pour les références non datées, la dernière édition du document normatif en référence s'applique. Les membres de l'ISO et de la CEI possèdent le registre des Normes internationales en vigueur.

ISO 10993-1, *Évaluation biologique des dispositifs médicaux — Partie 1: Évaluation et essais.*

ISO 10993-12:1996, *Évaluation biologique des dispositifs médicaux — Partie 12: Préparation des échantillons et des matériaux de référence.*

3 Termes et définitions

Pour les besoins de la présente partie de l'ISO 10993, les termes et définitions donnés dans l'ISO 10993-1 ainsi que les suivants s'appliquent.

3.1

matériau contrôle négatif

matériau qui, lorsqu'il est soumis à un essai conformément à la présente partie de ISO 10993, ne produit pas de réponse cytotoxique

NOTE L'objet du contrôle négatif est de mettre en évidence la réponse basale des cellules. Par exemple, le polyéthylène haute densité¹⁾ dans le cas des polymères synthétiques, et des bâtonnets de céramique en alumine dans le cas des matériaux dentaires, ont été utilisés comme contrôles négatifs.

3.2

matériau contrôle positif

matériau qui, lorsqu'il est soumis à un essai conformément à la présente partie de ISO 10993, induit une réponse cytotoxique reproductible

NOTE L'objet du contrôle positif est de mettre en évidence une réponse adaptée au test choisi. Par exemple, un chlorure de polyvinyle stabilisé par l'étain²⁾ à été utilisé comme contrôle positif pour les matériaux solides et les extraits. Des dilutions de phénol, par exemple, ont été utilisées comme contrôle positif pour les extraits.

3.3

réactif contrôle

véhicule d'extraction soumis aux conditions d'extraction et au protocole d'essai, mais sans le matériau d'essai

NOTE Pour les besoins de la présente partie de l'ISO 10993, cette définition remplace celle donnée en 3.1 de l'ISO 10993-12:1996.

3.4

réipients de culture

réipients convenant à la culture de cellules, y compris les boîtes de Pétri en verre, les flacons de culture en plastique ou les plaques multipuits en plastique pour microtitration

NOTE Les réipients de culture peuvent être utilisés de manière interchangeable dans le cadre de ces méthodes, à condition qu'ils soient conformes aux exigences s'appliquant à la classe de culture cellulaire et qu'ils conviennent pour la culture de cellules de mammifères.

3.5

sous-confluence

environ 80 % de la confluence, c'est-à-dire la fin de la phase logarithmique de la croissance

¹⁾ Le polyéthylène haute densité peut être obtenu auprès de la Pharmacopée des États-Unis (Rockville, Maryland, USA) et du Food and Drug Safety Center, Hatano Research Institute (Ochiai 729-5, Hadanoshi, Kanagawa 257 – Japon). Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 10993 et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

²⁾ Le chlorure de polyvinyle stabilisé par l'étain est disponible auprès de SIMS Portex Ltd, Hythe, Kent, CT21 6JL, Royaume-Uni (produit n° 499-300-000). Les polyuréthanes ZDEC et ZDBC sont disponibles auprès du Food and Drug Safety Center, Hatano Research Institute (Ochiai 729-5, Hadanoshi, Kanagawa 257 – Japon). Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 10993 et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif des produits ainsi désignés.

4 Préparation des échantillons

4.1 Généralités

L'essai doit être réalisé avec

- a) un extrait du matériau, et/ou
- b) le matériau lui-même.

L'échantillon doit être préparé conformément à l'ISO 10993-12.

4.2 Préparation des liquides d'extraction du matériau

4.2.1 Principe de l'extraction

Il convient que les conditions d'extraction simulent ou exagèrent les conditions d'utilisation clinique du matériau, afin de définir le danger potentiel de toxicité, sans induire de modifications significatives pour le matériau d'essai telles qu'une fusion, un ramollissement ou une altération de sa structure chimique.

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

4.2.2 Véhicule d'extraction

Pour les essais avec des cellules de mammifères, un ou plusieurs des solvants suivants doivent être utilisés; le choix du (des) véhicule(s) d'extraction doit être justifié:

- a) milieu de culture avec sérum;
- b) milieu de culture sans sérum;
- c) solution saline physiologique;
- d) tout autre solvant approprié.

NOTE Il convient que le choix du solvant reflète le but de l'extraction. L'utilisation d'un solvant polaire ainsi que d'un solvant non polaire doit également être prise en considération. L'eau purifiée, l'huile végétale et le diméthylsulfoxyde (DMSO) sont des solvants appropriés. Le DMSO est connu pour être cytotoxique dans le cadre de certains essais à des concentrations supérieures à une fraction volumique de 0,5 %.

4.2.3 Conditions d'extraction

4.2.3.1 L'extraction doit être réalisée dans des récipients fermés, stériles, chimiquement inertes et en conditions d'asepsie, conformément à l'ISO 10993-12.

4.2.3.2 Les conditions recommandées pour l'extraction sont les suivantes:

- a) pas moins de 24 h à (37 ± 2) °C;
- b) (72 ± 2) h à (50 ± 2) °C;
- c) (24 ± 2) h à (70 ± 2) °C;
- d) $(1 \pm 0,2)$ h à (121 ± 2) °C.

Les conditions d'extraction recommandées peuvent être mises en pratique selon les caractéristiques du matériel et ses conditions spécifiques d'utilisation.