

---

---

**Évaluation biologique des dispositifs  
médicaux —**

**Partie 11:  
Essais de toxicité systémique**

*Biological evaluation of medical devices —  
Part 11: Tests for systemic toxicity*  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 10993-11:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b278e095-e08c-4ed9-80b5-ef8b1ca465a0/iso-10993-11-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b278e095-e08c-4ed9-80b5-ef8b1ca465a0/iso-10993-11-2006>



**PDF – Exonération de responsabilité**

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 10993-11:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b278e095-e08c-4ed9-80b5-ef8b1ca465a0/iso-10993-11-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b278e095-e08c-4ed9-80b5-ef8b1ca465a0/iso-10993-11-2006>

© ISO 2006

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'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax. + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction.....	vi
1 <b>Domaine d'application</b> .....	1
2 <b>Références normatives</b> .....	1
3 <b>Termes et définitions</b> .....	1
4 <b>Considérations générales</b> .....	3
4.1 <b>Généralités</b> .....	3
4.2 <b>Sélection d'une espèce animale</b> .....	3
4.3 <b>État de l'animal</b> .....	3
4.4 <b>Soins portés aux animaux et élevage</b> .....	3
4.5 <b>Taille et nombre des groupes</b> .....	4
4.6 <b>Voie d'exposition</b> .....	5
4.7 <b>Préparation des échantillons</b> .....	5
4.8 <b>Dosage</b> .....	5
4.9 <b>Masse corporelle et consommation d'eau et de nourriture</b> .....	6
4.10 <b>Observations cliniques</b> .....	6
4.11 <b>Pathologie clinique</b> .....	7
4.12 <b>Pathologie anatomique</b> .....	7
4.13 <b>Conception des études</b> .....	8
4.14 <b>Qualité des enquêtes</b> .....	8
5 <b>Toxicité systémique aiguë</b> .....	8
5.1 <b>Généralités</b> .....	8
5.2 <b>Conception de l'étude</b> .....	9
5.3 <b>Critères d'évaluation</b> .....	10
5.4 <b>Rapport final</b> .....	11
6 <b>Toxicité systémique avec exposition répétée (toxicité systémique subaiguë, subchronique et chronique)</b> .....	13
6.1 <b>Généralités</b> .....	13
6.2 <b>Conception de l'étude</b> .....	13
6.3 <b>Critères d'évaluation</b> .....	16
6.4 <b>Rapport final</b> .....	16
<b>Annexe A (informative) Voies d'administration</b> .....	17
<b>Annexe B (informative) Volumes de dosage</b> .....	19
<b>Annexe C (informative) Signes et observations cliniques courants</b> .....	20
<b>Annexe D (informative) Propositions de mesurages en matière d'hématologie, de chimie clinique et d'analyse d'urine</b> .....	21
<b>Annexe E (informative) Proposition d'une liste d'organes pour évaluation histopathologique</b> .....	23
<b>Annexe F (informative) Informations sur les réponses pyrogènes véhiculées par des matériaux</b> .....	25
<b>Bibliographie</b> .....	27

## 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 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. 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.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 10993-11 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 10993-11:1993), qui a fait l'objet d'une révision technique.

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

- *Partie 1: Évaluation et essais*
- *Partie 2: Exigences relatives à la protection des animaux*
- *Partie 3: Essais concernant la génotoxicité, la cancérogénicité et la toxicité sur la reproduction*
- *Partie 4: Choix des essais pour 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 9: Cadre pour l'identification et la quantification des produits potentiels de dégradation*
- *Partie 10: Essais d'irritation et d'hypersensibilité retardée*
- *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 dispositifs médicaux à base de polymères*

- *Partie 14: Identification et quantification des produits de dégradation des céramiques*
- *Partie 15: Identification et quantification des produits de dégradation issus des métaux et alliages*
- *Partie 16: Conception des études toxicocinétiques des produits de dégradation et des substances relargables*
- *Partie 17: Établissement des limites admissibles de substances relargables*
- *Partie 18: Caractérisation chimique des matériaux*
- *Partie 19: Caractérisations physicochimique, morphologique et topographique des matériaux*
- *Partie 20: Principes et méthodes relatifs aux essais d'immunotoxicologie des dispositifs médicaux*

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 10993-11:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b278e095-e08c-4ed9-80b5-ef8b1ca465a0/iso-10993-11-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b278e095-e08c-4ed9-80b5-ef8b1ca465a0/iso-10993-11-2006>

## Introduction

La toxicité systémique correspond à un effet défavorable potentiel découlant de l'emploi de dispositifs médicaux. Des effets généralisés, au même titre que des effets organiques et des effets systémiques organiques, peuvent être causés par l'absorption, la distribution et le métabolisme de substances relarguées provenant du dispositif ou de ses matériaux dans des parties du corps humain, sans contact direct. La présente partie de l'ISO 10993 traite de l'évaluation de la toxicité systémique généralisée et non de la toxicité organique cible spécifique ni de la toxicité systémique organique, même si ces effets peuvent découler d'une absorption systémique et d'une distribution de substances toxiques.

En raison de la grande diversité des dispositifs médicaux, de leurs matériaux et de leurs utilisations prévues, la présente partie de l'ISO 10993 n'est pas trop normative. Même si la présente partie de l'ISO 10993 porte sur des aspects méthodologiques spécifiques à prendre en compte dans le cadre de la conception d'essais de toxicité systémique, une conception des études doit être adaptée au cas par cas pour s'avérer correcte, en fonction de la nature des matériaux du dispositif et de son application clinique prévue.

D'autres éléments de la présente partie de l'ISO 10993 sont normatifs par nature, comme les aspects relatifs aux bonnes pratiques de laboratoire et aux éléments à inclure dans le rapport.

Bien que certains essais de toxicité systémique (par exemple les études d'implantation à long terme ou de toxicité par absorption cutanée) peuvent être destinés à étudier des effets aussi bien systémiques que locaux, cancérogènes ou reproductifs, le présent document est consacré exclusivement aux aspects des études traitant des effets systémiques. Des études portant sur des critères d'évaluation toxicologique différents sont abordées dans l'ISO 10993-3, l'ISO 10993-6, l'ISO 10993-10 et l'ISO/TS 10993-20.

La pyrogénicité (voir Annexe F) constitue un effet systémique supplémentaire qui a été inclus pour des raisons historiques dans la présente partie de l'ISO 10993. Toutefois, des efforts sont déployés pour consacrer une norme indépendante exclusivement à la pyrogénicité.

Enfin, la toxicologie s'avère être une science inexacte. Il convient de ne pas considérer le résultat d'un seul essai comme suffisant à déterminer si un dispositif est sûr lors de son utilisation.

# Évaluation biologique des dispositifs médicaux —

## Partie 11: Essais de toxicité systémique

### 1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 10993 spécifie des exigences et fournit des directives quant aux modes opératoires à suivre pour évaluer la possibilité de réactions systémiques défavorables de la part de matériaux de dispositifs médicaux.

### 2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

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

ISO 10993-2, *Évaluation biologique des dispositifs médicaux — Partie 2: Exigences relatives à la protection des animaux*

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

### 3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions donnés dans l'ISO 10993-1 ainsi que les suivants s'appliquent.

#### 3.1

##### **dose** **dosage**

quantité d'échantillon d'essai administrée (par exemple la masse, le volume) et exprimée par unité de poids ou de surface du corps

#### 3.2

##### **dose-effet**

relation entre le dosage et la puissance d'un effet biologique défini chez un individu ou dans un échantillon de population

#### 3.3

##### **dose-réponse**

relation entre le dosage et le spectre d'effets par rapport à l'exposition

NOTE Il existe deux types de relations dose-réponse: le premier type concerne la réponse d'un sujet par rapport à une gamme de doses, le second type concerne la distribution des réponses d'une population de sujets par rapport à une gamme de doses.

**3.4**  
**substance relargable**  
composant extractible d'un dispositif ou d'un matériau par l'action de l'eau ou d'autres liquides en relation avec l'utilisation du dispositif

NOTE Exemples de substances relargables: additifs, résidus de stérilisation, résidus de traitements, produits de dégradation, solvants, plastifiants, lubrifiants, catalyseurs, stabilisateurs, antioxydants, colorants, garnitures et monomères.

**3.5**  
**essai de limite**  
utilisation d'un groupe unique traité en tant qu'échantillon d'essai avec un dosage adapté, afin de révéler la présence ou l'absence d'un risque de toxicité

**3.6**  
**toxicité systémique**  
toxicité non limitée aux effets défavorables au niveau du contact entre le corps et le dispositif

NOTE La toxicité systémique implique l'absorption et la distribution d'une substance toxique du point d'entrée vers un site distant, où des effets nocifs sont produits.

**3.7**  
**toxicité systémique aiguë**  
effets défavorables survenant à tout moment après une exposition unique, répétée ou continue d'un échantillon d'essai donné sur une durée de 24 h

**3.8**  
**toxicité systémique subaiguë**  
effets défavorables survenant après une exposition répétée ou continue sur une durée allant de 24 h à 28 j

NOTE Le terme s'avérant incorrect du point de vue sémantique, les effets défavorables qui se produisent dans l'intervalle de temps spécifié peuvent également être considérés comme une étude de toxicité systémique à court terme répétée. La sélection d'intervalles de temps compris entre 14 j et 28 j est cohérente par rapport à la plupart des directives réglementaires internationales et considérée comme raisonnable. Dans le cadre d'études intraveineuses subaiguës, les durées de traitement correspondent généralement à plus de 24 h mais à moins de 14 j.

**3.9**  
**toxicité systémique subchronique**  
effets défavorables survenant après l'administration répétée ou continue d'un échantillon d'essai pendant une partie de la durée de vie

NOTE La durée des études de toxicité subchronique est habituellement de 90 j sur les rongeurs, mais n'excède pas 10 % de la durée de vie des autres espèces. Dans le cadre d'études intraveineuses subaiguës, les durées de traitement se situent généralement entre 14 j et 28 j.

**3.10**  
**toxicité systémique chronique**  
effets défavorables survenant après l'administration répétée ou continue d'un échantillon d'essai pendant la plus grande partie de la durée de vie

NOTE Les études de toxicité chronique durent habituellement entre 6 mois et 12 mois.

**3.11**  
**échantillon d'essai**  
matériau, dispositif, partie de dispositif, composant, extrait ou partie de ceux-ci soumis à des essais ou à une évaluation biologique ou chimique



## 4 Considérations générales

### 4.1 Généralités

La sélection de l'essai ou des essais appropriés pour un dispositif doit être conforme à l'ISO 10993-1, en tenant compte du mode et de la durée du contact.

L'essai doit être réalisé sur le produit final et/ou sur des échantillons représentatifs de composants du produit final et/ou sur des matériaux. Les échantillons pour essai doivent refléter les conditions habituelles de fabrication et de traitement du dispositif. Si des écarts sont requis, ils doivent être enregistrés et justifiés dans le rapport d'essai. À des fins d'identification des risques, il peut être nécessaire d'exagérer l'exposition des échantillons d'essai.

Les propriétés physiques et chimiques de l'échantillon, y compris, par exemple, le pH, la stabilité, la viscosité, l'osmolalité, la capacité tampon, la solubilité et la stérilité, sont des facteurs à prendre en compte lors de la conception de l'étude.

Lors d'essais conduits sur des animaux, il convient d'identifier et d'appliquer toutes les autres méthodes raisonnables et disponibles de réduction et d'atténuation des désagréments, en vue de satisfaire aux dispositions de l'ISO 10993-2. Pour les essais de toxicité aiguë in vivo, les données de cytotoxicité in vitro sont utiles pour évaluer les doses de départ [9].

### 4.2 Sélection d'une espèce animale

Pour les essais de toxicité systémique de dispositifs médicaux, il n'existe pas de critère absolu de sélection d'une espèce animale en particulier. Cependant, le choix de l'espèce doit être scientifiquement justifié et conforme aux dispositions de l'ISO 10993-2. Pour des études précises portant sur l'application orale, intraveineuse, dermique et inhalatoire de dispositifs médicaux, privilégier la souris ou le rat, voire le lapin dans le cas d'études dermiques et d'implantation. Il peut également s'avérer nécessaire d'envisager des espèces autres que les rongeurs pour les essais, en reconnaissant qu'un certain nombre de facteurs peuvent déterminer le nombre ou le choix des espèces à étudier.

Lors de la réalisation de plusieurs études de toxicité systémique de durées différentes (par exemple toxicité systémique aiguë, subaiguë, subchronique et/ou chronique), il est préférable d'utiliser une espèce et une souche animales uniques. Il est ainsi possible de contrôler la variabilité entre les espèces et les souches et de procéder à une évaluation uniquement par rapport à la durée de l'étude. Si plusieurs espèces ou souches doivent être utilisées, la justification de ce choix doit être documentée.

### 4.3 État de l'animal

En règle générale, il convient d'utiliser de jeunes animaux adultes, en bonne santé, d'origine connue, élevés à des fins d'étude et dont l'état sanitaire est défini sur le plan microbiologique. Au début de l'étude, il convient que la variation de la masse corporelle des animaux d'un même sexe ne dépasse pas  $\pm 20\%$  de la masse corporelle moyenne. Lorsque des femelles sont employées, il convient qu'elles soient nullipares et qu'elles ne soient pas en gestation. La sélection de l'espèce animale doit être justifiée.

### 4.4 Soins portés aux animaux et élevage

Les soins portés aux animaux et le traitement qui leur est réservé doivent être conformes aux lignes directrices reconnues en matière d'élevage animal. Les animaux doivent être acclimatés aux conditions de laboratoire avant le début du traitement, et la période d'acclimatation doit être documentée. Afin d'obtenir des résultats significatifs, il est nécessaire de contrôler les conditions environnementales et d'employer des techniques de traitement correct des animaux. Il convient de caractériser correctement les composants diététiques et les litières, éléments réputés produire des substances toxiques ou influencer sur la toxicité, et de prendre en compte leur incidence potentielle sur les résultats des essais.

## 4.5 Taille et nombre des groupes

### 4.5.1 Taille des groupes

La fidélité de l'essai de toxicité systémique dépend en grande partie du nombre d'animaux employés par niveau de dose. Le degré de fidélité requis et, par conséquent, le nombre d'animaux nécessaires par groupe de doses, varient en fonction de l'objectif de l'étude.

En toute logique, il convient d'augmenter la taille des groupes avec la durée du traitement, de telle sorte qu'à la fin de l'étude, un nombre suffisant d'animaux soient disponibles dans chaque groupe pour procéder à une évaluation biologique approfondie. Toutefois, il convient d'employer le moins d'animaux possible, tout en garantissant l'obtention de résultats significatifs (voir l'ISO 10993-2). Les tailles minimales de groupes recommandées, toutes voies confondues, figurent dans le Tableau 1.

**Tableau 1 — Tailles minimales de groupes recommandées**

Type d'étude	Rongeur	Non-rongeur
Aiguë <sup>a</sup>	5	3
Subaiguë	10 (5 de chaque sexe) <sup>a</sup>	6 (3 de chaque sexe) <sup>a</sup>
Subchronique	20 (10 de chaque sexe) <sup>a</sup>	8 (4 de chaque sexe) <sup>a</sup>
Chronique	40 (20 de chaque sexe) <sup>b, c</sup>	<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Il est acceptable de réaliser les essais sur des animaux d'un seul sexe. Lorsque l'utilisation prévue d'un dispositif concerne un seul sexe, il convient de procéder aux essais sur des animaux du sexe en question.

<sup>b</sup> La recommandation concerne les essais pratiqués sur un seul groupe de niveau de dose. Lorsque des groupes supplémentaires de dose exagérée sont inclus, la taille recommandée peut être réduite à 10 animaux de chaque sexe.

<sup>c</sup> Il est recommandé de consulter un expert en statistiques pour la taille du groupe concerné par une étude chronique. Il convient de définir le nombre d'animaux de laboratoire en fonction des exigences minimales requises, afin d'obtenir des résultats significatifs. Il doit rester un nombre suffisant d'animaux à la fin de l'étude permettant de garantir une évaluation statistique correcte des résultats.

### 4.5.2 Nombre des groupes

Un groupe de doses constitué d'une seule espèce traitée avec un dosage correct de l'échantillon d'essai peut permettre de révéler la présence ou l'absence d'un risque de toxicité (c'est-à-dire, essai de limite). Cependant, d'autres études de dose-réponse ou multidoses nécessitent l'emploi de plusieurs groupes, afin de révéler la réponse toxique.

Il est possible d'augmenter le nombre de groupes en cas de tentative d'exagération de la dose. Il convient d'examiner les exemples suivants d'exagération de la dose:

- multiples de l'exposition de la surface clinique;
- multiples de la durée d'exposition;
- multiples de la fraction extractible ou de chaque produit chimique;
- multiples administrations sur une durée de 24 h.

D'autres méthodes d'exagération de la dose peuvent être acceptées. La méthode utilisée doit être justifiée.

### 4.5.3 Contrôles des traitements

En fonction de l'objectif de l'étude, de la nature de l'échantillon et des voies d'exposition, il convient d'inclure des contrôles négatifs, basés sur le véhicule et/ou une simulation du traitement dans toutes les études de toxicité systémique. Ces contrôles doivent reproduire la préparation des échantillons pour essai et le mode opératoire de traitement.

### 4.6 Voie d'exposition

Les dispositifs médicaux ou leurs substances relargables peuvent accéder au corps par de multiples voies d'exposition. Lors de l'essai, la voie d'exposition doit correspondre le mieux possible sur le plan clinique à l'utilisation du dispositif. Si une autre voie d'exposition est requise, ce choix doit être justifié. Des exemples de voies d'administration sont donnés dans l'Annexe A.

### 4.7 Préparation des échantillons

Des lignes directrices relatives à la préparation et à la stabilité des échantillons sont données dans l'ISO 10993-12.

### 4.8 Dosage

#### 4.8.1 Administration de l'échantillon d'essai

Il convient que les modes opératoires soient conçus de façon à éviter toute modification physiologique ou tout problème relatif au bien-être des animaux, sans lien direct avec la toxicité du matériau d'essai. Si la dose quotidienne ne peut pas être administrée en une fois avec une concentration ou un volume suffisant, elle peut être administrée en petites fractions sur une période ne dépassant pas 24 h.

Les échantillons pour essai doivent être administrés à une température physiologiquement acceptable. En général, il s'agit de la température ambiante ou de la température du corps. Tout écart doit être justifié.

Il convient que les véhicules administrés par voie parentérale soient physiologiquement compatibles. Si nécessaire, il convient de procéder à la filtration de l'échantillon, afin de supprimer les particules, et de documenter la procédure.

Dans le cadre des études de toxicité systémique avec exposition répétée, il convient que la contention des animaux soit limitée à une durée de 4 h à 6 h par jour. Il convient que la nature et la durée de la contention soient le minimum requis pour atteindre les objectifs scientifiques fixés et qu'elles ne compromettent pas en elles-mêmes le bien-être des animaux de laboratoire. Tout écart doit être justifié.

Lorsqu'une contention est requise, il convient que les animaux soient familiarisés avec le dispositif de contention avant l'administration de l'échantillon.

#### 4.8.2 Volumes des dosages

Les lignes directrices relatives au volume des dosages sont résumées dans l'Annexe B. Lorsque plusieurs groupes de dosages sont utilisés, la variabilité du volume d'essai peut être réduite en ajustant la concentration afin de garantir un volume constant quelle que soit la dose. L'utilisation de volumes de dosages supérieurs à ceux spécifiés dans l'Annexe B doit être justifiée.

Il convient d'éviter l'administration d'importants volumes de doses par voie orale, car il a été montré qu'ils surchargent l'estomac et passent immédiatement dans l'intestin grêle. De plus, l'administration de grands volumes peut provoquer des reflux dans l'œsophage.

L'administration intramusculaire est également limitée en volume selon la taille de l'animal et le site musculaire. Les volumes d'administration intramusculaires spécifiques des espèces sont indiqués dans l'Annexe B.

Les volumes d'injection intraveineuse de bolus sont généralement administrés sur une courte période d'environ 1 min. Le débit d'injection étant un facteur important, il est conseillé de ne pas dépasser le débit de 2 ml/min chez les rongeurs.

Il peut s'avérer nécessaire de recourir à une injection lente ou minutée ou à une infusion intraveineuse pour administrer des volumes importants. Quel que soit le débit calculé, arrêter l'administration du liquide ou diminuer le débit si l'animal manifeste un changement notable sur le plan clinique.

Des débits d'injection intraveineuse lents peuvent être requis avec des échantillons pour essai présentant des limites en matière de solubilité ou d'irritation.

Si cela est cliniquement indiqué, il est possible de recourir à une infusion continue. Le volume et le débit de l'administration dépendent de la substance administrée et de la pratique normalisée en matière de fluides. Pour référence, le volume administré en une seule fois sur une période de 2 h est inférieur à 10 % du volume de la circulation sanguine. L'application d'une contention effective des animaux de laboratoire la plus courte possible constitue un facteur clé à prendre en compte dans le cadre d'une infusion prolongée.

Pour l'administration sous-cutanée de l'échantillon, se référer à l'Annexe B. Le débit et l'étendue de l'absorption dépendent de la formulation de l'échantillon d'essai.

#### 4.8.3 Fréquence du dosage

Il convient que la fréquence de dosage soit établie selon la pertinence clinique. Les modes opératoires exagérés doivent être clairement décrits et justifiés.

Pour les études de toxicité systémique aiguë, il convient d'administrer aux animaux une seule dose de l'échantillon d'essai ou de multiples fractions de la dose sur une période de 24 h.

Lors d'études avec exposition répétée, il convient d'administrer quotidiennement aux animaux une dose de l'échantillon d'essai, sept jours sur sept, pendant toute la durée de l'essai. D'autres posologies sont acceptables, mais elles doivent être justifiées.

#### 4.9 Masse corporelle et consommation d'eau et de nourriture

Les variations de la masse corporelle et les modifications dans la consommation d'eau et de nourriture peuvent être attribuées aux effets de l'échantillon. Par conséquent, la masse corporelle de chaque animal doit être déterminée peu avant l'administration de l'échantillon d'essai (c'est-à-dire en général dans les 24 h précédant l'administration d'une dose unique ou aiguë et dans les sept jours au plus précédant les études avec exposition répétée), puis à intervalles réguliers tout au long de l'étude, et à la fin de l'étude. Lorsque le dosage dépend de la masse corporelle, il convient d'utiliser la masse corporelle la plus récente.

Le mesurage de la consommation d'eau et de nourriture, le cas échéant, doit être envisagé dans le cadre des études à plus long terme avec exposition répétée.

#### 4.10 Observations cliniques

Il convient que les observations cliniques soient effectuées par des personnes compétentes en la matière, en vue de garantir la cohérence du rapport. Il convient de déterminer la fréquence et la durée des observations selon la nature et la gravité des réactions toxiques, le débit initial et le temps de récupération. Il peut s'avérer nécessaire d'augmenter la fréquence des observations lors de la première phase d'une étude, en particulier dans le cadre d'études aiguës. Le moment de l'apparition et de la disparition des signes de toxicité, leur durée et le moment de la mort sont importants, surtout si les signes cliniques défavorables ou la mort ont tendance à survenir plus tard que prévu. Il convient d'employer des points limites relatifs à la protection animale afin d'éviter une souffrance inutile. Lors des observations cliniques générales, la période à laquelle surviennent le plus d'effets anticipés après administration du matériau pour essai doit être prise en compte.

Les observations doivent être systématiquement enregistrées au fur et à mesure. Les enregistrements doivent être conservés pour chaque animal.