

DIN EN ISO 10993-10



ICS 11.100.20

Ersatz für
DIN EN ISO 10993-10:2010-12

**Biologische Beurteilung von Medizinprodukten –
Teil 10: Prüfungen auf Irritation und Hautsensibilisierung
(ISO 10993-10:2010);
Deutsche Fassung EN ISO 10993-10:2013**

Biological evaluation of medical devices –
Part 10: Tests for irritation and skin sensitization (ISO 10993-10:2010);
German version EN ISO 10993-10:2013

Évaluation biologique des dispositifs médicaux –
Partie 10: Essais d'irritation et de sensibilisation cutanée (ISO 10993-10:2010);
Version allemande EN ISO 10993-10:2013

Gesamtumfang 83 Seiten

DIN-Normenausschuss Feinmechanik und Optik (NAFuO)

Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm wurde vom CEN/TC 206 „Biologische Beurteilung von Medizinprodukten“ (Sekretariat: NEN, Niederlande) aus der Arbeit des ISO/TC 194 „Biological evaluation of medical devices“ übernommen.

Zuständig für die Bearbeitung ist im DIN-Normenausschuss Feinmechanik und Optik (NAFuO) der Arbeitsausschuss NA 027-02-12 AA „Biologische Beurteilung von Medizinprodukten“.

DIN EN ISO 10993 besteht unter dem allgemeinen Titel *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten* aus folgenden Teilen:

- Teil 1: *Beurteilung und Prüfungen im Rahmen eines Risikomanagementsystems*
- Teil 2: *Tierschutzbestimmungen*
- Teil 3: *Prüfungen auf Genotoxizität, Karzinogenität und Reproduktionstoxizität*
- Teil 4: *Auswahl von Prüfungen zur Wechselwirkung mit Blut*
- Teil 5: *Prüfungen auf in-vitro-Zytotoxizität*
- Teil 6: *Prüfungen auf lokale Effekte nach Implantationen*
- Teil 7: *Ethylenoxid-Sterilisationsrückstände*
- Teil 9: *Rahmen zur Identifizierung und Quantifizierung von möglichen Abbauprodukten*
- Teil 10: *Prüfungen auf Irritation und Hautsensibilisierung*
- Teil 11: *Prüfungen auf systemische Toxizität*
- Teil 12: *Probenvorbereitung und Referenzmaterialien*
- Teil 13: *Qualitativer und quantitativer Nachweis von Abbauprodukten in Medizinprodukten aus Polymeren*
- Teil 14: *Qualitativer und quantitativer Nachweis von keramischen Abbauprodukten*
- Teil 15: *Qualitativer und quantitativer Nachweis von Abbauprodukten aus Metallen und Legierungen*
- Teil 16: *Entwurf und Auslegung toxikokinetischer Untersuchungen hinsichtlich Abbauprodukten und herauslösbaren Bestandteilen*
- Teil 17: *Nachweis zulässiger Grenzwerte für herauslösbare Bestandteile*
- Teil 18: *Chemische Charakterisierung von Werkstoffen*

ISO/TS 10993 besteht unter dem allgemeinen Titel *Biological evaluation of medical devices* aus folgenden Teilen:

- Teil 19: *Physico-chemical, morphological and topographical characterization of materials (Physikalisch/chemische, mechanische und morphologische Charakterisierung)*
- Teil 20: *Principles and methods for immunotoxicology testing of medical devices (Prinzipien und Verfahren für die Immuntoxikologische Prüfung von Medizinprodukten)*

HINWEIS:

Aufgrund eines formalen Einspruchs der Europäischen Kommission zu den Anhängen ZA und ZB, die den Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der EG-Richtlinie 93/42/EWG über Medizinprodukte und der EG-Richtlinie 90/385/EWG über aktive implantierbare Medizinprodukte aufzeigen, musste diese Europäische Norm überarbeitet werden.

Da nur die Anhänge ZA und ZB von Änderungen betroffen sind wurde von Seiten DIN beschlossen, keinen Norm-Entwurf zu veröffentlichen.

Für die im Abschnitt 2 zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 10993-1	siehe DIN EN ISO 10993-1
ISO 10993-2	siehe DIN EN ISO 10993-2
ISO 10993-9	siehe DIN EN ISO 10993-9
ISO 10993-12	siehe DIN EN ISO 10993-12
ISO 10993-13	siehe DIN EN ISO 10993-13
ISO 10993-14	siehe DIN EN ISO 10993-14
ISO 10993-15	siehe DIN EN ISO 10993-15
ISO 10993-18	siehe DIN EN ISO 10993-18
ISO 14155-1	siehe DIN EN ISO 14155-1
ISO 14155-2	siehe DIN EN ISO 14155-2

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 10993-10:2010-12 wurde folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Anhänge ZA und ZB wurden geändert.

Frühere Ausgaben

DIN EN ISO 10993-10: 1996-02, 2003-02, 2007-06, 2009-08, 2010-12

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 10993-1, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 1: Beurteilung und Prüfungen im Rahmen eines Risikomanagementsystems*

DIN EN ISO 10993-2, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 2: Tierschutzbestimmungen*

DIN EN ISO 10993-9, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 9: Rahmen zur Identifizierung und Quantifizierung von möglichen Abbauprodukten*

DIN EN ISO 10993-12, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 12: Probenvorbereitung und Referenzmaterialien*

DIN EN ISO 10993-13, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 13: Qualitativer und quantitativer Nachweis von Abbauprodukten in Medizinprodukten aus Polymeren*

DIN EN ISO 10993-14, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 14: Qualitativer und quantitativer Nachweis von keramischen Abbauprodukten*

DIN EN ISO 10993-15, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 15: Qualitativer und quantitativer Nachweis von Abbauprodukten aus Metallen und Legierungen*

DIN EN ISO 10993-18, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 18: Chemische Charakterisierung von Werkstoffen*

DIN EN ISO 14155-1, *Klinische Prüfung von Medizinprodukten an Menschen — Teil 1: Allgemeine Anforderungen*

DIN EN ISO 14155-2, *Klinische Prüfung von Medizinprodukten an Menschen — Teil 2: Klinische Prüfpläne*

Deutsche Fassung

Biologische Beurteilung von Medizinprodukten —
Teil 10: Prüfungen auf Irritation und Hautsensibilisierung
(ISO 10993-10:2010)

Biological evaluation of medical devices —
Part 10: Tests for irritation and skin sensitization
(ISO 10993-10:2013)

Évaluation biologique des dispositifs médicaux —
Partie 10: Essais d'irritation et de sensibilisation cutanée
(ISO 10993-10:2013)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 9. Juli 2013 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Management-Zentrum des CEN-CENELEC oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	6
Einleitung.....	7
1 Anwendungsbereich	8
2 Normative Verweisungen	8
3 Begriffe	9
4 Allgemeine Grundsätze — Stufenweises Vorgehen	11
5 Überlegungen vor der Prüfung.....	12
5.1 Allgemeines	12
5.2 Arten von Materialien	12
5.2.1 Erste Überlegungen.....	12
5.2.2 Keramik, Metalle und Legierungen	12
5.2.3 Polymere	12
5.2.4 Materialien biologischer Herkunft.....	12
5.3 Informationen über die chemische Zusammensetzung	12
5.3.1 Allgemeines	12
5.3.2 Vorhandene Datenquellen	13
6 Prüfungen auf Irritation	13
6.1 <i>In-vitro</i> -Irritationsprüfungen	13
6.2 <i>In-vivo</i> -Irritationsprüfungen — Bei Planung und Auswahl von <i>In-vivo</i> -Prüfungen zu berücksichtigende Faktoren	13
6.3 Irritationsprüfung an der Haut.....	14
6.3.1 Kurzbeschreibung	14
6.3.2 Prüfmaterial	14
6.3.3 Tiere und Haltung	15
6.3.4 Prüfverfahren	15
6.3.5 Beobachtung der Tiere.....	17
6.3.6 Beurteilung der Ergebnisse	17
6.3.7 Prüfbericht.....	18
6.4 Prüfung auf intrakutane (intradernale) Reaktivität bei Tieren	19
6.4.1 Einleitung.....	19
6.4.2 Ausschluss von der Prüfung.....	19
6.4.3 Prüfmuster	19
6.4.4 Tiere und Haltung	19
6.4.5 Prüfverfahren	19
6.4.6 Beobachtung der Tiere.....	20
6.4.7 Beurteilung der Ergebnisse	21
6.4.8 Prüfbericht.....	21
6.5 Irritationsprüfung an der menschlichen Haut.....	22
6.5.1 Einleitung.....	22
6.5.2 Erste Überlegungen.....	22
7 Prüfungen auf Hautsensibilisierung	23
7.1 Auswahl von Prüfverfahren	23
7.2 Lokale Lymphknotenprüfung an der Maus (LLNA)	23
7.2.1 Kurzbeschreibung	23
7.2.2 Vorbereitung der Prüfmuster.....	23
7.2.3 Tiere und Haltung	24

7.2.4	Prüfverfahren	24
7.2.5	Behandlungsgruppen	25
7.2.6	Bestimmung der Zellproliferation und Gewebepvorbereitung	25
7.2.7	Ergebnisse und Auswertung	26
7.2.8	Prüfbericht	26
7.3	Versuche am Meerschweinchen zum Nachweis von Hautsensibilisierung	26
7.3.1	Kurzbeschreibung	26
7.3.2	Wahl der Konzentrationen des Prüfmusters	27
7.3.3	Induktion.....	27
7.3.4	Provokation.....	27
7.4	Wichtige Faktoren, die das Prüfergebnis beeinflussen	27
7.5	Maximierungsprüfung am Meerschweinchen (GPMT)	28
7.5.1	Kurzbeschreibung	28
7.5.2	Vorbereitung des Prüfmusters.....	28
7.5.3	Tiere und Haltung	28
7.5.4	Prüfverfahren	28
7.5.5	Beobachtung der Tiere	30
7.5.6	Auswertung der Ergebnisse.....	31
7.5.7	Prüfbericht	31
7.6	Prüfung mit Okklusivläppchen (Bühler-Test)	31
7.6.1	Kurzbeschreibung	31
7.6.2	Vorbereitung der Prüfmuster	31
7.6.3	Tiere und Haltung	31
7.6.4	Prüfverfahren	32
7.6.5	Beobachtung der Tiere	33
7.6.6	Auswertung der Ergebnisse.....	33
7.6.7	Prüfbericht	34
8	Schlüsselfaktoren bei der Auswertung von Prüfergebnissen.....	34
Anhang A (normativ)	Vorbereitung von Materialien zur Prüfung auf Irritation/Sensibilisierung	35
A.1	Allgemeines	35
A.2	Materialien für Exposition im direkten Kontakt.....	35
A.2.1	Feste Prüfmaterialien	35
A.2.2	Flüssige Prüfmaterialien.....	35
A.3	Extrakte von Prüfmaterialien.....	35
A.4	Lösungsmittel.....	36
A.5	Sterile Prüfmaterialien	36
Anhang B (normativ)	Spezielle Prüfungen auf Irritation.....	37
B.1	Allgemeines	37
B.2	Irritationsprüfung am Auge	37
B.2.1	Allgemeines	37
B.2.2	Kurzbeschreibung	37
B.2.3	Ausschluss von der Prüfung	37
B.2.4	Prüfmaterial.....	37
B.2.5	Tiere und Haltung	38
B.2.6	Prüfverfahren	38
B.2.7	Beobachtung der Tiere	38
B.2.8	Auswertung der Ergebnisse.....	41
B.2.9	Prüfbericht	41
B.3	Irritationsprüfung an der Mundschleimhaut.....	41
B.3.1	Allgemeines	41
B.3.2	Kurzbeschreibung	42
B.3.3	Ausschluss von der Prüfung	42
B.3.4	Prüfmaterial.....	42
B.3.5	Tiere und Haltung	42
B.3.6	Prüfverfahren	42
B.3.7	Beobachtung der Tiere	43

	Seite
B.3.8 Beurteilung der Ergebnisse	43
B.3.9 Prüfbericht	44
B.4 Penile Irritationsprüfung	46
B.4.1 Allgemeines	46
B.4.2 Kurzbeschreibung	46
B.4.3 Ausschluss von der Prüfung	46
B.4.4 Prüfmuster	46
B.4.5 Tiere und Haltung	46
B.4.6 Prüfverfahren	46
B.4.7 Beobachtung der Tiere	47
B.4.8 Beurteilung der Ergebnisse	47
B.4.9 Prüfbericht	48
B.5 Rektale Irritationsprüfung	48
B.5.1 Allgemeines	48
B.5.2 Kurzbeschreibung	48
B.5.3 Ausschluss von der Prüfung	48
B.5.4 Prüfmaterial	48
B.5.5 Tiere und Haltung	49
B.5.6 Prüfverfahren	49
B.5.7 Beobachtung der Tiere	49
B.5.8 Beurteilung der Ergebnisse	50
B.5.9 Prüfbericht	50
B.6 Vaginale Irritationsprüfung	51
B.6.1 Allgemeines	51
B.6.2 Kurzbeschreibung	51
B.6.3 Ausschluss von der Prüfung	51
B.6.4 Prüfmaterial	51
B.6.5 Tiere und Haltung	51
B.6.6 Prüfverfahren	51
B.6.7 Beobachtung der Tiere	52
B.6.8 Beurteilung der Ergebnisse	52
B.6.9 Prüfbericht	53
Anhang C (normativ) Irritationsprüfung an der menschlichen Haut	54
C.1 Allgemeines	54
C.2 Kurzbeschreibung	54
C.3 Verfahrensbeschreibung	54
C.3.1 Auswahl menschlicher Freiwilliger	54
C.3.2 Vorbereitung der Prüfdosen	54
C.3.3 Durchführung	54
C.4 Daten und Bericht	56
C.4.1 Daten	56
C.4.2 Auswertung und Interpretation der Daten	57
C.4.3 Prüfbericht	57
Anhang D (informativ) <i>In-vitro</i> -Prüfungen auf Hautirritation	58
D.1 Hintergrundinformation	58
D.2 Kurzbeschreibung von <i>In-vitro</i> -Prüfungen auf Hautirritation	59
D.2.1 Allgemeines	59
D.2.2 Allgemeine Modelleigenschaften	59
D.2.3 Anforderungen an das Funktionsmodell	59
D.3 Prüfmaterial	60
D.4 Prüfverfahren	61
D.5 Ergebnisse und Auswertung	62
D.6 Prüfbericht	63
Anhang E (informativ) Verfahren zur Herstellung von Extrakten aus polymeren Prüfmaterialien	64
E.1 Allgemeines	64
E.2 Herstellungsverfahren	64

E.2.1	Vorextraktion	64
E.2.2	Endextraktion.....	64
E.3	Maximierungsprüfung am Meerschweinchen (GPMT)	66
E.3.1	Allgemeines	66
E.3.2	Provokationsphase	66
Anhang F (informativ)	Hintergrundinformation	67
F.1	Irritationsprüfungen	67
F.2	Sensibilisierungsprüfungen auf Hautsensibilisierung	68
Literaturhinweise		71
Anhang ZA (informativ)	Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der EG-Richtlinie 93/42/EWG über Medizinprodukte.....	78
Anhang ZB (informativ)	Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der EG-Richtlinie 90/385/EWG über aktive implantierbare Medizinprodukte	79
 Bilder		
Bild 1 —	Lage der Applikationsstellen auf der Haut.....	16
Bild 2 —	Anordnung der Injektionsstellen.....	20
Bild 3 —	Lage der intrakutanen Injektionsstellen	30
 Tabellen		
Tabelle 1 —	Bewertungssystem für die Hautreaktionen	15
Tabelle 2 —	Kategorien von Primären oder Kumulativen Irritationsindex beim Kaninchen	18
Tabelle 3 —	Gradeinteilungssystem für intrakutane (intradermale) Reaktionen.....	21
Tabelle 4 —	Skala nach Magnusson und Kligman.....	29
Tabelle B.1 —	System zur Gradeinteilung von Augenläsionen.....	40
Tabelle B.2 —	Gradeinteilungssystem für orale und penile Reaktionen.....	43
Tabelle B.3 —	Gradeinteilungssystem für die mikroskopische Untersuchung von oralen, penilen, rektalen und vaginalen Gewebsreaktionen	45
Tabelle B.4 —	Irritationsindex.....	45
Tabelle C.1 —	Irritationsprüfung an der menschlichen Haut, Gradeinteilung	56
Tabelle D.1 —	Beispiele für QK-Kriterien für die Chargenfreigabe	60
Tabelle D.2 —	Beispiel für den Bereich von Modellreaktionen auf eine Positivkontrolle (5 % SDS)	61
Tabelle ZA.1 —	Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und der Richtlinie 93/42/EWG über Medizinprodukte.....	78
Tabelle ZB.1 —	Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und der Richtlinie 90/385/EWG über aktive implantierbare Medizinprodukte.....	79

Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 10993-10:2013) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 194 „Biological evaluation of medical devices“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 206 „Biologische Beurteilung von Medizinprodukten“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom NEN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Februar 2014, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Februar 2014 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN [und/oder CENELEC] sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Dieses Dokument ersetzt EN ISO 10993-10:2010.

Dieses Dokument wurde unter einem Mandat erarbeitet, das die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben, und unterstützt grundlegende Anforderungen der EU-Richtlinien.

Zum Zusammenhang mit EU-Richtlinien siehe informative Anhänge ZA und ZB, die Bestandteil dieses Dokuments sind.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 10993-10:2010 wurde vom CEN als EN ISO 10993-10:2013 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Einleitung

Dieser Teil der ISO 10993 dient zur Einschätzung möglicher Gefährdungen durch den Kontakt mit aus Medizinprodukten austretenden chemischen Substanzen, die eine Reizung der Haut, der Schleimhäute und der Augen oder eine Sensibilisierung der Haut hervorrufen können.

Einige in Medizinprodukten verwendete Materialien sind überprüft worden, und ihr Irritations- oder Sensibilisierungspotential für Haut oder Schleimhäute wurde dokumentiert. Andere Materialien und ihre chemischen Bestandteile sind nicht geprüft worden und können bei Kontakt mit menschlichem Gewebe eine nachteilige Wirkung hervorrufen. Der Hersteller ist daher verpflichtet, jedes Produkt vor der Marktfreigabe auf seine mögliche nachteilige Wirkung (Nebenwirkung) zu beurteilen.

Traditionell werden Versuche an Kleintieren als Hilfsmittel zur Vorhersagbarkeit der Reaktion des Menschen durchgeführt, bevor am Menschen geprüft wird. In letzter Zeit wurde dieses Schema sowohl durch *In-vitro*-Versuche als auch durch Prüfungen am Menschen als Alternativen ergänzt. Trotz der Fortschritte und beträchtlicher Anstrengungen in dieser Hinsicht zeigt eine Übersicht der erhaltenen Befunde, dass bis jetzt keine zufriedenstellende *In-vitro*-Prüfung erarbeitet wurde, durch die die Notwendigkeit von *In-vivo*-Versuchen entfallen könnte. In geeigneten Fällen wird die vorherige Anwendung von *In-vitro*-Verfahren als Screening vor dem Tierversuch empfohlen. Um die Anzahl der verwendeten Tiere zu verringern, zeigt dieser Teil der ISO 10993 einen stufenweisen Prüfungsablauf mit Zusammenfassung und Analyse der Prüfergebnisse in jedem Versuchsstadium auf. Vor der Prüfung am Menschen ist normalerweise ein Tierversuch erforderlich.

Es ist vorgesehen, dass diese Untersuchungen unter Anwendung der Guten Laborpraxis durchgeführt werden und den Bestimmungen über den Tierschutz entsprechen. Die statistische Analyse der Daten wird empfohlen und sollte, wenn angebracht, durchgeführt werden.

Dieser Teil von ISO 10993 ist für die Anwendung durch Experten vorgesehen, die durch Schulung und Erfahrung entsprechend qualifiziert und in der Lage sind, dessen Anforderungen zu interpretieren und die Ergebnisse der Beurteilung für jedes Medizinprodukt unter Berücksichtigung aller Faktoren, die für das Medizinprodukt relevant sind, seines bestimmungsgemäßen Gebrauchs und des aktuellen Kenntnisstandes über das Medizinprodukt aus der wissenschaftlichen Literatur und bisheriger klinischer Erfahrung, zu bewerten.

Die in diesem Teil der ISO 10993 aufgeführten Prüfungen sind wichtige Hilfsmittel für die Entwicklung von sicheren Produkten, vorausgesetzt, sie werden von ausgebildetem Personal durchgeführt und bewertet.

Dieser Teil von ISO 10993 beruht auf einer Vielzahl von Normen und Leitfäden, einschließlich OECD-Leitfäden, Pharmakopöe der USA und der Europäischen Pharmakopöe. Er ist als Basisdokument für die Wahl und Durchführung von Prüfungen vorgesehen, die die Beurteilung von Reaktionen in Form von Irritationen und Hautsensibilisierung in Bezug auf die Sicherheit von medizinischen Materialien und Medizinprodukten ermöglichen.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil der ISO 10993 beschreibt das Verfahren für die Beurteilung von Medizinprodukten und ihren Bestandteilen hinsichtlich ihres Potentials, eine Irritation und eine Hautsensibilisierung hervorzurufen.

Dieser Teil der ISO 10993 enthält:

- a) vor der Prüfung durchzuführende Überlegungen hinsichtlich einer Irritation, einschließlich *In-silico*- und *In-vitro*-Verfahren zur dermalen Exposition;
- b) Einzelheiten zur Durchführung von *In-vivo*-Prüfungen (Irritation und Sensibilisierung);
- c) Schlüsselfaktoren für die Interpretation der Ergebnisse.

Anhang A enthält Anweisungen für die spezielle Vorbereitung von Materialien im Zusammenhang mit den vorstehend angeführten Prüfungen. In Anhang B sind mehrere spezielle Prüfungen auf Irritation bei der Anwendung von Medizinprodukten in anderen Bereichen als der Haut beschrieben.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 10993-1:2009, *Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing within a risk management system*

ISO 10993-2, *Biological evaluation of medical devices — Part 2: Animal welfare requirements*

ISO 10993-9, *Biological evaluation of medical devices — Part 9: Framework for identification and quantification of potential degradation products*

ISO 10993-12, *Biological evaluation of medical devices — Part 12: Sample preparation and reference materials*

ISO 10993-13, *Biological evaluation of medical devices — Part 13: Identification and quantification of degradation products from polymeric medical devices*

ISO 10993-14, *Biological evaluation of medical devices — Part 14: Identification and quantification of degradation products from ceramics*

ISO 10993-15, *Biological evaluation of medical devices — Part 15: Identification and quantification of degradation products from metals and alloys*

ISO 10993-18, *Biological evaluation of medical devices — Part 18: Chemical characterization of materials*

ISO 14155-1, *Clinical investigation of medical devices for human subjects — Part 1: General requirements*

ISO 14155-2, *Clinical investigation of medical devices for human subjects — Part 2: Clinical investigation plans*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach ISO 10993-1 und die folgenden Begriffe.

3.1

Allergen

sensibilisierende Substanz

Substanz oder Material, die/das eine spezifische Hypersensibilität (Überempfindlichkeit) nach wiederholtem Kontakt mit der Substanz oder dem Material auslösen kann

3.2

Blindprobe

Extraktionsmedium ohne Prüfmuster, das in einem Gefäß aufbewahrt wird, das mit dem Gefäß identisch ist, in dem sich das Prüfmuster befindet, und das den gleichen Bedingungen ausgesetzt ist wie das Prüfmuster während der Extraktion

ANMERKUNG Die Blindprobe dient der Bewertung einer möglichen Beeinflussung der Ergebnisse durch das Extraktionsgefäß, die Trägersubstanz und den Extraktionsprozess.

3.3

Provokation

Auslösen einer Reaktion

Prozess nach der Induktionsphase, bei dem die immunologischen Auswirkungen nachfolgender Expositionen eines einzelnen Lebewesens gegenüber der induzierten Substanz untersucht werden

3.4

Dosis

Dosierung

verabreichte Menge des Prüfmusters (z. B. Masse, Volumen), angegeben je Einheit Körpergewicht oder Körperoberfläche

ANMERKUNG Die Begriffe werden oft synonym angewendet.

3.5

Erythem

Rötung der Haut oder Schleimhaut

3.6

Schorf

Borke bzw. verfärbte Kruste

3.7

Extrakt

Flüssigkeit oder Suspension, die aus dem Aussetzen eines Prüf- oder Kontrollmaterial einem Lösungsmittel unter kontrollierten Bedingungen resultiert

3.8

Induktion

Prozess, der zur Erzeugung eines neuen, verbesserten Zustands der immunologischen Aktivität eines einzelnen Lebewesens gegenüber einem spezifischen Materials führt

3.9

reizende Substanz

Wirkstoff, der eine Reizung (Irritation) hervorruft

3.10

Irritation

örtliche unspezifische entzündliche Reaktion auf eine einmalige, wiederholte oder andauernde Einwirkung einer Substanz/eines Materials

ANMERKUNG Hautirritation ist eine reversible Reaktion und wird hauptsächlich durch ein örtliches Erythem (Rötung) der Haut charakterisiert.

3.11

Nekrose

Zelltod als direktes Ergebnis irreversibler Veränderungen, die durch eine Verletzung oder Krankheit bewirkt werden

ANMERKUNG Es sollte beachtet werden, dass eine Rekonstruktion des Gewebes erfolgt, die entweder zur vollständigen funktionellen Wiederherstellung oder zur Bildung einer Narbe führt.

3.12

Negativkontrolle

beliebige(s) gut beschriebene(s) Material oder Substanz, das, wenn nach einem bestimmten Verfahren geprüft, die Eignung des Verfahrens zur Erzielung einer reproduzierbaren, in geeignetem Maße negativen, nicht reaktiven oder minimalen Reaktion im Prüfsystem nachweist

ANMERKUNG In der Praxis umfassen Negativkontrollen Blindproben, Trägersubstanzen/Lösungsmittel und Referenzmaterialien.

3.13

Ödem

Schwellung infolge anomaler Flüssigkeitsinfiltration in die Gewebe

3.14

Positivkontrolle

beliebige(s) gut beschriebene(s) Material oder Substanz, das, wenn nach einem bestimmten Verfahren bewertet, die Eignung des Prüfsystems zur Erzielung einer reproduzierbaren, in geeignetem Maße positiven oder reaktiven Rückantwort im Prüfsystem nachweist

3.15

Hautkorrosion

Auslösen einer irreversiblen Hautschädigung, die sich als sichtbare, bis in das Corium reichende Nekrose der Epidermis nach Applikation eines Prüfmusters äußert

ANMERKUNG Die Wirkung einer (eines) Verbindung/Chemikalie/Prüfmusters, die zu einem Hautgeschwür (siehe 3.19) führt.

3.16

Sensibilisierung der Haut

allergische Kontaktdermatitis

immunologisch vermittelte Hautreaktion auf eine Substanz

ANMERKUNG Beim Menschen können die Reaktionen durch Juckreiz, Erytheme, Ödeme, Knötchen, Bläschen, Hautblasen oder eine Kombination davon gekennzeichnet sein. Bei anderen Spezies können sich die Reaktionen unterscheiden und es können nur Erytheme und Ödeme zu sehen sein.

3.17

Prüfmaterial

Material, Produkt, Anteil oder Bestandteil eines Produkts, das/der als Probe für die biologische oder chemische Prüfung entnommen wird

3.18

Prüfmuster

Material, Produkt, Anteil oder Bestandteil eines Produkts, Extrakt oder Anteil davon, das/der der biologischen oder chemischen Prüfung oder Beurteilung unterzogen wird

3.19

Ulzeration

offene Wunde durch Verlust oberflächlicher Gewebsschichten

3.20

Trägersubstanz

Flüssigkeit zum Befeuchten, Verdünnen, Suspendieren, Extrahieren oder Lösen der Prüfsubstanz/des Prüfmaterials

4 Allgemeine Grundsätze — Stufenweises Vorgehen

Die zur Verfügung stehenden Verfahren zur Prüfung auf Irritation und Sensibilisierung wurden spezifisch entwickelt, um das Potential einer Substanz zur Irritation der Haut und Schleimhaut und zur Sensibilisierung der Haut nachzuweisen. Eine Voraussage für sonstige Typen unerwünschter Wirkungen ist durch diese Prüfungen im Allgemeinen nicht möglich. Bei Medizinprodukten, die als Implantate oder als von außen mit dem Körperinneren in Kontakt kommende Produkte verwendet werden, ist eine intrakutane Prüfung bei der Näherung an die Applikation geeigneter, und deshalb ist zum Nachweis einer Irritationswirkung die in 6.4 beschriebene intrakutane Prüfung anzuwenden.

Dieser Teil der ISO 10993 fordert ein stufenweises Vorgehen, das einen oder mehrere der folgenden Schritte enthält:

- a) Charakterisierung des Prüfmaterials, die eine chemische Charakterisierung und Analyse des Prüfmusters nach den allgemeinen Grundsätzen, wie in ISO 10993-9, ISO 10993-13, ISO 10993-14, ISO 10993-15 und ISO 10993-18 beschrieben, einschließt;
- b) Literaturstudie, die eine Bewertung der chemischen und physikalischen Eigenschaften und die Gewinnung von Informationen über das Irritations- und Sensibilisierungspotential aller Bestandteile des Produkts sowie über strukturell nahe stehende Chemikalien und Materialien umfasst;
- c) nach ISO 10993-2 muss die Bevorzugung von *In-vitro*-Prüfungen gegenüber *In-vivo*-Prüfungen beachtet werden und das Ersetzen letzterer, wenn neue *In-vitro*-Verfahren wissenschaftlich validiert und in vernünftiger Weise und praktisch verfügbar sind. Für die Bewertung von Hautirritation und -verätzung stehen für Chemikalien alternative *In-vitro*-Verfahren zur Verfügung, während es zurzeit keine international validierten und anerkannten *In-vitro*-Prüfungen zum Nachweis sensibilisierender Substanzen gibt;
- d) *In-vivo*-Tierversuche: um die Wiederholbarkeit und Sensibilität sicherzustellen, muss eine Prüfung einer Positiv-Kontrollsubstanz für die Irritation und die Sensibilisierung der Haut vom Prüflaboratorium in jeden Versuch einbezogen werden, um das Prüfsystem zu validieren und eine Positivreaktion nachzuweisen. Für Versuche auf Sensibilisierung der Haut von Meerschweinchen muss jedoch, wenn über einen Zeitraum von sechs Monaten oder länger die Beständigkeit nachgewiesen wurde, nicht in jeden Versuch eine Positivkontrolle einbezogen werden, sondern sie darf in regelmäßigen Abständen, die nicht mehr als sechs Monate betragen dürfen, geprüft werden;

ANMERKUNG 1 Die Sensibilisierung kann derzeit nur durch einen *In-vivo*-Versuch bestimmt werden. Das kann unter Anwendung der Lokalen Lymphknotenprüfung (LLNA) an Mäusen, der Okklusivläppchen-Prüfung an Meerschweinchen oder der Meerschweinchen-Maximierungsprüfung (GPMT) erfolgen. Bei einzelnen Chemikalien ist der LLNA jetzt das bevorzugte Verfahren zur Bestimmung des Sensibilisierungspotentials. Siehe Verweisungen [69] [88] [90].

ANMERKUNG 2 *In-vivo*-Tierversuche sind geeignet, wenn es nicht möglich ist, unter Nutzung der nach den in a), b) und c) dargelegten Verfahrensweisen erhaltenen Informationen die Prüfmaterialien zu charakterisieren und eine Risiko-beurteilung vorzunehmen.

ANMERKUNG 3 Bei Sensibilisierungsversuchen an Meerschweinchen werden üblicherweise alle sechs Monate zehn Tiere für die Positivkontrolle verwendet. Es können weniger Meerschweinchen verwendet werden, wenn ein Versuch mit einer Positiv-Kontrollsubstanz häufiger als alle sechs Monate durchgeführt wird. Mindestens fünf Versuchstiere mit einer positiven Substanz und fünf Kontrolltiere sollten verwendet werden.

- e) nicht invasive Prüfungen am Menschen/klinische Versuche. Wenn für das Material nachgewiesen wurde, dass es bei Tieren nicht reizend, sensibilisierend oder toxisch wirkt, dürfen Studien zur Hautirritation beim Menschen erwogen werden.

Klinische Studien in Übereinstimmung mit ISO 14155-1, ISO 14155-2 und den ethischen Prinzipien dürfen nicht durchgeführt werden, bevor die Ergebnisse der anderen Bewertungen in a) bis d) bekannt sind.

5 Überlegungen vor der Prüfung

5.1 Allgemeines

Es ist wichtig zu betonen, dass Überlegungen vor der Prüfung zu dem Schluss führen können, dass die Prüfung auf Irritation und/oder Sensibilisierung nicht notwendig ist.

Es gelten die Anforderungen von Abschnitt 5 von ISO 10993-1:2009 und die Folgenden.

Nicht sterile Proben dürfen nur durch topische Untersuchung untersucht werden, da die Möglichkeit einer mikrobiellen Kontamination des Prüfmusters die abschließende Versuchsauswertung stören könnte. In Fällen, bei denen die Sterilität eines Prüfmusters nicht gewährleistet werden kann, die Probe jedoch noch als nicht kontaminiert angesehen wird, kann eine intrakutane Verabreichung gerechtfertigt sein.

5.2 Arten von Materialien

5.2.1 Erste Überlegungen

Es muss in Betracht gezogen werden, dass während der Herstellung und der Montage von Medizinprodukten zusätzliche chemische Bestandteile als Verarbeitungshilfsmittel verwendet werden können, z. B. Schmiermittel oder Formtrennmittel. Zusätzlich zu den chemischen Bestandteilen des Ausgangsmaterials und den Verarbeitungshilfsmitteln können in einem Endprodukt auch Rückstände von Klebstoffen oder Lösungsmitteln aus dem Zusammenbau wie auch Rückstände von Sterilisationsmitteln oder beim Sterilisationsverfahren entstehende Reaktionsprodukte vorhanden sein. Ob diese Bestandteile eine Gefährdung oder ein Risiko für die Gesundheit darstellen, hängt von den Merkmalen der Endprodukte hinsichtlich Substanzaustritten oder Abbauprozessen ab. Diese Bestandteile müssen jedoch hinsichtlich ihrer möglichen Irritations-/Sensibilisierungswirkung berücksichtigt werden.

5.2.2 Keramik, Metalle und Legierungen

Diese Werkstoffe sind normalerweise im Hinblick auf die Anzahl chemischer Bestandteile weniger komplex als Polymere und Materialien biologischer Herkunft.

5.2.3 Polymere

Diese Werkstoffe sind im Hinblick auf ihre chemische Zusammensetzung normalerweise komplexer als die in 5.2.2 angegebenen. Es kann eine Anzahl von Reaktionsprodukten/Verunreinigungen/Zusatzstoffen vorhanden sein, und der Grad der Vollständigkeit der Polymerisation unterschiedlich sein.

5.2.4 Materialien biologischer Herkunft

Diese Materialien sind von sich aus in ihrer Zusammensetzung komplex. Sie enthalten oft auch Rückstände aus der Verarbeitung, z. B. Vernetzer und antimikrobiell wirkende Substanzen. Biologische Materialien können von Probe zu Probe uneinheitlich sein.

Die Verfahren in diesem Teil der ISO 10993 sind nicht für die Prüfung von Materialien biologischer Herkunft ausgelegt und können deshalb weniger geeignet sein. Zum Beispiel berücksichtigen die Prüfungen in diesem Teil der ISO 10993 nicht die Kreuzsensibilisierung zwischen einzelnen Spezies.

5.3 Informationen über die chemische Zusammensetzung

5.3.1 Allgemeines

Es sind sämtliche qualitative Daten über die chemischen Bestandteile des Materials zu ermitteln. Wo es für die biologische Sicherheit von Bedeutung ist, sind auch quantitative Daten zu erfassen. Falls quantitative Daten nicht erfasst werden, muss die Begründung gerechtfertigt und dokumentiert werden.

5.3.2 Vorhandene Datenquellen

Qualitative und quantitative Informationen über die Zusammensetzung müssen, falls möglich, über den Lieferanten des Ausgangsmaterials beschafft werden.

Bei Polymeren ist oft der Zugang zu firmeneigenen Angaben erforderlich; Regelungen zur Übermittlung und Verwendung solcher vertraulicher Informationen sollten getroffen werden.

Die qualitativen Angaben über alle weiteren Zusatzstoffe bei der Verarbeitung (z. B. Formtrennmittel) müssen ebenfalls von den entsprechenden Gliedern der Herstellungskette erhalten werden, einschließlich der Firmen, die Materialien weiterverarbeiten und Herstellern einzelner Bestandteile.

Wenn keinerlei Daten über die Zusammensetzung vorliegen, wird empfohlen, eine Literaturrecherche über die wahrscheinliche Beschaffenheit des Ausgangsmaterials und jeglicher Additive durchzuführen, um dadurch die Auswahl des geeignetsten Verfahrens für die Analyse des betreffenden Materials zu erleichtern.

Die chemische Zusammensetzung von Endprodukten muss nach ISO 10993-18 bestimmt werden.

ANMERKUNG Die Zusammensetzung von Keramik, Metallen und Legierungen kann mit ISO- oder ASTM-Werkstoffnormen übereinstimmen und/oder kann vom Anwender bestimmt werden. Um jedoch vollständige qualitative und quantitative Einzelheiten über die Zusammensetzung zu gewinnen, kann es erforderlich sein, diese beim Lieferanten oder Hersteller des Ausgangsmaterials und auch bei Herstellern von Bestandteilen anzufordern, um sicherzustellen, dass auch die Identität von Verarbeitungshilfsmitteln festgestellt wird. Eine weitere Datenquelle sind Materialstammdateien, die bei den Aufsichtsbehörden vorliegen, wo sie zugänglich sind.

6 Prüfungen auf Irritation

6.1 *In-vitro*-Irritationsprüfungen

In-vitro-Prüfverfahren, der TER-Test (TER = Transcutaneous Electrical Resistance) an Rattenhaut und die Prüfungen an einem Modell der menschlichen Haut, wurden international als alternative Prüfungen validiert und angenommen, um die hautgewebeerstörende (hautätzende) Wirkung von Chemikalien zu bewerten (OECD-Prüfrichtlinien 430 [9] und 431 [10]). Parallel zur Suche nach alternativen Verfahren haben nationale und internationale Organisationen weiter an der Entwicklung und Validierung von *In-vitro*-Prüfungen auf Hautirritation gearbeitet; andere haben Verfahren zur Quantifizierung der Reaktionen von Tieren und des Menschen entwickelt, um durch Anwendung nicht invasiver Techniken Endpunkte besser definieren zu können (siehe F.1).

ANMERKUNG 2007 hat der Wissenschaftliche Beirat (en: Scientific Advisory Committee, ESAC) des ECVAM (Europäischen Zentrums zur Validierung von Alternativmethoden) den Validierungsprozess einer *In-vitro*-Prüfung an einem Modell der menschlichen Haut zur Bestimmung der Hautirritation durch Chemikalien bewertet. Siehe Verweisung [101]. Die Verwendung von *In-vitro*-Modellen der menschlichen Haut für die Beurteilung des Potentials von Chemikalien, eine Hautirritation hervorzurufen, ist in Anhang D beschrieben.

Die *In-vitro*-Prüfung auf Hautirritation wurde bisher nur für reine Chemikalien und nicht für Extrakte von Medizinprodukten validiert. Um diese Versuche bei der Prüfung des Irritationspotentials von Medizinprodukten anwenden zu können, ist eine weitere Validierung für dieses spezifische Gebiet unumgänglich.

6.2 *In-vivo*-Irritationsprüfungen — Bei Planung und Auswahl von *In-vivo*-Prüfungen zu berücksichtigende Faktoren

Die Prüfung von Medizinprodukten auf Irritation kann mit dem Endprodukt und/oder mit Extrakten aus diesem erfolgen.

Zu den Faktoren, die die Ergebnisse der Untersuchungen auf Irritation beeinflussen, zählen die folgenden:

- a) die Beschaffenheit des im Patchtest verwendeten Produkts;
- b) die Dosis des Prüfmaterials;
- c) das Verfahren der Applikation des Prüfmaterials;
- d) der Grad des Luftabschlusses (der Okklusion);
- e) die Applikationsstelle;
- f) die Dauer und Anzahl der Expositionen und
- g) die bei der Beurteilung der Prüfung angewendeten Techniken.

Zusätzliche Hintergrundinformationen gibt Anhang F.

Während eine gesteigerte Flexibilität hinsichtlich der Befolgung des präzisen Protokolls es dem Untersucher ermöglicht, die Empfindlichkeit der Prüfung zu erhöhen, um sie den Anwendungsbedingungen und der Einwirkung auf die Prüfpopulation anzupassen, trägt die einheitliche Verfahrensdurchführung zur Vergleichbarkeit der Prüfergebnisse mit unterschiedlichen Materialien und aus unterschiedlichen Laboratorien bei.

In die Prüfverfahren zur Bewertung von Medizinprodukten und Materialien zur wiederholten und/oder Langzeitanwendung wurden besondere Maßnahmen eingearbeitet. Die Studie muss so geplant werden, dass der für die klinische Anwendung vorgesehene Kontakt (Dauer und/oder Konzentration) überhöht wird. Das muss bei der Beurteilung des Ergebnisses berücksichtigt werden.

Wenn der pH-Wert des Prüfmusters ≤ 2 oder $\geq 11,5$ ist, muss das Material als reizerzeugend angesehen werden, und eine weitere Prüfung ist nicht erforderlich. Die experimentellen Beweise weisen jedoch darauf hin, dass die Azidität oder Alkalität des Prüfmaterials nicht die einzigen Faktoren sind, die im Zusammenhang mit der Fähigkeit eines Materials zur Erzeugung schwerer Schäden in Betracht gezogen werden müssen. Die Konzentration des Prüfmaterials, seine Kontaktdauer und viele andere physikalische und chemische Eigenschaften sind ebenso wichtig.

In Ausnahmefällen, in denen eine weitere Risikocharakterisierung/-beurteilung notwendig ist, kann es erforderlich sein, Materialien zu prüfen, die entweder reizende Substanzen sind oder deren pH-Wert außerhalb des vorstehend angeführten Bereichs liegt. Diese Fälle sind zu begründen und zu dokumentieren.

6.3 Irritationsprüfung an der Haut

6.3.1 Kurzbeschreibung

Eine Beurteilung über die Fähigkeit des geprüften Materials, eine Irritation der Haut hervorzurufen, erfolgt in einem relevanten Tiermodell.

Das Kaninchen ist das bevorzugte Versuchstier.

6.3.2 Prüfmateri

Ist das Prüfmateri ein fester Stoff oder eine Flüssigkeit, ist es nach den Festlegungen in Anhang A vorzubereiten.

Die Empfindlichkeit des Versuchs muss nachgewiesen werden. Das kann durch Einbeziehen einer Positivkontrolle in den Versuch erfolgen. Die Verwendung einer Positivkontrolle zur Bestätigung der Empfindlichkeit ist jedoch nur gerechtfertigt, wenn das Prüflaboratorium innerhalb der vorangegangenen 6 Monate mit dem Prüfverfahren keine positiven Ergebnisse erhalten hat.

ANMERKUNG Eine geeignete Positivkontrolle ist Natriumlaurylsulfat (SLS).

6.3.3 Tiere und Haltung

Es sind drei gesunde junge erwachsene Albinokaninchen beiderlei Geschlechts aus einem einzigen Stamm, mit einem Gewicht nicht unter 2 kg, zu verwenden. Falls eine Irritation erwartet wird, muss in Erwägung gezogen werden, die Prüfung zunächst nur an einem Tier durchzuführen. Wenn keine deutlich ausgeprägte positive Reaktion [Punktwert höher als 2 für Erythem oder Ödem (siehe Tabelle 1)] beobachtet wird, sind mindestens zwei weitere Tiere zu prüfen. Falls die Reaktion bei Prüfung von mindestens drei Tieren doppeldeutig ist, muss eine zusätzliche Prüfung in Betracht gezogen werden.

Die Tiere müssen nach den Festlegungen in ISO 10993-2 eingewöhnt und gepflegt werden.

Tabelle 1 — Bewertungssystem für die Hautreaktionen

Reaktion	Irritations-Punktwert
Erythem- und Schorfbildung	
Kein Erythem	0
Sehr leichtes Erythem (kaum wahrnehmbar)	1
Gut ausgeprägtes Erythem	2
Mäßiges Erythem	3
Schweres Erythem (tiefrot, Farbe „Rote Rüben“) bis zu einer Schorfbildung, die die Beurteilung des Erythems verhindert	4
Ödembildung	
Kein Ödem	0
Sehr leichtes Ödem (kaum wahrnehmbar)	1
Gut ausgeprägtes Ödem (durch deutliche Erhabenheit gut ausgeprägte Ränder)	2
Mäßiges Ödem (etwa 1 mm erhöht)	3
Schweres Ödem (über 1 mm erhöht und über das Expositionsgebiet hinausgehend)	4
Möglicher Höchstpunktwert für die Irritation	8
Andere nachteilige Veränderungen an den Hautstellen müssen aufgezeichnet und im Prüfbericht angegeben werden.	

6.3.4 Prüfverfahren

6.3.4.1 Vorbereitung der Tiere

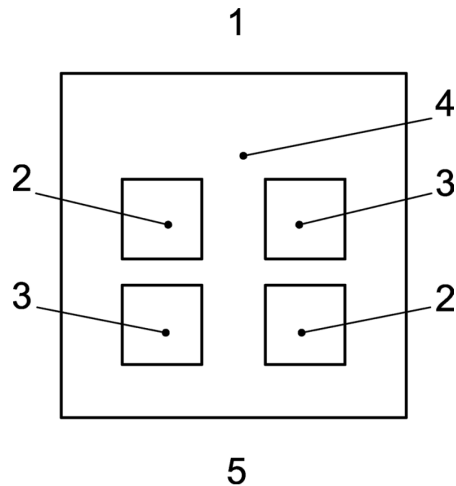
Der Zustand der Haut ist ein kritischer Faktor. Es sind nur Tiere mit gesunder unversehrter Haut zu verwenden. 24 h bis 4 h vor der Prüfung wird im Allgemeinen das Fell am Rücken der Tiere in genügendem Abstand beiderseits der Wirbelsäule zur Substanzaufbringung und Beobachtung an allen Prüfstellen kurz geschoren (Fläche von etwa 10 cm × 15 cm). Das Fell darf nachgeschnitten werden, um die Beobachtung zu erleichtern und/oder wiederholte Exposition zu ermöglichen. Geschultes Personal darf Enthaarungsmittel verwenden, sofern das Verfahren im Prüflabor validiert wurde. Bei Erfordernis einer wiederholten Exposition sind, bei Wiederholung über höchstens 21 Tage, die Arbeitsgänge nach 6.3.4.2.1, 6.3.4.2.2 oder 6.3.4.2.3 durchzuführen.

6.3.4.2 Aufbringen des Prüfmusters

6.3.4.2.1 Aufbringen eines pulverförmigen oder flüssigen Prüfmusters

Auf jede Prüfstelle der Haut sind, entsprechend Bild 1, 0,5 g oder 0,5 ml Prüfmaterial direkt aufzubringen. Für feste und hydrophobe Materialien besteht nicht die Notwendigkeit der Befeuchtung. Eine pulverförmige Substanz sollte vor der Aufbringung leicht mit Wasser oder einer anderen geeigneten Trägersubstanz angefeuchtet werden (siehe Anhang A).

Die Aufbringungsstellen sind mit einem nicht okklusiven Verband (z. B. einem Verbandmullläppchen) von 2,5 cm × 2,5 cm Größe zu bedecken, und die Applikationsstelle ist für mindestens 4 h mit einem (semi-okklusiven oder okklusiven) Verband zu umwickeln. Am Ende der Einwirkzeit werden die Verbände entfernt und die Lage der Stellen wird mit dauerhafter (wasserfester) Tinte markiert. Rückstände des Prüfmateri als sind mit geeigneten Mitteln zu entfernen, wie z. B. durch Waschen mit lauwarmem Wasser oder einem anderen geeigneten nicht reizenden Lösungsmittel, danach wird sorgfältig abgetrocknet.



Legende

- 1 kraniale Seite
- 2 Prüfstelle
- 3 Kontrollstelle
- 4 geschorener Bereich des Rückens
- 5 kaudale Seite

Bild 1 — Lage der Applikationsstellen auf der Haut

6.3.4.2.2 Aufbringen von Extrakten und Extraktionsflüssigkeiten

Der (Die) geeignete(n) Extrakt(e) ist (sind) auf die Verbandmullläppchen von 2,5 cm × 2,5 cm Größe aufzubringen. Ein ausreichendes Volumen, um den Mull zu tränken, ist zu verwenden, normalerweise 0,5 ml je Mullläppchen. Auf jede Seite des Tieres wird ein Läppchen entsprechend Bild 1 aufgelegt. Ein Kontrollläppchen aus Mull, das mit der Extraktionsflüssigkeit befeuchtet ist, wird wie in Bild 1 gezeigt aufgelegt.

Die Applikationsstellen sind für mindestens 4 h mit einem (semi-okklusiven oder okklusiven) Verband zu bedecken. Am Ende der Einwirkzeit werden die Verbände entfernt und die Lage der Stellen mit dauerhafter Tinte markiert. Rückstände des Prüfmateri als sind mit geeigneten Mitteln zu entfernen, wie z. B. durch Waschen mit lauwarmem Wasser oder einem anderen geeigneten nicht reizenden Lösungsmittel, danach wird sorgfältig abgetrocknet.

6.3.4.2.3 Aufbringen von festem Probenmaterial

Die Proben des Prüfmaterials werden direkt auf die Haut der beiden Körperseiten jedes Kaninchens entsprechend Bild 1 aufgebracht. Auf ähnliche Weise werden bei jedem Kaninchen die Kontrollproben aufgebracht. Bei Prüfung von Feststoffen (die pulverisiert werden können, wenn es für notwendig erachtet wird) muss das Prüfmaterial ausreichend mit Wasser oder erforderlichenfalls einem alternativen Lösungsmittel befeuchtet werden, um einen guten Kontakt mit der Haut sicherzustellen (siehe Anhang A). Bei Verwendung von Lösungsmitteln muss der Einfluss des Lösungsmittels auf die Hautreizung durch das Prüfmaterial berücksichtigt werden.

Die Applikationsstellen sind mit nicht okklusiven Verbänden (z. B. einem Mullläppchen) von 2,5 cm × 2,5 cm Größe zu bedecken, und die Applikationsstellen sind für mindestens 4 h mit einem (semi-okklusiven oder okklusiven) Verband zu umwickeln. Am Ende der Einwirkzeit werden die Verbände entfernt und die Lage der

Stellen wird mit dauerhafter Tinte markiert. Rückstände des Prüfmaterials sind mit geeigneten Mitteln zu entfernen, wie z. B. durch Waschen mit lauwarmem Wasser oder einem anderen geeigneten nicht reizenden Lösungsmittel, danach wird sorgfältig abgetrocknet.

6.3.5 Beobachtung der Tiere

6.3.5.1 Allgemeines

Die Verwendung von natürlichem oder vollspektralem Licht wird stark empfohlen, um Hautreaktionen sichtbar zu machen. Die Hautreaktionen hinsichtlich Erythem und Ödem sind nach dem in Tabelle 1 angegebenen Bewertungssystem zu beschreiben und einzustufen; dies erfolgt für jede Applikationsstelle und jeden Zeitabstand der Untersuchung, die Ergebnisse sind für den Prüfbericht aufzuzeichnen.

ANMERKUNG In bestimmten Fällen können histologische oder nicht invasive Untersuchungstechniken zur Bewertung der Hautreaktion(en) zur Unterstützung herangezogen werden.

6.3.5.2 Prüfung mit einfacher Exposition

Bei Prüfungen mit einfacher Exposition wird das Erscheinungsbild jeder Applikationsstelle ($1 \pm 0,1$) h, (24 ± 2) h, (48 ± 2) h und (72 ± 2) h nach Entfernung der Lappchen aufgezeichnet. Eine weiter ausgedehnte Beobachtung über einen Zeitraum, der 14 Tage nicht überschreiten darf, kann im Falle bleibender Hautschäden erforderlich sein, um die Reversibilität oder Irreversibilität der Schäden zu beurteilen.

6.3.5.3 Prüfung mit wiederholter Exposition

Eine wiederholte Exposition darf nur nach dem Abschluss einer Prüfung mit einmaliger akuter Exposition durchgeführt werden [nach mindestens (72 ± 2) h Beobachtungszeit].

Bei Prüfungen mit wiederholter Exposition wird das Erscheinungsbild der Applikationsstelle ($1 \pm 0,1$) h nach Entfernung der Lappchen und unmittelbar vor der nächsten Substanzaufbringung aufgezeichnet. Die Anzahl der Expositionen kann unterschiedlich sein.

Nach dem letzten Versuch wird das Erscheinungsbild jeder Applikationsstelle ($1 \pm 0,1$) h, (24 ± 2) h, (48 ± 2) h und (72 ± 2) h nach Entfernung der Lappchen aufgezeichnet. Eine weiter ausgedehnte Beobachtung kann im Falle bleibender Hautschäden erforderlich sein, um die Reversibilität oder Irreversibilität der Schäden zu beurteilen. Dies darf einen Zeitraum von 14 Tagen nicht überschreiten.

6.3.6 Beurteilung der Ergebnisse

Für Prüfungen mit einmaliger Exposition wird der Primäre Irritationsindex (PII) wie folgt bestimmt.

Zur Berechnung werden nur die Beobachtungen nach (24 ± 2) h, (48 ± 2) h und (72 ± 2) h verwendet. Beobachtungen vor der Substanzaufbringung oder später als 72 h zur Überwachung eines Heilungsprozesses werden nicht für die Bestimmung verwendet.

Nach der Bewertung über einen Zeitraum von 72 h werden sämtliche Punktwerte für Erythem- und Ödem-bildung nach (24 ± 2) h, (48 ± 2) h und (72 ± 2) h getrennt für jedes Prüfmuster und jede Blindprobe für jedes Tier addiert. Der Primäre Irritations-Punktwert für ein Tier wird berechnet, indem die Summe aller Punktwerte durch 6 dividiert wird (2 Prüf-/Beobachtungsstellen, 3 Zeitpunkte).

Um den Primären Irritationsindex für das Prüfmuster zu erhalten, werden sämtliche Primären Irritations-Punktwerte der einzelnen Tiere addiert und durch die Anzahl der Tiere dividiert (im Allgemeinen 3).

Werden Blindproben oder Negativkontrollen verwendet, ist der Primäre Irritations-Punktwert für die Kontrollen zu berechnen und dieser Punktwert ist von dem Punktwert des Prüfmaterials abzuziehen, um den Primären Irritations-Punktwert zu erhalten.

Bei Versuchen mit mehrfacher Exposition muss der Primäre Irritationspunktwert für jedes Tier unter Berücksichtigung sämtlicher Bewertungspunkte nach dem vorstehend angeführten Prinzip berechnet werden. Bei mehrfacher Exposition wird der Kumulative Irritationsindex wie folgt bestimmt.

Die Irritations-Punktwerte sämtlicher Tiere werden addiert, und die Summe wird durch die Gesamtzahl der Tiere dividiert. Dieser Wert ist der Kumulative Irritationsindex.

Der Kumulative Irritationsindex wird mit den in Tabelle 2 angeführten Kategorien für die Irritationsreaktion verglichen, und die entsprechende Reaktionskategorie wird im Prüfbericht angegeben.

ANMERKUNG Grundlage der Kategorien für den Kumulativen Irritationsindex sind die Daten, die den Primären Irritationsindex (PII) für Chemikalien bei Kaninchen mit der primären Irritationsreaktion beim Menschen in Beziehung setzen; dies bezieht sich auf eine Anzahl chemischer Substanzen, die bei beiden Arten geprüft wurden.

Für jede Reaktion sind der maximale Primäre Irritations-Punktwert aus Tabelle 1 für jedes Tier, der Zeitpunkt des Einsetzens der Reaktion und die Dauer bis zur maximalen Reaktion aufzuzeichnen.

Der Primäre bzw. der Kumulative Irritationsindex wird durch eine in Tabelle 2 angeführte Zahl (Punktwert) und Beschreibung (Reaktionskategorie) charakterisiert. Bei Prüfung unterschiedlicher Extrakte bestimmt der Extrakt mit dem höchsten PII die Reaktionskategorie.

Tabelle 2 — Kategorien von Primären oder Kumulativen Irritationsindex beim Kaninchen

Mittlerer Punktwert	Reaktionskategorie
0 bis 0,4	Vernachlässigbar
0,5 bis 1,9	Leicht
2 bis 4,9	Mäßig
5 bis 8	Schwer

6.3.7 Prüfbericht

Der Prüfbericht muss enthalten:

- a) eine Beschreibung des Prüfmaterials (der Prüfmaterialien) oder Produkts;
- b) den Verwendungszweck des Prüfmaterials (der Prüfmaterialien) oder des Produkts;
- c) eine detaillierte Beschreibung des zur Vorbereitung des Prüfmusters oder -materials angewandten Verfahrens;
- d) eine Beschreibung der Versuchstiere;
- e) das Verfahren der Aufbringung auf die Prüfstellen und Typ des (semi-okklusiven oder okklusiven) Verbandmaterials;
- f) die Art und Weise der Markierung der Prüfstellen und der Durchführung der Befundablesungen;
- g) eine Aufzeichnung der Beobachtungen;
- h) die Anzahl der Expositionen und die Abstände zwischen diesen, wenn wiederholte Expositionen durchgeführt wurden;
- i) eine Beurteilung der Ergebnisse.

6.4 Prüfung auf intrakutane (intradermale) Reaktivität bei Tieren

6.4.1 Einleitung

Bei Medizinprodukten, die als Implantat verwendet werden, ist die Anwendung einer Prüfung auf intrakutane (intradermale) Reaktivität angezeigt. Es erfolgt eine Beurteilung der Fähigkeit des geprüften Materials, eine Irritation nach intrakutaner Injektion der Extrakte der Materialien hervorzurufen.

6.4.2 Ausschluss von der Prüfung

Jedes Material, das eine Irritation der Haut, des Auges oder des Schleimhautgewebes hervorruft oder das einen pH-Wert von ≤ 2 oder $\geq 11,5$ aufweist, darf nicht intrakutan geprüft werden. In Ausnahmefällen, in denen eine weitere Risikocharakterisierung/-beurteilung notwendig ist, kann es erforderlich sein, Materialien zu prüfen, die entweder reizende Substanzen sind oder deren pH-Wert außerhalb des vorstehend angeführten Bereichs liegt. Diese Fälle sind zu begründen und zu dokumentieren.

6.4.3 Prüfmuster

Das Prüfmuster ist in Form eines Extrakts zu prüfen, das nach den Festlegungen in Anhang A hergestellt wurde. Da es auf jedem Tier mehrere Prüfstellen gibt, können verschiedene Prüfmuster gleichzeitig mit den entsprechenden Negativkontrollen oder Blindproben geprüft werden.

6.4.4 Tiere und Haltung

Es sind gesunde junge erwachsene Albinokaninchen beiderlei Geschlechts aus einem einzigen Stamm, mit einem Gewicht nicht unter 2 kg, zu verwenden. Die Tiere müssen nach den Festlegungen in ISO 10993-2 eingewöhnt und gepflegt werden. Zunächst müssen mindestens drei Tiere zur Beurteilung des Prüfmaterials verwendet werden. Falls eine Irritation erwartet wird, muss in Erwägung gezogen werden, die Prüfung zunächst nur an einem Tier durchzuführen. Wenn keine deutlich ausgeprägte positive Reaktion [Punktwert höher als 2 für Erythem oder Ödem (siehe Tabelle 1)] beobachtet wird, sind mindestens zwei weitere Tiere zu prüfen. Bei doppeldeutiger Reaktion bei der Prüfung an mindestens drei Tieren ist eine zusätzliche Prüfung in Betracht zu ziehen.

6.4.5 Prüfverfahren

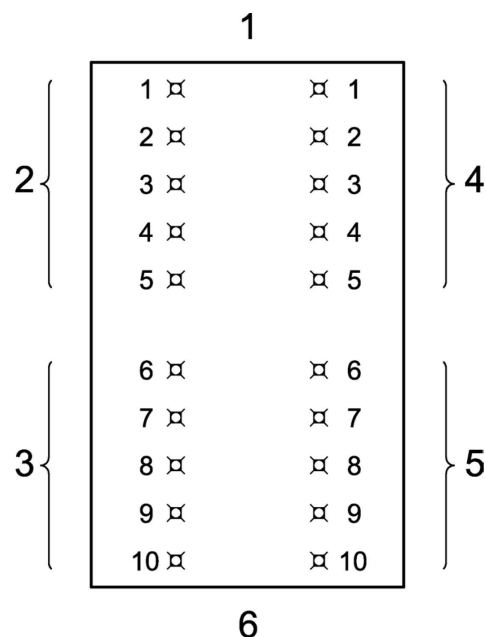
4 h bis 18 h vor der Prüfung wird das Fell am Rücken der Tiere kurzgeschoren, so dass ein genügender Abstand beiderseits der Wirbelsäule zur Injektion der Extrakte zur Verfügung steht.

Je 0,2 ml des mit dem polaren oder nicht-polaren Lösungsmittel gewonnenen Extrakts werden intrakutan an fünf Stellen an einer Seite jedes Kaninchens injiziert. Die kleinste für die Viskosität des Prüfmaterials geeignete Kanüle ist für die intrakutanen Injektionen zu verwenden.

Ein Beispiel zur Anordnung der Injektionsstellen ist in Bild 2 angegeben.

Auf ähnliche Weise werden je 0,2 ml des polaren Lösungsmittels (Kontrollreagens) an fünf Stellen des Rückens auf der gleichen Seite jedes Kaninchens (als Beispiel siehe Bild 2) injiziert.

Falls andere Lösungsmittel verwendet werden, werden die vorstehend genannten Arbeitsschritte mit dem mittels des anderen Lösungsmittels gewonnenen Extrakt und den Lösungsmittelkontrollen wiederholt.



Legende

- 1 kraniale Seite
- 2 Injektionen von je 0,2 ml des polaren Extrakts
- 3 Injektionen von je 0,2 ml des nicht-polaren Extrakts
- 4 Injektionen von je 0,2 ml des polaren Kontrollreagens
- 5 Injektionen von je 0,2 ml des nicht-polaren Kontrollreagens
- 6 kaudale Seite

Bild 2 — Anordnung der Injektionsstellen

6.4.6 Beobachtung der Tiere

Das Erscheinungsbild jeder Injektionsstelle ist unmittelbar nach der Injektion sowie (24 ± 2) h, (48 ± 2) h und (72 ± 2) h danach zu vermerken.

Die Gewebsreaktion hinsichtlich Erythem und Ödem wird nach dem in Tabelle 3 angegebenen Gradeinteilungssystem für jede Injektionsstelle und jeden Zeitabstand der Untersuchung eingestuft, und die Ergebnisse werden aufgezeichnet.

ANMERKUNG Die intrakutane Injektion einer öligen Substanz ruft häufig eine entzündliche Reaktion hervor.

Die intravenöse Injektion eines geeigneten Vitalfarbstoffs wie Trypanblau oder Evans-Blau kann bei der (72 ± 2) -h-Ablesung erfolgen, um durch Abgrenzung des Irritationsgebiets die Auswertung der Reaktion zu unterstützen.

Falls verfügbar, können nicht invasive Untersuchungstechniken zur Unterstützung herangezogen werden.

Tabelle 3 — Gradeinteilungssystem für intrakutane (intradermale) Reaktionen

Reaktion	Numerische Gradeinteilung
Erythem- und Schorfbildung	
Kein Erythem	0
Sehr leichtes Erythem (kaum wahrnehmbar)	1
Gut ausgeprägtes Erythem	2
Mäßiges Erythem	3
Schweres Erythem (tiefrot, Farbe „Rote Rüben“) bis zu einer Schorfbildung, die die Beurteilung des Erythems verhindert	4
Ödembildung	
Kein Ödem	0
Sehr leichtes Ödem (kaum wahrnehmbar)	1
Gut ausgeprägtes Ödem (durch deutliche Erhabenheit gut ausgeprägte Ränder)	2
Mäßiges Ödem (etwa 1 mm erhöht)	3
Schweres Ödem (über 1 mm erhöht und über das Expositionsgebiet hinausgehend)	4
Möglicher Höchstpunktwert für die Irritation	8
Andere nachteilige Veränderungen an den Injektionsstellen müssen aufgezeichnet und im Prüfbericht angegeben werden.	

6.4.7 Beurteilung der Ergebnisse

Nach der Gradeinteilung nach (72 ± 2) h werden alle Erythem-Punktwerte und alle Ödem-Punktwerte nach (24 ± 2) h, (48 ± 2) h und (72 ± 2) h, getrennt für jedes Prüfmuster und die Blindprobe, für jedes individuelle Tier summiert. Um den Gesamtpunktwert des Prüfmusters oder der Blindprobe für jedes individuelle Tier zu berechnen, dividiere jede der Summen durch 15 (3 Bewertungszeitpunkte $\times$ 5 Injektionsstellen des Prüf- oder Blindprobenmusters). Um den mittleren Gesamtpunktwert für jedes Prüfmuster und jede korrespondierende Blindprobe zu bestimmen, werden die Punktwerte für die drei Tiere summiert und durch drei dividiert. Der abschließende Punktwert des Prüfmusters kann erhalten werden, indem der Punktwert der Blindprobe vom Punktwert des Prüfmusters subtrahiert wird. Die Anforderungen der Prüfung sind erfüllt, wenn der endgültige Punktwert des Prüfmusters 1,0 oder weniger beträgt. Wenn es zu einem beliebigen Beobachtungszeitpunkt unklar ist, ob die mittlere Reaktion auf die Untersuchungsprobe größer ist als die mittlere Reaktion auf die Blindprobe, ist die Prüfung an drei zusätzlichen Kaninchen zu wiederholen. Die Anforderungen der Prüfung sind erfüllt, wenn der endgültige Punktwert des Prüfmusters 1,0 oder weniger beträgt.

ANMERKUNG Das Blindprobenkontrollmuster ist entweder ein polares oder nicht-polares Kontrollreagens wie in Bild 2 angeführt.

6.4.8 Prüfbericht

Der Prüfbericht muss enthalten:

- eine Beschreibung des Prüfmateri als (der Prüfmateri als) oder Produkts;
- den Verwendungszweck des Prüfmateri als (der Prüfmateri als) oder des Produkts;
- eine detaillierte Beschreibung des zur Vorbereitung der Prüfmuster angewandten Verfahrens;
- eine Beschreibung der Versuchstiere;
- das Injektionsverfahren;
- die Art und Weise der Durchführung der Befundablesungen;
- eine Aufzeichnung der Beobachtungen;
- eine Beurteilung der Ergebnisse.