

NORME ISO
INTERNATIONALE 10993-11

Troisième édition
2017-09

**Évaluation biologique des dispositifs
médicaux —**

**Partie 11:
Essais de toxicité systémique**

Biological evaluation of medical devices —

Part 11: Tests for systemic toxicity
iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10993-11:2017

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e7684ce1-e1b5-4146-b649-f6884c44f191/iso-10993-11-2017>



Numéro de référence
ISO 10993-11:2017(F)

© ISO 2017

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10993-11:2017

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e7684ce1-e1b5-4146-b649-f6884c44f191/iso-10993-11-2017>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2017, Publié en Suisse

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland
Tel. +41 22 749 01 11
Fax +41 22 749 09 47
copyright@iso.org
www.iso.org

Sommaire

Page

Avant-propos.....	v
Introduction.....	vi
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Considérations générales	3
4.1 Généralités.....	3
4.2 Sélection d'une espèce animale.....	3
4.3 État de l'animal.....	3
4.4 Soins portés aux animaux et élevage.....	3
4.5 Taille et nombre des groupes.....	4
4.5.1 Taille des groupes.....	4
4.5.2 Nombre de groupes.....	4
4.5.3 Contrôles des traitements.....	4
4.6 Voie d'exposition.....	5
4.7 Préparation des échantillons.....	5
4.8 Dosage.....	5
4.8.1 Administration de l'échantillon pour essai.....	5
4.8.2 Volumes des dosages.....	5
4.8.3 Fréquence du dosage.....	6
4.9 Masse corporelle et consommation d'eau et de nourriture.....	6
4.10 Observations cliniques.....	6
4.11 Pathologie clinique.....	7
4.12 Pathologie anatomique.....	7
4.13 Conception des études.....	8
4.14 Qualité des études.....	8
5 Toxicité systémique aiguë	8
5.1 Généralités.....	8
5.2 Conception de l'étude.....	8
5.2.1 Préparations.....	8
5.2.2 Animaux de laboratoire.....	8
5.2.3 Conditions de l'essai.....	9
5.2.4 Masse corporelle.....	9
5.2.5 Observations cliniques.....	9
5.2.6 Pathologie.....	10
5.3 Critères d'évaluation.....	10
5.3.1 Généralités.....	10
5.3.2 Évaluation des résultats.....	11
5.4 Rapport final.....	11
6 Toxicité systémique avec exposition répétée (toxicité systémique subaiguë, subchronique et chronique)	12
6.1 Généralités.....	12
6.2 Conception de l'étude.....	13
6.2.1 Préparations.....	13
6.2.2 Animaux de laboratoire.....	13
6.2.3 Conditions de l'essai.....	14
6.2.4 Masse corporelle.....	14
6.2.5 Observations cliniques.....	14
6.2.6 Pathologie.....	14
6.3 Critères d'évaluation.....	15
6.3.1 Généralités.....	15
6.3.2 Évaluation des résultats.....	16

6.4	Rapport final	16
Annexe A (informative)	Voies d'administration	17
Annexe B (informative)	Volumes de dosage	19
Annexe C (informative)	Signes et observations cliniques courants	20
Annexe D (informative)	Propositions de mesures en matière d'hématologie, de chimie clinique et d'analyse d'urine	21
Annexe E (informative)	Proposition de liste d'organes pour l'évaluation histopathologique	23
Annexe F (informative)	Liste d'organes pour l'histopathologie limitée des dispositifs médicaux soumis à essai de toxicité systémique	25
Annexe G (informative)	Informations relatives aux pyrogènes véhiculés par des matériaux	27
Annexe H (informative)	Études subchroniques sur le rat — Doubles voies d'administration parentérale	29
Bibliographie		31

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 10993-11:2017](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e7684ce1-e1b5-4146-b649-f6884c44f191/iso-10993-11-2017)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e7684ce1-e1b5-4146-b649-f6884c44f191/iso-10993-11-2017>

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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: [Avant-propos — Informations supplémentaires](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e7684cc1-e1b5-4146-b649-16884c441191/iso-10993-11-2017).

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 194, *Évaluation biologique et clinique des dispositifs médicaux*.

Cette troisième édition annule et remplace la deuxième édition (ISO 10993-11:2006), qui a fait l'objet des révisions techniques suivantes:

- a) réduction de la taille des groupes pour les essais de toxicité chronique dans le [Tableau 1](#);
- b) ajout d'une nouvelle [Annexe F](#);
- c) transfert de l'[Annexe F](#) d'origine vers l'[Annexe G](#);
- d) ajout d'une nouvelle [Annexe H](#);
- e) mise à jour de la Bibliographie.

Une liste de toutes les parties de l'ISO 10993 peut être trouvée sur le site web de l'ISO.

Introduction

La toxicité systémique est un effet indésirable potentiel découlant de l'emploi de dispositifs médicaux. Des effets généralisés, ainsi que des effets sur les organes ou les systèmes 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, avec lesquels il n'y a pas de contact direct. Le présent document traite de l'évaluation de la toxicité systémique généralisée et non de la toxicité spécifique à un organe cible ou un système organique cible, 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, le présent document n'est pas entièrement normatif. Même si le présent document 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 du présent document 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) puissent être destinés à étudier des effets aussi bien systémiques que locaux, cancérigènes 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.

Préalablement à la réalisation d'une étude de toxicité systémique, il convient d'examiner l'ensemble des données raisonnablement disponibles et des méthodes scientifiquement éprouvées pour la planification et l'affinement de la conception de ladite étude. Cela inclut l'applicabilité des données d'entrée, telles que les données toxicologiques existantes, données issues d'études de caractérisation chimique et/ou d'autres essais biologiques (y compris essais *in vitro* et essais *in vivo* moins invasifs), pour l'affinement de la conception de l'étude, la sélection des doses et/ou la sélection des critères d'évaluation pathologique devant être couverts dans l'évaluation d'une étude. Dans le cas d'une étude de toxicité systémique avec exposition répétée en particulier, le recours à un plan d'étude scientifiquement éprouvé, l'utilisation d'études pilotes et d'une approche statistique de la conception, ainsi que l'utilisation de critères/méthodes quantitatifs non biaisés pour l'analyse pathologique (y compris histopathologique) et l'analyse de chimie clinique sont des éléments importants pour garantir l'obtention de données ayant une validité scientifique suffisante.

Enfin, la toxicologie n'est pas une science exacte. Il convient de ne pas considérer le résultat d'un seul essai comme suffisant pour déterminer si un dispositif est sûr ou non pour l'utilisation prévue.

Évaluation biologique des dispositifs médicaux —

Partie 11: Essais de toxicité systémique

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie des exigences et fournit des préconisations quant aux modes opératoires à suivre pour évaluer les éventuelles réactions systémiques défavorables causées par les matériaux de dispositifs médicaux.

2 Références normatives

Les documents suivants cités dans le texte constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. 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 au sein d'un processus de gestion du risque*

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

ISO 10993-11:2017

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e7684ce1-e1b5-4146-b649-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e7684ce1-e1b5-4146-b649-f6884c44f191/iso-10993-11-2017)

[f6884c44f191/iso-10993-11-2017](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e7684ce1-e1b5-4146-b649-f6884c44f191/iso-10993-11-2017)

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.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>

— ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <http://www.iso.org/obp>

3.1

dose

dosage

quantité d'échantillon pour 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 l'ampleur 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 liés à l'exposition

Note 1 à l'article: Il existe deux types de relations dose-réponse. Le premier type concerne la réponse d'un sujet 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 matériau par l'action de l'eau ou d'autres liquides en relation avec l'utilisation du dispositif

Note 1 à l'article: Exemples de substances relargables: additifs, résidus de stérilisation, résidus de traitements, produits de dégradation, solvants, plastifiants, lubrifiants, catalyseurs, stabilisateurs, antioxydants, colorants, charges et monomères.

3.5
essai de limite

utilisation d'un groupe unique traité par un dosage adapté de l'échantillon pour essai, afin de révéler la présence ou l'absence d'un risque de toxicité

3.6
toxicité systémique

toxicité non limitée aux effets indésirables au niveau du site de contact entre le corps et le dispositif

Note 1 à l'article: La toxicité systémique implique l'absorption et la distribution d'une substance toxique depuis son point d'entrée vers un site distant, où des effets nocifs apparaissent.

3.7
toxicité systémique aiguë

effets indésirables survenant à tout moment, sur une durée de 72 h, après une exposition unique, répétée ou continue d'un échantillon pour essai durant 24 h

3.8
toxicité systémique subaiguë

effets indésirables survenant après une exposition répétée ou continue sur une durée allant de 24 h à 28 jours

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10993-11:2017

Note 1 à l'article: Bien que le terme s'avère incorrect du point de vue sémantique, les effets indésirables qui se produisent dans l'intervalle de temps spécifié peuvent également être considérés comme une étude de toxicité systémique avec exposition répétée à court terme. La sélection d'intervalles de temps compris entre 14 jours et 28 jours est cohérente par rapport à la plupart des lignes directrices réglementaires internationales et est considérée comme une approche raisonnable. Dans le cadre d'études intraveineuses subaiguës, les durées de traitement correspondent généralement à plus de 24 h, mais à moins de 14 jours.

3.9
toxicité systémique subchronique

effets indésirables survenant après l'administration répétée ou continue d'un échantillon pour essai pendant une partie de la durée de vie

Note 1 à l'article: La durée des études de toxicité subchronique est habituellement de 90 jours sur les rongeurs, mais n'excède pas 10 % de la durée de vie des autres espèces. Dans le cadre d'études intraveineuses subchroniques, les durées de traitement se situent généralement entre 14 jours et 28 jours pour les rongeurs et les autres espèces, respectivement.

3.10
toxicité systémique chronique

effets indésirables survenant après l'administration répétée ou continue d'un échantillon pour essai pendant une grande partie de la durée de vie

Note 1 à l'article: Les études de toxicité chronique durent habituellement entre 6 mois et 12 mois.

3.11
échantillon pour essai

matériau, dispositif, partie de dispositif, composant, extrait ou partie de ceux-ci soumis à des essais ou à une évaluation biologiques ou chimiques

4 Considérations générales

4.1 Généralités

Avant qu'il ne soit décidé de procéder à un essai de toxicité systémique, l'ISO 10993-1 doit être prise en compte. La décision de réaliser un essai doit être justifiée par une évaluation du risque de toxicité systémique. La sélection du ou des essais appropriés à un dispositif doit être conforme à l'ISO 10993-1, en tenant compte du mode et de la durée de contact.

L'essai doit être réalisé sur le produit final et/ou sur des échantillons représentatifs des composants du produit final et/ou des matériaux. Les échantillons pour essai doivent refléter les conditions habituelles de fabrication et de traitement du dispositif. Si des écarts sont nécessaires, 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 aux échantillons pour essai.

Les propriétés physiques et chimiques de l'échantillon pour essai, 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 méthodes alternatives raisonnables et disponibles de remplacement, 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 aiguës portant sur des dispositifs médicaux utilisant une voie d'administration orale, intraveineuse, dermique et par inhalation, privilégier les rongeurs (souris ou rat), le lapin (lagomorphe) pouvant représenter une option dans le cas d'études par administration dermique et par implantation. Il peut également s'avérer nécessaire de considérer pour les essais des espèces autres que les rongeurs, en reconnaissant qu'un certain nombre de facteurs peuvent imposer 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 portant uniquement sur 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 des animaux jeunes 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 de traiter correctement les animaux. Il convient de caractériser correctement les composants diététiques et les litières, éléments réputés pour produire des substances toxiques ou influencer sur la toxicité, et de prendre en compte leur capacité à influencer les résultats des essais.

4.5 Taille et nombre des groupes

4.5.1 Taille des groupes

La précision de l'essai de toxicité systémique dépend en grande partie du nombre d'animaux employés par niveau de dose. Le degré de précision 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 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	Espèce autre
Aiguë ^a	5	3
Subaiguë	10 (5 de chaque sexe) ^a	6 (3 de chaque sexe) ^a
Subchronique	20 (10 de chaque sexe) ^a	8 (4 de chaque sexe) ^a
Chronique	30 (15 de chaque sexe) ^{b, c}	c

^a 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.

^b La recommandation pour les rongeurs 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. (standards.iteh.ai)

^c 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 afin de garantir une évaluation statistique correcte des résultats.

4.5.2 Nombre de groupes

Un groupe de dose constitué d'une seule espèce traitée avec un dosage adapté de l'échantillon pour 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.

Le nombre de groupes de traitements peut être augmenté en cas de tentative de caractérisation d'une dose-réponse au moyen de doses exagérées. Il convient d'examiner les exemples suivants d'exagération de la dose:

- multiples de la surface clinique d'exposition;
- 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 traités par placebo dans toutes les études de toxicité systémique. Ces contrôles doivent reproduire la préparation des échantillons pour essai et le mode opératoire du traitement.

4.6 Voie d'exposition

Les dispositifs médicaux ou leurs substances relargables peuvent entrer dans le corps par de multiples voies d'exposition. Dans la mesure du possible, la voie d'exposition choisie pour l'essai doit être la voie la plus appropriée, sur le plan clinique, à l'utilisation du dispositif. Si une autre voie d'exposition est nécessaire, ce choix doit être justifié. Des exemples de voies d'administration sont donnés dans l'[Annexe A](#).

4.7 Préparation des échantillons

Des préconisations concernant la préparation et la stabilité des échantillons sont données dans l'ISO 10993-12.

4.8 Dosage

4.8.1 Administration de l'échantillon pour 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 qui ne sont pas directement liés à la toxicité du matériau pour 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. Lorsque des dispositifs médicaux et/ou des échantillons sous la forme de nanomatériaux doivent faire l'objet d'une évaluation, la filtration des échantillons ne doit pas être réalisée (voir l'ISO/TR 10993-22).

Dans le cadre des études de toxicité systémique avec exposition répétée, il convient que la contention des animaux soit limitée à une période allant de 4 h à 6 h par jour. Il convient que la nature et la durée de la contention soient réduites au 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 préconisations concernant le 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 aux espèces sont indiqués dans l'[Annexe B](#).

Les volumes d'injection intraveineuse en 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 injection intraveineuse pour administrer des volumes importants. Quel que soit le débit calculé, l'administration du liquide doit être arrêtée ou diminuée 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 injection 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 injection prolongée.

Pour l'administration sous-cutanée de l'échantillon, voir l'[Annexe B](#). Le débit et l'ampleur de l'absorption dépendent de la formulation de l'échantillon pour 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 pour 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 pour essai, sept jours par semaine, 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 pour essai (c'est-à-dire en général dans les 24 h précédant l'administration d'une dose unique ou aiguë et dans les 7 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 considéré 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, tels que définis par les lignes directrices nationales ou internationales pour la protection des animaux, afin d'éviter une souffrance inutile. Lors des observations cliniques générales, la période à laquelle surviennent le plus d'effets attendus 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.

Les observations des animaux en cage relatives à la viabilité ou les signes cliniques manifestes doivent être enregistrés au moins une fois par jour à l'aide de descripteurs de laboratoire courants des effets cliniques (voir l'[Annexe C](#)).

Dans le cadre d'études à long terme avec exposition répétée, les observations relatives à la morbidité et à la mortalité doivent être enregistrées au moins deux fois par jour. Dans le cadre d'études à plus long terme avec exposition répétée, un dépistage plus étendu des signes cliniques défavorables peut être envisagé, au moins sur une base hebdomadaire.

4.11 Pathologie clinique

Des analyses d'hématologie et de chimie clinique sont réalisées en vue de rechercher les effets toxiques sur les tissus, organes et autres systèmes. Lorsque cela est indiqué, ces analyses doivent être effectuées sur des échantillons de sang prélevés sur les animaux soumis à une exposition répétée, au moins juste avant, ou pendant, le mode opératoire de fin de vie de l'animal. Dans certains cas, il peut être nécessaire que les animaux soient à jeun avant la prise d'échantillons de sang. Lorsque cela est scientifiquement indiqué, une analyse d'urine peut être effectuée au cours de la dernière semaine d'une étude à long terme avec exposition répétée, à partir d'un volume d'urine recueillie sur une période donnée (par exemple, entre 16 h et 24 h).

Des suggestions de paramètres pour l'analyse d'urine, l'hématologie et la chimie clinique à des fins d'évaluation figurent à l'[Annexe D](#).

4.12 Pathologie anatomique

Lorsque cela est cliniquement indiqué, il convient de considérer la réalisation d'évaluations pathologiques macroscopiques dans le cadre des études de toxicité systémique aiguë.

Dans le cadre des études avec exposition répétée, tous les animaux doivent être soumis à une autopsie macroscopique complète et détaillée, comprenant un examen attentif de la surface externe du corps, de tous les orifices ainsi que des cavités crânienne, thoracique et abdominale ainsi que de leur contenu. Il convient de débarrasser les organes dont la pesée est prévue de tout tissu y adhérent, le cas échéant, et de relever la masse humide le plus vite possible, avant dessèchement.

L'[Annexe E](#) suggère une liste de tissus qu'il convient de peser et de conserver dans un milieu de fixation approprié en vue d'un examen histopathologique.

Les observations minimales par type d'étude sont résumées dans le [Tableau 2](#).

Tableau 2 — Résumé des observations

Observation	Aiguë	Subaiguë/subchronique	Chronique ^a
Variation de la masse corporelle	+	+	+
Observations cliniques	+	+	+
Pathologie clinique	b	a, b	+
Pathologie macroscopique	b	+	+
Poids des organes	b	+	+
Histopathologie	b	a, b	+
+ Il convient que des données soient fournies.			
^a Les essais de toxicité systémique chronique correspondent généralement à une extension dans le temps des essais subaigus/subchroniques, justifiés par la durée d'exposition humaine. De nombreux paramètres identiques sont enregistrés et signalés. Les tailles des groupes peuvent être revues à la hausse afin d'inclure des groupes satellites qui doivent, pour tout ou partie, être soumis à ces observations.			
^b Il convient de prendre en compte ces mesures si elles sont cliniquement indiquées ou si des essais sur une durée plus longue ne sont pas prévus. Des listes de propositions d'analyses de fluides corporels et d'organes/de tissus figurent aux Annexes D, E et F .			