NORME INTERNATIONALE

ISO 10993-12

Cinquième édition
2021-01

Évaluation biologique des dispositifs médicaux —

Partie 12: Préparation des échantillons et matériaux de référence

Biological evaluation of medical devices —
Part 12: Sample preparation and reference materials

Numéro de référence
ISO 10993-12:2021(F)

© ISO 2021



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2021

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +41 22 749 01 11
E-mail: copyright@iso.org
Web: www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos ..... **iv**
Introduction ..... **v**
1 Domaine d'application **1**
2 Références normatives **1**
3 Termes et définitions **1**
4 Exigences générales **4**
5 Matériaux de référence (MR) **4**
5.1 Généralités 4
5.2 Certification des MR pour les essais de sécurité biologique 4
6 Utilisation des MR comme témoins expérimentaux **5**
7 Choix des échantillons **5**
8 Préparation des échantillons et des MR **5**
9 Choix des parties représentatives d'un dispositif médical **6**
10 Préparation d'extraits d'échantillons **7**
10.1 Généralités 7
10.2 Récipients utilisés pour l'extraction 7
10.3 Conditions et méthodes d'extraction 7
10.4 Conditions d'extraction pour les matériaux polymérisant ***in situ*** ***11***
11 Rapport d'essai **11**
Annexe A (informative) **Témoins expérimentaux** **12**
Annexe B (informative) **Principes généraux et informations pratiques sur la préparation et le choix des échantillons** **14**
Annexe C (informative) **Principes d'extraction de l'échantillon** **16**
Annexe D (informative) **Extraction exhaustive des matériaux polymères pour l'évaluation biologique** **19**
Bibliographie **21**

© ISO 2021 – Tous droits réservés

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 attirée 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: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 194, *Évaluation biologique et clinique des dispositifs médicaux*, en collaboration avec le comité technique CEN/TC 206 du Comité européen de normalisation (CEN), *Évaluation biologique et clinique des dispositifs médicaux*, conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Cette cinquième édition annule et remplace la quatrième édition (ISO 10993-12:2012), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Les principales modifications par rapport à l'édition précédente sont les suivantes:

— modification du domaine d'application pour ne couvrir que les extractions effectuées dans le cadre d'essais d'évaluation biologique;

— harmonisation des définitions par rapport à l'ISO 10993-18;

— révision du tableau des conditions d'extraction en 10.3.1 et de l'Annexe D concernant l'extraction exhaustive.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 10993 se trouve sur le site web de l'ISO.

 © ISO 2021 – Tous droits réservés

Introduction

Il est important que les méthodes de préparation d'échantillons tiennent compte à la fois des méthodes d'évaluation biologique et des matériaux à évaluer. Chaque essai biologique exige une sélection de matériaux et de solvants et de conditions d'extraction.

Le présent document se fonde, dans la mesure du possible, sur les normes et réglementations existantes au niveau national et international.

© ISO 2021 – Tous droits réservés

Évaluation biologique des dispositifs médicaux —

Partie 12:
Préparation des échantillons et matériaux de référence

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie les exigences et fournit des recommandations sur les modes opératoires relatifs à la préparation des échantillons et le choix des matériaux de référence dans le cadre d'essais relatifs aux dispositifs médicaux, dans la mesure où ils sont mis en œuvre principalement dans des systèmes d'essai biologique, essentiellement en conformité avec une ou à plusieurs parties de la série ISO 10993.

Le présent document traite plus spécifiquement des points suivants:

— le choix des échantillons;

— le choix des parties représentatives d'un dispositif médical;

— la préparation des échantillons;

— les témoins expérimentaux;

— le choix des matériaux de référence et les exigences qui s'y rapportent;

— la préparation des extraits.

Le présent document n'est pas applicable aux cellules vivantes, mais il peut s'appliquer aux matériaux ou aux composants de dispositifs médicaux de produits combinés contenant des cellules vivantes.

Les extractions relatives à la caractérisation chimique sont couvertes par l'ISO 10993-18. Les articles 7, 8, 9, 10 [hormis pour 10.3.5 et 10.3.11 b)], et 11 sont applicables aux extractions relatives à la caractérisation chimique. Les informations fournies de C.1 à C.4 peuvent également être pertinentes.

2 Références normatives

Le présent document ne contient aucune référence normative.

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions 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:

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

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

© ISO 2021 – Tous droits réservés

3.1
blanc
solvant d'extraction ne contenant pas le matériau d'essai, qui est exposé à des récipients et des conditions identiques à ceux auxquels est soumis l'échantillon pendant l'extraction

Note 1 à l'article: Le but du blanc est d'évaluer les interférences possibles liées au récipient d'extraction, au solvant d'extraction et au procédé d'extraction.

3.2
MRC
matériau de référence certifié
matériau de référence (MR) caractérisé par une procédure métrologiquement valide applicable à une ou plusieurs propriétés spécifiées et accompagné d'un certificat de MR qui indique la valeur de la propriété spécifiée, son incertitude associée, et une expression de la traçabilité métrologique

Note 1 à l'article: Le concept de valeur inclut une propriété nominale ou un attribut qualitatif tels que l'identité ou la séquence. Les incertitudes concernant ces propriétés peuvent être exprimées par des probabilités ou des niveaux de confiance.

Note 2 à l'article: Des procédures métrologiquement valides applicables à la production et à la certification de MR sont données, entre autres, dans l'ISO 17034 et le Guide ISO 35.

Note 3 à l'article: Le Guide ISO 31 donne des indications sur le contenu des certificats de MR.

Note 4 à l'article: Le Guide ISO/IEC 99:2007 donne une définition analogue (5.14).

[SOURCE: ISO Guide 30:2015, définition 2.1.2]

3.3
extraction exagérée
extraction destinée à aboutir à la libération d'une plus grande quantité de constituants chimiques par rapport à la quantité produite dans des conditions simulées d'utilisation

Note 1 à l'article: Il est important de s'assurer que l'extraction exagérée ne provoque pas une modification chimique du matériau.

3.4
extraction exhaustive
extraction réalisée pour que la quantité de matériau extractible retrouvée dans une extraction ultérieure représente moins de 10 % de celle détectée par analyse gravimétrique (ou par d'autres moyens) lors de l'extraction initiale

Note 1 à l'article: Comme il n'est pas possible de démontrer la nature exhaustive de la récupération des résidus, la définition de l'extraction exhaustive adoptée est celle se trouvant ci-dessus. Voir également l'Annexe C.

3.5
témoin expérimental
substance possédant des réponses bien caractérisées, utilisée au cours d'un essai spécifique afin d'évaluer si le système d'essai a répondu de manière reproductible et adéquate

3.6
extrait
liquide résultant de l'extraction de l'échantillon ou du témoin soumis à essai

3.7
substance extractible
substance qui peut être libérée par un dispositif médical ou un matériau en utilisant des solvants d'extraction et/ou des conditions d'extraction qui sont supposés être au moins aussi agressifs que les conditions d'utilisation clinique

© ISO 2021 – Tous droits réservés

3.8
homogène
matériau de composition chimique et physique cohérente qui est uniforme en réponse à un paramètre biologique

Note 1 à l'article: Un matériau de référence est dit homogène si la réponse biologique dans un essai spécifique se trouve être dans les limites d'incertitude spécifiées de l'essai, indépendamment du lot de matériau dont l'échantillon est extrait.

3.9
substance relargable
substance qui peut être libérée d'un dispositif médical ou d'un matériau durant l'utilisation clinique

3.10
témoin négatif
matériau et/ou substance bien caractérisés qui, lors d'essais réalisés selon un mode opératoire spécifique, démontrent l'aptitude du mode opératoire à fournir une réponse négative reproductible, non réactive ou minimale dans le système d'essai

Note 1 à l'article: En pratique, les témoins négatifs sont des matériaux de référence qui peuvent inclure les blancs et les solvants d'extraction.

3.11
témoin positif
matériau et/ou substance bien caractérisés qui, lors d'essais réalisés selon un mode opératoire spécifique, démontrent l'aptitude du système d'essai à fournir une réponse positive reproductible ou réactive dans le système d'essai

3.12
matériau de référence
MR
matériau, suffisamment homogène et stable quant à une ou plusieurs propriétés spécifiées, qui a été préparé pour être adapté à son utilisation prévue dans un processus de mesure

Note 1 à l'article: MR est un terme générique.

Note 2 à l'article: Les propriétés peuvent être quantitatives ou qualitatives, par exemple l'identité de substances ou d'espèces.

Note 3 à l'article: Les utilisations prévues peuvent être l'étalonnage d'un système de mesure, l'évaluation d'une méthode de mesure, l'assignation de valeurs à d'autres matériaux et le contrôle de la qualité.

Note 4 à l'article: Le Guide ISO/IEC 99:2007 donne une définition analogue (5.13), mais restreint l'utilisation du terme «mesurage» à des valeurs quantitatives. Cependant, la Note 3 du Guide ISO/IEC 99:2007, 5.13 (VIM), inclut spécialement les «propriétés qualitatives».

Note 5 à l'article: Le laboratoire doit démontrer que l'extraction avec simulation d'utilisation est effectuée dans des conditions créant une représentation appropriée de l'utilisation prévue. Il faut procéder à la simulation d'utilisation du produit en supposant que le dispositif médical est affecté à la catégorie la plus rigoureuse concernant la durée d'exposition et qu'il faut prendre en considération tant le ou les tissus exposés que la température d'exposition.

[SOURCE: ISO Guide 30:2015, 2.1.1 — la Note 5 à l'article a été ajouté.]

3.13
stabilité
caractéristique d'un matériau, lorsqu'il est entreposé dans des conditions spécifiées, à conserver une valeur de propriété spécifiée dans des limites spécifiées pendant une période de temps spécifiée

Note 1 à l'article: Voir également l'IUPAC Compendium of Analytical Nomenclature[5].

© ISO 2021 – Tous droits réservés

3.14
échantillon
dispositif médical, composant ou matériau (ou échantillon représentatif de celui-ci, fabriqué et traité par des méthodes équivalentes), ou extrait ou partie de celui-ci, soumis à des essais d'évaluation biologique

4 Exigences générales

Lors de l'identification des phénomènes dangereux et de l'estimation des risques liés aux dispositifs médicaux, les phénomènes dangereux dus à des modifications du procédé de fabrication ou à un contrôle insuffisant de ce dernier doivent être pris en compte dans la conception et la préparation des échantillons, comme décrit dans l'ISO 14971. Une attention particulière doit être accordée aux additifs des matériaux, aux impuretés involontaires des matériaux de base et aux résidus de procédé de fabrication, notamment aux éléments traces et aux agents désinfectants et nettoyants.

En raison du nombre de systèmes d'essai biologique différents décrits dans la série de normes ISO 10993, il faut consulter les parties particulières s'y rapportant pour s'assurer de leur pertinence pour un système d'essai donné.

Les témoins expérimentaux doivent être utilisés lors des évaluations biologiques pour valider un mode opératoire d'essai et/ou pour comparer les résultats entre matériaux. Selon les spécifications d'un essai donné, des témoins négatifs, des blancs et/ou des témoins positifs doivent être utilisés.

NOTE Un même type de témoin peut être applicable à différents essais et permettre une référence croisée à d'autres matériaux et méthodes d'essai établis. Des lignes directrices supplémentaires relatives au choix des témoins expérimentaux sont données dans l'Annexe A. L'utilisation de témoins positifs pour les essais *in vivo* peut être affectée par la réglementation concernant la protection des animaux.

5 Matériaux de référence (MR)

5.1 Généralités

Les MR sont établis par des laboratoires individuels. Le laboratoire individuel détermine l'étendue des caractérisations chimique, physique et biologique. Des articles disponibles dans le commerce peuvent être utilisés comme MR.

NOTE Voir également l'ISO Guide 35.

Le choix des MRC se fait en fonction de leur extrême pureté, de leurs caractéristiques critiques, de leur aptitude à l'emploi prévu et de leur disponibilité générale. Les caractéristiques critiques chimiques, physiques et biologiques doivent être déterminées à l'aide d'essais interlaboratoires réalisés dans au moins trois laboratoires, puis mises à la disposition du conducteur des essais par le distributeur.

Il est souhaitable que les fournisseurs s'engagent à mettre les MR ou les MRC à la disposition des utilisateurs pendant au moins cinq ans. Il peut être également souhaitable que la source du MR ou du MRC publie une «formulation ouverte» du matériau, c'est-à-dire qu'elle publie la source des matériaux et les détails du processus nécessaire pour assurer l'uniformité des lots de MR.

5.2 Certification des MR pour les essais de sécurité biologique

La qualification d'un MR est un mode opératoire qui permet d'établir la valeur qualitative ou numérique de la réponse biologique du matériau soumis à des conditions d'essai spécifiées, assurant ainsi la reproductibilité de la réponse intralaboratoire et/ou interlaboratoires. La gamme de réponses biologiques associées au matériau doit être établie à l'aide d'essais en laboratoire.

NOTE Voir également l'ISO 17034.

Les fournisseurs de MR doivent certifier les matériaux. Le fournisseur détermine l'étendue des caractérisations physique et chimique effectuées. Les laboratoires individuels qui utilisent les MR

 © ISO 2021 – Tous droits réservés

doivent identifier la caractérisation biologique nécessaire pour qualifier un MR pour un essai ou un mode opératoire spécifique. Il est admis d'utiliser des articles disponibles dans le commerce comme MR à condition qu'ils soient certifiés et qualifiés.

La certification d'un MR est un mode opératoire qui permet d'établir la valeur qualitative ou numérique de la réponse biologique du matériau soumis à des conditions d'essai spécifiées. Ce processus sert à valider l'évaluation du matériau pour cette réponse particulière et aboutit à la délivrance d'un certificat. La réponse biologique du matériau doit être établie à l'aide d'essais interlaboratoires.

6 Utilisation des MR comme témoins expérimentaux

Lors d'essais biologiques, les MR ou les MRC doivent être utilisés comme matériaux témoins afin de démontrer l'aptitude d'un mode opératoire à fournir une réponse reproductible, c'est-à-dire positive et/ou négative. Tout matériau utilisé à cette fin doit être caractérisé à l'aide de chaque mode opératoire d'essai biologique pour lequel le matériau est souhaité. Un matériau caractérisé, puis certifié, pour une réponse ou une méthode d'essai de référence, par exemple pour la réaction d'hypersensibilité retardée, ne doit pas être utilisé comme MR pour une autre réponse ou méthode, par exemple pour la cytotoxicité, sans une validation supplémentaire.

NOTE L'utilisation d'un MR rendra plus aisée la comparaison entre les réponses obtenues dans différents laboratoires et permettra d'évaluer la reproductibilité de la performance de l'essai au niveau de chaque laboratoire. Pour comparer la réponse biologique, il est souhaitable d'utiliser des MR présentant une gamme de réponses par exemple minimales, intermédiaires ou élevées.

Les MR utilisés comme témoins expérimentaux doivent être conformes aux systèmes d'assurance qualité du fabricant et du laboratoire d'essai. Ils doivent être identifiés quant à leur source, leur fabricant, leur qualité et leur type. Les MR sont préparés comme décrit à l'Article 8.

Lorsque les MR sont utilisés comme témoins expérimentaux, ils doivent appartenir à la même classe de matériau que l'échantillon, c'est-à-dire polymères, céramiques, métaux, colloïdes, etc. Toutefois, des produits chimiques purs peuvent être utilisés comme témoins expérimentaux lors de protocoles mécanistiques, comme les essais de génotoxicité et de réaction d'hypersensibilité à immunité retardée.

7 Choix des échantillons

L'essai doit être réalisé sur le produit fini, sur des échantillons représentatifs du produit fini, sur des matériaux préparés comme le produit fini (voir ISO 10993-1) ou sur des extraits appropriés de l'un de ces éléments. Le choix de l'échantillon doit être justifié.

NOTE Dans le cas de matériaux qui ont une prise *in situ*, différents échantillons représentatifs du matériau après la prise par rapport au matériau avant la prise pourraient être nécessaires.

Pour les matériaux absorbables qui pourraient présenter des produits de dégradation et des résidus toxiques, il convient d'envisager des essais sur des produits intermédiaires.

Le même mode opératoire pour le choix d'échantillons s'applique lorsqu'un extrait est requis.

8 Préparation des échantillons et des MR

Les échantillons et les MR doivent être manipulés avec précaution de manière à éviter toute contamination. Tout résidu provenant des procédés de fabrication, d'additifs volontaires ou involontaires ou de contaminants, doit être considéré comme faisant partie intégrante du dispositif médical, de la partie de dispositif médical ou du composant de dispositif médical, ou de l'échantillon représentatif concernés.

NOTE Pour des recommandations supplémentaires concernant la préparation, voir l'Annexe B.

— Les échantillons prélevés sur des dispositifs médicaux stérilisés et les MR doivent être manipulés de manière aseptique, lorsque le mode opératoire d'essai le permet.

© ISO 2021 – Tous droits réservés

— Les échantillons propres, stériles et désinfectés doivent être traités selon la méthode recommandée par le fabricant et manipulés de manière aseptique, lorsque le mode opératoire d'essai le permet.

— L'influence du procédé de nettoyage et de l'agent nettoyant doit être prise en compte lors du choix et de la manipulation de l'échantillon.

Les échantillons prélevés sur des dispositifs médicaux dont il n'est pas exigé qu'ils soient stériles lors de l'utilisation doivent être utilisés tels qu'ils ont été fournis et manipulés dans des conditions aseptiques tout au long de leur préparation. Lorsque des échantillons stériles sont exigés pour le mode opératoire d'essai, par exemple pour des essais de cytotoxicité, l'influence du procédé de stérilisation ou de restérilisation sur l'échantillon et le MR doit être prise en compte.

Lorsque les échantillons et les MR ont besoin d'être coupés en plusieurs morceaux, comme décrit en 10.3.3, l'influence des surfaces qui n'étaient auparavant pas exposées, par exemple les lumières ou les surfaces coupées, doit être prise en compte. Les outils utilisés pour couper les dispositifs médicaux en parties représentatives pour les essais doivent être nettoyés après chaque utilisation de manière à éviter toute contamination. En outre, des précautions doivent être prises pour que l'outil lui-même ne contamine pas le dispositif.

9 Choix des parties représentatives d'un dispositif médical

9.1 Si un dispositif médical ne peut pas être soumis à essai en tant que dispositif complet, chaque matériau individuel présent dans le produit fini à évaluer doit être représenté de manière proportionnelle dans l'échantillon.

— L'échantillon de dispositif médical ayant des revêtements de surface doit comprendre à la fois le matériau du revêtement et le substrat même si le substrat n'entre pas en contact avec les tissus.

— L'échantillon doit comprendre une partie représentative du joint et/ou du système assurant l'étanchéité dans les cas où des adhésifs, des scellements par radiofréquence ou des scellements par solvants sont utilisés lors de la fabrication d'une partie du dispositif médical qui est en contact avec les patients.

9.2 Les matériaux composites doivent être soumis à essai en tant que matériaux finis.

9.3 Lorsqu'un dispositif médical est composé de plusieurs matériaux, la possibilité de synergie ou d'interactions entre ces matériaux doit être prise en compte lors du choix de l'échantillon.

9.4 L'échantillon doit être choisi de façon à rendre maximal le contact des composants du dispositif médical avec le système d'essai, dès lors que ces composants sont connus pour leur aptitude potentielle à donner une réponse biologique.

9.5 Il convient, si possible, d'exclure physiquement des extraits de l'échantillon les parties du dispositif médical sans contact avec le patient ou d'exclure la surface concernée lors du calcul du rapport d'extraction. Lorsque cela n'est pas possible, le rapport d'extraction doit être justifié. S'assurer que toutes les parties en contact sont couvertes par le volume du solvant d'extraction choisi.

Il convient de prendre en considération le contact des surfaces utilisateurs et cliniques avec des matières autres que celles utilisées dans les produits de consommation courante ayant un type de contact similaire [Voir ISO 10993-1:2018, 5.2.2, a)].

9.6 Il peut être nécessaire d'extraire et d'évaluer séparément les composants de dispositifs médicaux ayant un type ou une durée de contact différents avec les tissus.

 © ISO 2021 – Tous droits réservés

10 Préparation d'extraits d'échantillons

10.1 Généralités

Lorsque des extraits du dispositif médical sont requis pour un mode opératoire d'essai, les solvants d'extraction et les conditions d'extraction doivent être adaptés à la nature et à l'utilisation du produit fini ainsi qu'à l'objectif de l'essai, par exemple l'identification des phénomènes dangereux, l'estimation des risques ou l'évaluation des risques. Lors du choix des conditions d'extraction, il faut tenir compte des propriétés physico-chimiques des matériaux du dispositif médical, des substances relargables ou des résidus (voir l'ISO 10993-18 et l'ISO/TS 10993-19). Pour plus d'informations sur la préparation d'échantillons afin de mener des essais sur des nanomatériaux ou des matériaux nanostructurés, voir l'ISO/TR 10993-22.

NOTE Pour des recommandations supplémentaires concernant l'extraction des échantillons, voir l'Annexe C.

10.2 Récipients utilisés pour l'extraction

L'extraction doit être effectuée dans des récipients propres, chimiquement inertes, fermés et dotés d'un espace mort minimal.

Pour s'assurer que les récipients d'extraction ne dénaturent pas les extraits d'échantillons, il faut utiliser soit des tubes en verre borosilicaté munis d'un bouchon possédant un joint inerte, par exemple du polytétrafluoroéthylène, soit d'autres récipients d'extraction à base de matériau inerte requis pour des matériaux et/ou des protocoles d'extraction spécifiques.

10.3 Conditions et méthodes d'extraction

10.3.1 Les conditions d'extraction sont fondées sur des pratiques courantes et justifiées au motif de fournir une approche normalisée qui représente, à plusieurs égards, une exagération appropriée de l'utilisation du produit. L'extraction doit être réalisée dans l'une des conditions suivantes (voir aussi C.5):

a) (37 ± 1) °C pendant (24 ± 2) h;

b) (37 ± 1) °C pendant (72 ± 2) h;

c) (50 ± 2) °C pendant (72 ± 2) h;

d) (70 ± 2) °C pendant (24 ± 2) h;

e) (121 ± 2) °C pendant (1 ± 0,1) h.

L'extraction à (37 ± 1) °C pendant (24 ± 2) h est acceptable pour les essais de cytotoxicité des dispositifs médicaux à contact limité. Pour les dispositifs médicaux qui sont en contact limité avec une peau ou une muqueuse intacte et qui ne sont pas implantés, on peut accepter des durées d'extraction inférieures à 24 h, mais pas inférieures à 4 h pour les essais de cytotoxicité (voir ISO 10993-5). Pour les dispositifs médicaux qui sont en contact prolongé (entre 24 h et 30 j) ou de long terme (plus de 30 j), des durées d'extraction de 72 h sont recommandées pour les essais de cytotoxicité, car une extraction de 24 h peut ne pas suffire pour obtenir un extrait représentatif des produits chimiques libérés au-delà de 24 h d'utilisation du dispositif. Dans de tels cas, tous les témoins, y compris les témoins négatifs, positifs et réactifs (c'est-à-dire le milieu de culture cellulaire seul), doivent être incubés pendant 72 h. Cependant, si des données disponibles pour les dispositifs en contact prolongé ou de long terme avec les tissus démontrent qu'une extraction de 24 h suffit pour libérer les extractibles/relargables du dispositif, et que le fait d'étendre la durée d'extraction à 72 h ne se traduit pas par la libération de produits chimiques supplémentaires de la part du dispositif, l'extraction de 24 h est suffisante. Lors d'une extraction dans un milieu de culture tissulaire avec sérum, les températures d'extraction supérieures à (37 ± 1) °C peuvent avoir un impact chimique négatif et/ou altérer la stabilité du sérum et d'autres constituants du milieu de culture.

© ISO 2021 – Tous droits réservés

Les conditions d'extraction décrites ci-dessus, qui ont été utilisées pour permettre de mesurer le potentiel de risque à des fins d'estimation des risques que représente le dispositif médical ou le matériau, se fondent sur des antécédents historiques. D'autres conditions simulant les relargables se formant pendant l'utilisation clinique ou permettant un mesurage adéquat du potentiel de risque peuvent être utilisées, mais elles doivent alors être décrites et justifiées.

L'extraction est un processus complexe influencé par de nombreux facteurs tels que le temps, la température, le rapport aire/volume, le solvant d'extraction et la phase d'équilibre du matériau. Dans le cas de produits spécifiques, d'autres facteurs peuvent également avoir une influence. En cas d'extraction exagérée, il convient de tenir scrupuleusement compte de l'effet de températures plus élevées ou d'autres conditions sur la cinétique de l'extraction, ainsi que de la nature du ou des solvants d'extraction.

La phase d'équilibre d'un matériau au cours de l'extraction régit la proportion des phases amorphe et cristalline du matériau. Pour la phase amorphe, la température de transition vitreuse, T_g, affecte la mobilité de la chaîne de polymère et le taux de diffusion dans la phase. Aux températures supérieures à T_g, le taux de diffusion est habituellement largement supérieur à celui constaté à des températures inférieures. Le taux de diffusion est plus faible dans la phase cristalline. Il convient que les conditions d'extraction n'altèrent pas la phase d'équilibre du matériau. L'altération de phase peut affecter la quantité et le type des extractibles.

Par exemple, lorsque des températures élevées sont utilisées, il existe deux possibilités:

— l'énergie apportée par l'augmentation de la température peut provoquer une prise et/ou une polymérisation accrue(s) du polymère et, par conséquent, une baisse de la quantité de monomères libres pouvant migrer du polymère;

— l'augmentation de la température peut provoquer la formation de produits de dégradation que l'on ne trouve normalement pas dans les dispositifs médicaux finis dans les conditions d'utilisation.

10.3.2 Pour les matériaux conçus pour se dissoudre ou être absorbés en conditions d'utilisation, le choix des conditions d'extraction décrites au 10.3 peut nécessiter de prendre en compte les propriétés thermiques (par exemple la température de transition vitreuse des polymères) des matériaux de construction des dispositifs ainsi que les conditions d'utilisation cliniques pertinentes. Pour ces matériaux, les extraits préparés selon le 10.3 peuvent présenter des modifications en matière d'osmolarité et/ou de pH, qui peuvent ne pas être adéquates pour le système d'essai à doser. Il convient de justifier tout réglage appliqué aux extraits avant les essais de biocompatibilité.

NOTE Pour plus d'informations sur la préparation d'échantillons afin de mener des essais sur des dispositifs médicaux absorbables, voir l'ISO 10993-3, l'ISO 10993-6, l'ISO 10993-13, l'ISO 10993-14, l'ISO 10993-15, l'ISO 10993-18 et l'ISO/TS 37137-1.

Réaliser l'extraction en utilisant le solvant d'extraction et les conditions de temps/température appropriés pour simuler une exposition exagérée dans la mesure du possible. Il se peut que la dissolution complète avec les solvants d'extraction dans les conditions d'extraction recommandées par le présent document soit appropriée, si justifiée; cependant, il convient de prendre des précautions dans la mesure où la dissolution complète du dispositif peut poser des problèmes aux essais biologiques ultérieurs (par exemple: difficulté de dosage pour les animaux en cas d'extrait pur soumis à essai si la viscosité est augmentée, difficulté à interpréter les données relatives aux échecs d'essais *in vitro* de type cellulaire en cas d'osmolalité augmentée ou de modification du pH). Pour la caractérisation chimique et l'évaluation des risques liés aux éventuels produits de dégradation intermédiaires qui ne peuvent être évalués autrement dans ces conditions d'essai, voir l'ISO 10993-17 et l'ISO 10993-18.

10.3.3 L'aire normale peut être utilisée pour déterminer le volume requis du solvant d'extraction. L'aire normale comprend la combinaison de toutes les surfaces de contact du tissu de l'échantillon et ignore la contribution des irrégularités de surface non déterminées. Lorsque l'aire ne peut pas être déterminée en

 © ISO 2021 – Tous droits réservés

raison de la configuration de l'échantillon, utiliser un rapport poids/volume du liquide d'extraction. Voir Tableau 1.

D'autres rapports d'extraction aire/volume, par exemple liés à l'évaluation de matériaux poreux, peuvent être utilisés à condition qu'ils reproduisent les conditions constatées pendant l'utilisation clinique ou qu'ils permettent de mesurer le potentiel de risque. (L'ISO/TS 10993-19 décrit les essais de caractérisation morphologique des matériaux poreux.)

Avant l'extraction, les matériaux peuvent être coupés en petits morceaux pour améliorer la submersion dans le milieu d'extraction, à moins que cela ne soit pas approprié (voir 10.3.4). Par exemple, pour les polymères, des morceaux d'environ 10 mm × 50 mm ou 5 mm × 25 mm sont appropriés.

Tableau 1 — Aires normales et volumes de liquide d'extraction

Épaisseur[a] mm	**Rapport d'extraction** (aire ou poids/volume) ±10 %	**Exemples de formes de matériaux**
<0,5	6 cm^2/ml	film, feuille, paroi de tube
0,5 à 1,0	3 cm^2/ml	paroi de tube, plaque, petits articles moulés
>1,0	3 cm^2/ml	articles moulés plus grands
dispositifs solides de forme irrégulière	0,2 g/ml	poudre, pastilles, mousse, articles moulés non absorbants, matériaux poreux haute densité
dispositifs poreux de forme irrégulière (matériaux de basse densité)	0,1 g/ml	membranes, textiles

[a] Si le dispositif médical comporte plusieurs composants de différentes épaisseurs en contact avec les tissus, il convient que le rapport d'extraction soit justifié. Pour ce faire, il est possible de fonder le rapport sur la couche de matériau la plus fine du composant concerné.

NOTE En l'absence de méthodes normalisées pour les essais portant sur les matériaux polymères absorbant les solvants (par exemple absorbants et hydrocolloïdes), le protocole suivant est suggéré:

— déterminer le volume de solvant d'extraction absorbé par 0,1 g ou 1,0 cm^2 de matériau;

— ensuite, au cours de l'extraction du matériau, ajouter ce volume supplémentaire par 0,1 g ou 1,0 cm^2 dans le mélange d'extraction.

10.3.4 Dans la mesure du possible, soumettre à essai les élastomères, les matériaux revêtus, les matériaux composites, et les stratifiés, alors qu'ils sont intacts, à cause des différences potentielles de caractéristiques d'extraction entre les surfaces coupées et les surfaces intactes. Pour des matériaux tels que les élastomères et le latex, il peut être approprié d'utiliser un rapport d'extraction de 1,25 cm^2/ml, si justifié.

10.3.5 Effectuer l'extraction en utilisant à la fois des solvants d'extraction polaires et non polaires. Dans certaines circonstances propres à un dispositif, il peut être opportun de n'utiliser qu'un seul milieu d'extraction, polaire ou non polaire. Lorsque l'extraction s'effectue dans un seul solvant, une justification doit être fournie. Des exemples de solvants d'extraction sont donnés ci-après:

EXEMPLE 1 L'eau, les solutions salines physiologiques, les milieux de culture sans sérum sont des exemples de solvants d'extraction polaires.

EXEMPLE 2 Les huiles végétales fraîchement raffinées (par exemple huile de graine de coton ou de sésame) présentant une qualité définie dans diverses pharmacopées sont des exemples de solvants d'extraction non polaires.

NOTE 1 D'autres solvants d'extraction, tels que l'éthanol/eau, l'éthanol/solutions salines physiologiques, le polyéthylène-glycol 400 (dilué à une pression osmotique physiologique), le diméthylsulfoxyde et les milieux de culture avec sérum peuvent être envisagés, si cela est justifié.

© ISO 2021 – Tous droits réservés