

DIN EN ISO 10993-10

ICS 11.100.20

Ersatz für
DIN EN ISO 10993-10:2014-10**Biologische Beurteilung von Medizinprodukten –
Teil 10: Prüfungen auf Hautsensibilisierung (ISO 10993-10:2021);
Deutsche Fassung EN ISO 10993-10:2023**

Biological evaluation of medical devices –
Part 10: Tests for skin sensitization (ISO 10993-10:2021);
German version EN ISO 10993-10:2023

Évaluation biologique des dispositifs médicaux –
Partie 10: Essais de sensibilisation cutanée (ISO 10993-10:2021);
Version allemande EN ISO 10993-10:2023

Gesamtumfang 67 Seiten

DIN-Normenausschuss Feinmechanik und Optik (NAFuO)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 10993-10:2023) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 194 „Biological and clinical evaluation of medical devices“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 206 „Biologische und klinische Beurteilung von Medizinprodukten“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 027-07-12 AA „Biologische Beurteilung von Medizinprodukten“ im DIN-Normenausschuss Feinmechanik und Optik (NAFuO).

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 10993-1	siehe	DIN EN ISO 10993-1
ISO 10993-2	siehe	DIN EN ISO 10993-2
ISO 10993-5	siehe	DIN EN ISO 10993-5
ISO 10993-12	siehe	DIN EN ISO 10993-12
ISO 10993-18	siehe	DIN EN ISO 10993-18
ISO/IEC 17025	siehe	DIN EN ISO/IEC 17025

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 10993-10:2014-10 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) das Dokument enthält jetzt nur eine Beschreibung der Prüfungen zur Hautsensibilisierung;
- b) Anhang C über alternative Prüfverfahren für die Hautsensibilisierung wurde aktualisiert;
- c) die Prüfung auf Irritation ist nun in ISO 10993-23 beschrieben;
- d) der informative Anhang ZA über den Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Sicherheits- und Leistungsanforderungen der abzudeckenden Verordnung [EU] 2017/745 wurde hinzugefügt.

Frühere Ausgaben

DIN EN ISO 10993-10: 1996-02, 2003-02, 2007-06, 2009-08, 2010-12, 2014-10

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 10993-5, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 5: Prüfungen auf In-vitro-Zytotoxizität*

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

DIN EN ISO 10993-18, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 18: Chemische Charakterisierung von Werkstoffen für Medizinprodukte im Rahmen eines Risikomanagementsystems*

DIN EN ISO/IEC 17025, *Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien*

– Leerseite –

Deutsche Fassung

Biologische Beurteilung von Medizinprodukten —
Teil 10: Prüfungen auf Hautsensibilisierung
(ISO 10993-10:2021)

Biological evaluation of medical devices —
Part 10: Tests for skin sensitization
(ISO 10993-10:2021)

Évaluation biologique des dispositifs médicaux —
Partie 10: Essais de sensibilisation cutanée
(ISO 10993-10:2021)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 13. September 2021 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 CEN-CENELEC-Management-Zentrum 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, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, 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: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	5
Anhang ZA (informativ) Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Sicherheits- und Leistungsanforderungen der abzudeckenden Verordnung (EU) 2017/745	6
Vorwort	9
Einleitung	10
1 Anwendungsbereich	11
2 Normative Verweisungen	11
3 Begriffe	11
4 Allgemeine Grundsätze — Stufenweises Vorgehen	13
5 Überlegungen vor der Prüfung	14
5.1 Allgemeines	14
5.2 Arten von Materialien	14
5.2.1 Erste Überlegungen	14
5.2.2 Keramik, Metalle und Legierungen	14
5.2.3 Polymere	14
5.2.4 Materialien biologischer Herkunft	14
5.3 Informationen über die chemische Zusammensetzung	15
5.3.1 Allgemeines	15
5.3.2 Vorhandene Datenquellen	15
6 Prüfungen auf Hautsensibilisierung	15
6.1 Auswahl von Prüfverfahren	15
6.2 Lokaler Lymphknotentest an der Maus	16
6.2.1 Kurzbeschreibung	16
6.2.2 Vorbereitung der Prüfmuster	16
6.2.3 Tiere und Haltung	17
6.2.4 Prüfverfahren	17
6.2.5 Behandlungsgruppen	18
6.2.6 Bestimmung der Zellproliferation und Gewebevorbereitung	19
6.2.7 Ergebnisse und Auswertung	19
6.2.8 Prüfbericht	20
6.3 Versuche am Meerschweinchen zum Nachweis von Hautsensibilisierung	20
6.3.1 Kurzbeschreibung	20
6.3.2 Wahl der Konzentrationen des Prüfmusters	20
6.3.3 Induktion	20
6.3.4 Provokation	21
6.4 Wichtige Faktoren, die das Prüfergebnis beeinflussen	21
6.5 Maximierungstest am Meerschweinchen	22
6.5.1 Kurzbeschreibung	22
6.5.2 Vorbereitung der Prüfmuster	22
6.5.3 Tiere und Haltung	22
6.5.4 Prüfverfahren	22
6.5.5 Beobachtung der Tiere	25
6.5.6 Auswertung der Ergebnisse	26
6.5.7 Prüfbericht	26
6.6 Prüfung mit Okklusivläppchen (Bühler-Test)	26
6.6.1 Kurzbeschreibung	26
6.6.2 Vorbereitung der Prüfmuster	26
6.6.3 Tiere und Haltung	27
6.6.4 Prüfverfahren	27
6.6.5 Beobachtung der Tiere	28

6.6.6 Auswertung der Ergebnisse 28

6.6.7 Prüfbericht 29

7 Schlüsselfaktoren bei der Auswertung von Prüfergebnissen 29

Anhang A (normativ) Vorbereitung von Materialien zur Prüfung auf Hautsensibilisierung 30

A.1 Allgemeines 30

A.2 Materialien für Exposition im direkten Kontakt 30

A.2.1 Feste Prüfmateri­alien 30

A.2.2 Flüssige Prüfmateri­alien 30

A.3 Extrakte von Prüfmateri­alien 30

A.4 Lösemittel 31

A.5 Sterile Prüfmateri­alien 31

Anhang B (informativ) Verfahren zur Herstellung von Extrakten aus polymeren Prüfmateri­alien 32

B.1 Allgemeines 32

B.2 Herstellungsverfahren 32

B.2.1 Vorextraktion 32

B.2.2 Endextraktion 32

B.3 Maximierungstest am Meerschweinchen 34

B.3.1 Allgemeines 34

B.3.2 Provokationsphase 34

Anhang C (informativ) Tierversuchsfreie Verfahren der Prüfung auf Hautsensibilisierung 35

C.1 Einleitung 35

C.1.1 Hintergrund zu alternativen Verfahren der Prüfung auf Hautsensibilisierung 35

C.1.2 Adverse outcome pathway der OECD in Bezug auf die Hautsensibilisierung 35

C.1.3 Integrierte Prüfungs- und Bewertungsansätze 36

C.2 In-vitro-Versuche für die Prüfung auf Hautsensibilisierung 38

C.2.1 Allgemeines 38

C.2.2 Prüfverfahren 38

C.3 Diskussion 48

C.3.1 Von der OECD validierte Tests 48

C.3.2 Genomische Versuche 49

C.3.3 Andere Versuche 49

C.3.4 Allgemeine Betrachtungen zur Validierung von In-vitro-Verfahren für die Prüfung von Medizinprodukten 49

C.4 Schlussfolgerungen 50

Anhang D (informativ) Hintergrundinformation zu Sensibilisierungsprüfungen auf Hautsensibilisierung 51

Literaturhinweise 54

Bilder

Bild 1 — Lage der intrakutanen Injektionsstellen 24

Tabellen

Tabelle ZA.1 — Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und Anhang I der Verordnung (EU) 2017/745 [Abl. L 117] und zu System- bzw. Prozessanforderungen, einschließlich derjenigen, die sich auf Qualitätsmanagementsysteme, Risikomanagement, Systeme zur Überwachung nach dem Inverkehrbringen, klinische Prüfungen, die klinische Bewertung oder die klinische Nachbeobachtung nach dem Inverkehrbringen beziehen 7

Tabelle ZA.2 — Anwendbare Normen, die die Konformitätsvermutung, wie in diesem Anhang ZA beschrieben, zu begründen 8

Tabelle 1 — Skala nach Magnusson und Kligman 23

Tabelle C.1 — Fallstudien des OECD-Richtliniendokuments 256:2017, Anhang I [124] 37

Tabelle C.2 — DPRA	38
Tabelle C.3 — KeratinoSens™	39
Tabelle C.4 — LuSens	40
Tabelle C.5 — SENS-IS	41
Tabelle C.6 — IL-18-RhE-Test	42
Tabelle C.7 — EpiSensA	42
Tabelle C.8 — SenCeeTox®	43
Tabelle C.9 — h-CLAT	44
Tabelle C.10 — U-SENS™	45
Tabelle C.11 — IL-8-Luc-Test	46
Tabelle C.12 — GARD™	47

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 10993-10:2023) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 194 „Biological and clinical evaluation of medical devices“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 206 „Biologische und klinische Beurteilung von Medizinprodukten“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis August 2023 und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis August 2023 und zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Dieses Dokument wird EN ISO 10993-10:2010 ersetzen.

Dieses Dokument wurde im Rahmen eines Normungsauftrags erarbeitet, den die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelsassoziation CEN erteilt haben, und unterstützt grundlegende Anforderungen der EU-Richtlinien.

Zum Zusammenhang mit EU-Verordnung/Richtlinien siehe informativen Anhang ZA, der Bestandteil dieses Dokuments ist.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

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

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 10993-10:2021 wurde von CEN als EN ISO 10993-10:2023 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Anhang ZA (informativ)

Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Sicherheits- und Leistungsanforderungen der abzudeckenden Verordnung (EU) 2017/745

Diese Europäische Norm wurde im Rahmen des von der Europäischen Kommission erteilten Normungsauftrages M/575 erarbeitet, um ein freiwilliges Mittel zur Erfüllung der grundlegenden Sicherheits- und Leistungsanforderungen der Verordnung (EU) 2017/745 vom 5. April 2017 über Medizinprodukte [Abl. L 117] und der System- bzw. Prozessanforderungen, einschließlich derjenigen, die sich auf Qualitätsmanagementsysteme, Risikomanagement, Systeme zur Überwachung nach dem Inverkehrbringen, klinische Prüfungen, die klinische Bewertung oder die klinische Nachbeobachtung nach dem Inverkehrbringen beziehen, bereitzustellen.

Sobald diese Norm im Amtsblatt der Europäischen Union im Sinne dieser Verordnung in Bezug genommen worden ist, berechtigt die Übereinstimmung mit den in Tabelle ZA.1 aufgeführten normativen Abschnitten dieser Norm und die Anwendung der Ausgabe der normativ in Bezug genommenen Normen in Tabelle ZA.2 innerhalb der Grenzen des Anwendungsbereiches dieser Norm zur Vermutung der Konformität mit den entsprechenden grundlegenden Sicherheits- und Leistungsanforderungen dieser Verordnung und der zugehörigen EFTA-Vorschriften.

Sofern eine Definition in dieser Norm von einer Definition desselben Begriffs in der Verordnung (EU) 2017/745 abweicht, müssen die Unterschiede im vorliegenden Anhang Z angegeben werden. Wird diese Norm zur Unterstützung der in der Verordnung (EU) 2017/745 festgelegten Anforderungen verwendet, haben die Definitionen in der vorgenannten Verordnung Vorrang.

Handelt es sich bei der Europäischen Norm um eine Übernahme einer Internationalen Norm, kann der Anwendungsbereich dieser Norm vom Anwendungsbereich der Europäischen Verordnung, die sie unterstützt, abweichen. Da der Anwendungsbereich der anwendbaren regulatorischen Anforderungen von Land zu Land und von Region zu Region unterschiedlich ist, kann die Norm die europäischen regulatorischen Anforderungen nur in dem Umfang des Anwendungsbereichs der Verordnung (EU) 2017/745 über Medizinprodukte unterstützen.

ANMERKUNG 1 Wenn in einem Abschnitt dieser Norm auf den Risikomanagement-Prozess Bezug genommen wird, muss der Risikomanagement-Prozess in Übereinstimmung mit der Verordnung (EU) 2017/745 stehen. Dies bedeutet, dass, gemäß dem Wortlaut der entsprechenden grundlegenden Sicherheits- und Leistungsanforderung, Risiken „so weit wie möglich verringert“, „auf das niedrigstmögliche Maß verringert“, „so weit wie möglich und angemessen verringert“, „beseitigt oder so weit wie möglich verringert“, „eliminiert oder so weit wie möglich verringert“ „beseitigt oder so weit wie möglich minimiert“ oder „minimiert“ werden müssen.

ANMERKUNG 2 Die Politik des Herstellers zur Festlegung des **akzeptablen Risikos** muss in Übereinstimmung mit den grundlegenden Sicherheits- und Leistungsanforderungen 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21 und 22 der Richtlinie stehen.

ANMERKUNG 3 Wenn eine grundlegende Sicherheits- und Leistungsanforderung nicht in der Tabelle ZA.1 erscheint, bedeutet dies, dass sie nicht in dieser Europäischen Norm abgedeckt ist.

Tabelle ZA.1 — Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und Anhang I der Verordnung (EU) 2017/745 [Abl. L 117] und zu System- bzw. Prozessanforderungen, einschließlich derjenigen, die sich auf Qualitätsmanagementsysteme, Risikomanagement, Systeme zur Überwachung nach dem Inverkehrbringen, klinische Prüfungen, die klinische Bewertung oder die klinische Nachbeobachtung nach dem Inverkehrbringen beziehen

Allgemeine Sicherheits- und Leistungsanforderungen der Richtlinie 2017/745/EG	Abschnitt(e)/Unterabschnitt(e) dieser EN	Erläuterungen/Anmerkungen
10.1 [(a) und (b)]	4, 5, 6 und 7	ER 10.1 [(a) und (b)] wird nur teilweise von diesem Dokument abgedeckt, da die Norm keine Anforderungen an Auslegung und Herstellung enthält. Allerdings liefert diese Norm ein Hilfsmittel, um die Hautsensibilisierung durch Substanzen zu beurteilen, die bei der Herstellung von Medizinprodukten verwendet werden. Andere Formen der Toxizität und die Entflammbarkeit werden nicht abgedeckt.
10.2	4, 5, 6 und 7	ER 10.2 wird nur teilweise von diesem Dokument abgedeckt, da die Norm keine Anforderungen an Auslegung, Herstellung und Verpackung enthält. Allerdings liefert diese Norm ein Hilfsmittel, um die Hautsensibilisierung durch Schadstoffe und Rückstände in Medizinprodukten zu beurteilen.
10.4.1 (erster Absatz)	4, 5, 6 und 7	ER 10.4.1 (erster Absatz) wird nur teilweise von diesem Dokument abgedeckt, da die Norm keine Anforderungen an Auslegung und Herstellung enthält. Allerdings liefert diese Norm ein Hilfsmittel, um die Hautsensibilisierung durch Substanzen zu beurteilen, die aus Medizinprodukten austreten. Andere Formen der Toxizität werden nicht abgedeckt.

ANMERKUNG Dieser Teil von EN ISO 10993 bezieht sich auf ISO 10993-1, die wiederum auf ISO 14971 verweist. In Europa sollte davon ausgegangen werden, dass sich die Verweisung auf ISO 14971 auf EN ISO 14971:2020 bezieht.

Allgemeine Anmerkung: Die Konformitätsvermutung hängt davon ab, dass auch einschlägige Teile der Normenreihe ISO 10993 eingehalten werden.

Tabelle ZA.2 — Anwendbare Normen, die die Konformitätsvermutung, wie in diesem Anhang ZA beschrieben, zu begründen

Spalte 1 Verweisung in Abschnitt 2	Spalte 2 Ausgabe Internationale Norm	Spalte 3 Titel	Spalte 4 Entsprechende Ausgabe der Europäischen Norm
ISO 10993-1	ISO 10993-1:2018	<i>Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing within a risk management process</i>	EN ISO 10993-1:2020
ISO 10993-2	ISO 10993-2:2006	<i>Biological evaluation of medical devices — Part 2: Animal welfare requirements</i>	EN ISO 10993-2:2006
ISO 10993-12	ISO 10993-12:2021	<i>Biological evaluation of medical devices – Part 12: Sample preparation and reference materials</i>	EN ISO 10993-12:2021
ISO 10993-18	ISO 10993-18:2020	<i>Biological evaluation of medical devices – Part 18: Chemical characterization of medical device materials within a risk management process</i>	EN ISO 10993-18:2020

Die in Spalte 1 der Tabelle ZA.2 aufgeführten Dokumente werden in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes normativ zitiert, d. h. sie sind für seine Anwendung erforderlich. Das Erreichen der Konformitätsvermutung unterliegt der Anwendung der in Spalte 4 aufgeführten Normenausgabe oder, wenn keine Europäische Norm existiert, der in Spalte 2 der Tabelle ZA.2 angegebenen Ausgabe der Internationalen Norm.

WARNHINWEIS 1 — Die Konformitätsvermutung bleibt nur bestehen, so lange die Fundstelle dieser Europäischen Norm in der im Amtsblatt der Europäischen Union veröffentlichten Liste erhalten bleibt. Anwender dieser Norm sollten regelmäßig die im Amtsblatt der Europäischen Union zuletzt veröffentlichte Liste einsehen.

WARNHINWEIS 2 — Für Produkte, die in den Anwendungsbereich dieser Norm fallen, können weitere Rechtsvorschriften der EU anwendbar sein.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumententypen beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Eine Erläuterung zum freiwilligen Charakter von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT) berücksichtigt, enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 194, *Biological and clinical evaluation of medical devices*, in Zusammenarbeit mit dem Europäischen Komitee für Normung (CEN), Technisches Komitee CEN/TC 206, *Biologische und klinische Beurteilung von Medizinprodukten*, in Übereinstimmung mit der Vereinbarung zur technischen Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Diese vierte Ausgabe ersetzt die dritte Ausgabe (ISO 10993-10:2010), die technisch überarbeitet wurde.

Die wesentlichen Änderungen im Vergleich zur Vorgängerausgabe sind folgende:

- dieses Dokument enthält jetzt nur noch eine Beschreibung von Hautsensibilisierungsprüfungen;
- Anhang C zu tierversuchsfreien Verfahren der Prüfung auf Hautsensibilisierung (vorher Anhang D) wurde aktualisiert;
- die Prüfung auf Irritation ist jetzt in ISO 10993-23 beschrieben.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 10993 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

Einleitung

Dieses Dokument dient zur Einschätzung möglicher Gefährdungen durch den Kontakt mit aus Medizinprodukten austretenden chemischen Substanzen, die eine Hautsensibilisierung hervorrufen können.

Einige in Medizinprodukten verwendete Materialien sind überprüft worden, und ihr Sensibilisierungspotential für Haut wurde dokumentiert. Insbesondere für Dentalwerkstoffe wurden sensibilisierende Eigenschaften angegeben — siehe Literaturhinweis [51]. Andere Materialien und ihre chemischen Bestandteile sind nicht geprüft worden und können bei Kontakt mit menschlichem Gewebe nachteilige Wirkungen hervorrufen. Der Hersteller ist daher verpflichtet, jedes Produkt vor der Marktfreigabe hinsichtlich seiner möglichen nachteiligen Wirkungen (Nebenwirkungen) zu beurteilen.

Traditionell werden Versuche an Kleintieren als Hilfsmittel zur Vorhersagbarkeit der Reaktion des Menschen durchgeführt, bevor am Menschen geprüft wird (Hintergrundinformationen sind in Anhang D angeführt). Seit 2015 wurden mehrere *In-chemico*- und *In-vitro*-Prüfungen validiert und Prüfrichtlinien der Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD, en: organization for economic co-operation and development) veröffentlicht, um das Hautsensibilisierungspotential von Chemikalien zu beurteilen [75], [79], [104]. Ein Überblick über verfügbare alternative Hautsensibilisierungsprüfungen für reine Chemikalien ist in Anhang C angeführt. Diese Prüfverfahren, die jeweils zur Behandlung eines bestimmten Schlüsselvorgangs entwickelt wurden, reichen möglicherweise allein nicht aus, um auf das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein eines Hautsensibilisierungspotentials von Chemikalien zu schließen, und sollten im Rahmen integrierter Ansätze, wie z. B. integrierte Prüfungs- und Bewertungsansätze (IATA, en: integrated approaches to testing and assessment), betrachtet werden, wobei diese mit anderen ergänzenden Informationen kombiniert werden. Es ist zu beachten, dass die *In-vitro*- und *In-chemico*-Prüfungen auf Hautsensibilisierung (in Anhang C) bisher nur für reine Chemikalien und nicht für Medizinprodukte validiert wurden. Um zu bestätigen, dass diese für die Prüfung des Hautsensibilisierungspotentials von Medizinprodukten geeignet sind, müssen deren Tests bewertet und validiert werden.

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 dieses Dokument ein stufenweises Vorgehen mit Überprüfung und Analyse der Prüfergebnisse in jedem Versuchsstadium auf. Es ist beabsichtigt, dass für die Einreichung von Zulassungsanträgen Hautsensibilisierungsstudien unter Anwendung von GLP oder ISO/IEC 17025 durchgeführt werden, soweit für das jeweilige Land zutreffend und die Vorschriften in Bezug auf den Tierschutz eingehalten werden. Statistische Datenanalysen werden empfohlen und, wann immer dies angebracht ist, verwendet. Dieses Dokument enthält wichtige Instrumente für die Entwicklung sicherer Produkte und 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.

Dieses Dokument beruht auf einer Vielzahl von Normen und Leitfäden, einschließlich OECD-Richtlinien, Pharmakopöe der USA und der Europäischen Pharmakopöe. Es ist als Basisdokument für die Wahl und Durchführung von Prüfungen vorgesehen, die die Beurteilung von Reaktionen in Form von Hautsensibilisierung ermöglichen, die für die Sicherheit von medizinischen Materialien und Medizinprodukten von Bedeutung sind.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt das Verfahren für die Beurteilung von Medizinprodukten und ihren Bestandteilen hinsichtlich ihres Potentials, eine Hautsensibilisierung auszulösen, fest.

Dieses Dokument enthält:

- Einzelheiten zur Durchführung von *In-vivo*-Hautsensibilisierungsprüfungen;
- Schlüsselfaktoren für die Interpretation der Ergebnisse.

ANMERKUNG Anhang A enthält Anweisungen für die spezielle Vorbereitung von Materialien im Zusammenhang mit den vorstehend angeführten Prüfungen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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, *Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing within a risk management process*

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

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

ISO 10993-18, *Biological evaluation of medical devices — Part 18: Chemical characterization of medical device materials within a risk management process*

3 Begriffe

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

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Plattform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp/ui>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

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

allergische Kontaktdermatitis

klinische Diagnose auf der Grundlage einer beobachteten immunologisch vermittelten Hautreaktion auf eine Substanz

3.3

Blindprobe

Extraktionsträgersubstanz ohne *Prüfmaterial* (3.15), die in einem Gefäß aufbewahrt wird, das mit dem Gefäß identisch ist, in dem sich das Prüfmaterial befindet, und die den gleichen Bedingungen ausgesetzt ist wie das Prüfmaterial während seiner Extraktion

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Blindprobe dient der Bewertung einer möglichen Beeinflussung der Ergebnisse durch das Extraktionsgefäß, die Trägersubstanz und den Extraktionsprozess.

3.4

Provokation

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

3.5

Auslösen einer Reaktion

immunologische Reaktion auf die Exposition gegenüber einer sensibilisierenden Substanz bei einem zuvor sensibilisierten einzelnen Lebewesen

3.6

Erythem

Rötung der Haut oder Schleimhaut

3.7

Extrakt

Flüssigkeit, die man bei der Extraktion des *Prüfmusters* (3.16) oder der Kontrolle erhält

[QUELLE: ISO 10993-12:2021, 3.6]

3.8

Induktion

Prozess, der zur Erzeugung eines neuen, verbesserten Zustands der immunologischen Aktivität eines einzelnen Lebewesens nach einer ersten Exposition gegenüber einem spezifischen Material führt

3.9

reizende Substanz

Wirkstoff, der eine *Irritation* (3.10) hervorruft

3.10

Irritation

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

Anmerkung 1 zum Begriff: Hautirritation ist eine reversible Reaktion und wird hauptsächlich durch Symptome wie ein örtliches *Erythem* (3.6) (Rötung), Schwellung, Juckreiz, Abschälen, Aufspringen und Schuppenbildung der Haut charakterisiert.

3.11

Negativkontrolle

gut beschriebene/s Material oder Substanz, das/die nach der Bewertung mit einem spezifischen Prüfverfahren die Eignung des Verfahrens nachweist, eine reproduzierbare, angemessen negative, nicht-reaktive oder minimale Reaktion im Prüfsystem zu ergeben

Anmerkung 1 zum Begriff: In der Praxis umfassen Negativkontrollen *Blindproben* (3.3), *Trägersubstanzen* (3.17)/Lösungsmittel und Referenzmaterialien.

[QUELLE: ISO 10993-12:2021, 3.10 — modifiziert, Anmerkung 1 zum Begriff wurde ersetzt.]

3.12

Ödem

Schwellung infolge anomaler Flüssigkeitsinfiltration in die Gewebe

3.13

Positivkontrolle

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

3.14

Hautsensibilisierung

durch T-Zellen vermittelte Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ, die durch reaktive Chemikalien mit niedriger relativer Molekülmasse (Allergene) induziert wird, bestehend aus zwei Phasen, Induktion und Auslösen einer Reaktion

Anmerkung 1 zum Begriff: Bei Menschen können die Reaktionen durch Juckreiz, *Erytheme* (3.6), *Ödeme* (3.12), 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.

3.15

Prüfmaterial

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

3.16

Prüfmuster

Material, Produkt, Anteil oder Bestandteil eines Produkts, *Extrakt* (3.7) oder Anteil davon, das/der der biologischen oder chemischen Prüfung oder Beurteilung unterzogen wird

3.17

Trägersubstanz

Flüssigkeit zum Befeuchten, Verdünnen, Suspendieren, *Extrahieren* (3.7) oder Lösen der Prüfsubstanz/des Prüfmaterials

4 Allgemeine Grundsätze — Stufenweises Vorgehen

Die zur Verfügung stehenden Verfahren zur Prüfung auf Sensibilisierung wurden spezifisch entwickelt, um das Potential einer Substanz zur Hautsensibilisierung nachzuweisen. Eine Voraussage für sonstige Typen unerwünschter Wirkungen ist durch diese Prüfungen im Allgemeinen nicht möglich.

Dieses Dokument fordert ein stufenweises Vorgehen, da jedes Stadium zu der Schlussfolgerung führen kann, dass eine weitere Prüfung auf Hautsensibilisierung nicht erforderlich ist:

- Bewertung von Literatur und Informationen der Lieferanten, einschließlich chemischer und physikalischer Eigenschaften und Informationen über das Hautsensibilisierungspotential aller Bestandteile des Medizinprodukts sowie strukturell nahe stehender Chemikalien und Materialien; in Bezug auf Einzelheiten siehe ISO 10993-1. Durchführung einer Risikobeurteilung auf der Grundlage bestehender Informationen, um zu bestimmen, ob das Risiko einer Hautsensibilisierung vertretbar ist oder ob eine weitere Prüfung erforderlich ist;
- zusätzliche Charakterisierung und Risikobeurteilung, falls notwendig, des Materials eines Produkts, die eine chemische Charakterisierung und Analyse des Prüfmusters nach den allgemeinen Grundsätzen, wie in ISO 10993-18 beschrieben, einschließen;
- In-vitro*-Prüfungen müssen nach ISO 10993-2 *In-vivo*-Prüfungen gegenüber bevorzugt berücksichtigt und letztere ersetzt werden, sobald neue *In-vitro*-Prüfungen wissenschaftlich validiert und in vernünftiger Weise und praktisch verfügbar sind;

ANMERKUNG Es gibt derzeit eine Reihe von international validierten und anerkannten *In-vitro*-Prüfungen zum Nachweis des Hautsensibilisierungspotentials von Chemikalien; diese *In-vitro*-Prüfungen sind jedoch noch nicht für Medizinprodukte validiert. An einigen dieser Prüfungen wird derzeit gearbeitet, um sie für die Verwendung mit Medizinprodukten zu qualifizieren.

- d) *In-vivo*-Tierversuche sind nur 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 Risikobeurteilung vorzunehmen.

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 Hautsensibilisierung nicht notwendig ist.

Es gelten die Anforderungen in ISO 10993-1:2018, Abschnitt 5, und die Folgenden.

Nicht sterile Proben dürfen *in vivo* nur durch topische Untersuchung untersucht werden, da die Möglichkeit einer mikrobiellen Kontamination des Prüfmusters die abschließende Versuchsauswertung stören kann. In Fällen, bei denen die Sterilität eines Prüfmusters nicht sichergestellt werden kann, die Probe jedoch noch als frei von mikrobieller Kontamination 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 dürfen, z. B. Schmiermittel oder Formtrennmittel. Zusätzlich zu den chemischen Bestandteilen des Ausgangsmaterials und den Verarbeitungshilfsmitteln können in einem Endprodukt auch Rückstände von Klebstoffen oder Lösemitteln aus dem Zusammenbau wie auch Rückstände von Sterilisationsmitteln oder beim Sterilisationsverfahren entstehende Reaktionsprodukte vorhanden sein. Ob diese Bestandteile ein Risiko darstellen, hängt von den Merkmalen der Endprodukte hinsichtlich Auslaugung oder Abbauvorgängen ab. Die chemischen Bestandteile, die ein Hautsensibilisierungspotential aufweisen, müssen ermittelt werden.

5.2.2 Keramik, Metalle und Legierungen

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

5.2.3 Polymere

Die chemische Zusammensetzung dieser Materialien ist normalerweise komplexer als die der in 5.2.2 angegebenen Materialien. Es kann eine Anzahl von Reaktionsprodukten/Verunreinigungen/Zusatzstoffen/Katalysatorrückständen vorhanden sein, und der Grad oder das Ausmaß 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, zum Beispiel Vernetzer und antimikrobiell wirkende Substanzen. Biologische Materialien können von Probe zu Probe uneinheitlich sein.

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

5.3 Informationen über die chemische Zusammensetzung

5.3.1 Allgemeines

Es müssen sämtliche qualitative Daten über die chemischen Bestandteile des Materials ermittelt werden. Quantitative Daten über die chemische Zusammensetzung müssen ebenfalls erfasst werden. 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; es sollten Regelungen zur Übermittlung und Verwendung solcher vertraulicher Informationen 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 Firmen, die Materialien weiterverarbeiten und Hersteller einzelner Bestandteile.

Wenn die Informationen über die Zusammensetzung unvollständig sind, 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 nach internationalen Normen von ISO oder ASTM und/oder 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 bei den Aufsichtsbehörden zugängliche Materialstammdateien.

6 Prüfungen auf Hautsensibilisierung

6.1 Auswahl von Prüfverfahren

Zur Ermittlung von hautsensibilisierenden Substanzen wurden unter Verwendung einer Kombination verschiedener Versuche alternative *In-vitro*- und *In-chemico*-Ansätze für reine Chemikalien entwickelt. Mehrere dieser Verfahren wurden in die OECD-Prüfrichtlinien [TG 442C [75], TG 442D [79] und TG 442E [104]] oder in das Prüfrichtlinien-Programm der OECD [121] aufgenommen (siehe Anhang C).

Zusammen erfassen die in diesen Prüfrichtlinien beschriebenen Versuche die drei Schlüsselvorgänge des nunmehr ermittelten „Pfad zu nachteiligen Auswirkungen“ (AOP, en: adverse outcome pathway) bei der Hautsensibilisierung, der das auslösende molekulare Ereignis (Proteinbindung), das Auslösen einer Entzündung und die Aktivierung von dendritischen Zellen umfasst. Diese Prüfverfahren, die zur Behandlung eines bestimmten Schlüsselvorgangs entwickelt wurden, reichen möglicherweise allein nicht aus, um auf das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein eines Hautsensibilisierungspotentials von Chemikalien zu schließen, und sollten im Rahmen integrierter Ansätze, wie z. B. IATA, betrachtet werden, wobei diese mit anderen ergänzenden Informationen kombiniert werden.

Nach ISO 10993-2 müssen derartige integrierte Ansätze bei der Beurteilung eines Hautsensibilisierungspotentials von reinen Chemikalien berücksichtigt werden. Ob diese Ansätze auch auf Medizinprodukte oder Extrakte von Medizinprodukten anwendbar sind, ist noch nicht bekannt. Ein Überblick über verfügbare alternative Hautsensibilisierungsprüfungen für reine Chemikalien ist in Anhang C dargestellt.

Derzeit stehen drei Tierversuche zur Verfügung, die das Potential von Chemikalien, eine Hautsensibilisierung hervorzurufen, bestimmen. Das umfasst zwei Versuche an Meerschweinchen und einen Versuch an Mäusen. Die beiden Versuche an Meerschweinchen sind der Maximierungstest am Meerschweinchen (GPMT, en: guinea-pig maximization test) und die Prüfung mit Okklusivläppchen (Bühler-Test). Von diesen beiden Versuchen ist der Maximierungstest das empfindlichste Verfahren. Siehe Literaturhinweis [9]. Der Okklusivpatchtest ist für Produkte zur äußeren Anwendung geeignet.

Der lokale Lymphknotentest (LLNA, en: local lymph node assay) an Mäusen wurde 2010 international als eine OECD-Prüfrichtlinie [33] zur Prüfung einzelner Chemikalien als alleinige Alternative zu Versuchen an Meerschweinchen angenommen und ist jetzt der bevorzugte *In-vivo*-Versuch für Chemikalien. Siehe Literaturhinweise [19] und [32]. In einigen Fällen können Versuche an Meerschweinchen zur Beurteilung des Sensibilisierungspotentials von bestimmten Prüfmustern notwendig sein. Das kann bei bestimmten Metallen der Fall sein (siehe Literaturhinweis [44]), die falsch negative Befunde im LLNA ergeben können, oder bei hautreizenden Stoffen, die falsch positive Befunde ergeben können, sowie bei Substanzen mit hoher relativer Molekülmasse, die die Haut nicht durchdringen, oder bei Substanzen, die in den empfohlenen Trägersubstanzen nicht löslich sind.

ANMERKUNG Alle drei Tierversuche wurden zum Nachweis des Potentials von Chemikalien entwickelt, eine Hautsensibilisierung, d. h. eine Kontaktdermatitis, eine Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ (Typ IV), hervorzurufen.

In Anbetracht der in ISO 10993-2 dargelegten Tierschutzbestimmungen muss der LLNA in Erwägung gezogen werden, wenn ein *In-vivo*-Versuch durchgeführt wird. Zusätzliche zu den tierschutzbezogenen Betrachtungen hat der LLNA den Vorteil, dass er objektive quantitative Daten liefert.

6.2 Lokaler Lymphknotentest an der Maus

6.2.1 Kurzbeschreibung

Nach der äußeren Behandlung des Dorsums des Ohrs mit einem Prüfmuster wird das Ausmaß der Lymphozytenproliferation in den drainierenden Lymphknoten an der Stelle der Applikation (Ohren) gemessen. Der Schwellenwert für die Bezeichnung eines Prüfmaterials als sensibilisierende Substanz ist eine Reaktion bezüglich der Zellproliferation, die mindestens dem Dreifachen der Reaktion auf die Kontrollen entspricht.

Der LLNA muss bei der Verwendung von Substanzen unter Anwendung eines Dosis-Wirkungs-Ansatzes durchgeführt werden. Bei Endprodukten/Medizinprodukten kann es hinreichend sein, nur den unverdünnten Extrakt zu prüfen.

ANMERKUNG Die Literaturhinweise [15] bis [44] enthalten repräsentative Publikationen zum LLNA. Die Laboratorien, die diesen Versuch durchführen, werden angeregt, diese und andere zutreffende und verfügbare Publikationen durchzusehen.

6.2.2 Vorbereitung der Prüfmuster

Das Prüfmuster muss eine Flüssigkeit, Suspension, ein Gel oder eine Paste sein, die/das auf die Ohren der Maus aufgebracht werden kann. Nach Möglichkeit muss eine Reihe von Dosen (Verdünnungen) untersucht werden. Andernfalls sollte die höchste Konzentration einer hergestellten Lösung oder Suspension der Chemikalie oder eines Extraktes verwendet werden. Wenn im LLNA bei einem Extrakt eine starke Reaktion festgestellt wird, ist möglicherweise eine Folgestudie notwendig, in der mehrerer Dosen bewertet werden, um die mögliche Hautsensibilisierungspotenz des Extrakts zu bewerten. Systemische Toxizität und übermäßige lokale Hautreizung können die Prüfergebnisse verfälschen und daher sollten diese Reaktionen vermieden werden. Unter bestimmten Umständen kann ein Vorversuch notwendig sein.

Eine üblicherweise für Substanzen/Chemikalien verwendete Trägersubstanz ist ein Aceton/Olivenöl-Gemisch (A00) im Verhältnis 4 : 1. Flüssige Proben, die hydrophil sind und/oder nicht angemessen auf der Haut des Ohres haften, sollten so modifiziert werden, dass sie an der Prüfstelle haften. Das kann durch Zugabe eines Verdickungsmittels, wie z. B. Carboxymethylcellulose oder Hydroxyethylcellulose (mit einer Dichte von 0,5 %),

oder durch eine grenzflächenaktive Substanz, wie z. B. Pluronic® L92¹ mit einem Volumenanteil von 1 %, erreicht werden. Bei wasserlöslichen Chemikalien ist Dimethylsulfoxid (DMSO) oder Dimethylformamid (DMF) der grenzflächenaktiven Substanz Pluronic® L92 zu bevorzugen. Siehe Literaturhinweis [34]. Alternativ können andere Extraktionsflüssigkeiten als angegeben verwendet werden. Siehe Literaturhinweis [33]. Die Auswirkung der Zugaben zu den Extraktionsmedien und/oder Änderungen der Zusammensetzung der Trägersubstanz müssen validiert und dokumentiert werden. Das kann durch Versuche mit schwach bis mäßig hautsensibilisierenden Substanzen, wie sie gewöhnlich als Positivkontrollen verwendet werden, erfolgen. Zusätzlich kann eine Aufstockung des Prüfmusters mit einer Positivkontrolle durchgeführt werden, um nachzuweisen, dass der LLNA nach wie vor in der Lage ist, das Vorliegen potentieller hautsensibilisierender Substanzen im hergestellten Extrakt nachzuweisen. Weitere grundlegende Aspekte der Extraktion eines Prüfgegenstandes sind in ISO 10993-12 festgelegt.

Für jede tägliche Applikation muss ein gesonderter Extrakt hergestellt werden.

ANMERKUNG Für polymere Materialien ist in Anhang B ein wahlfreies Extraktionsverfahren angeführt.

6.2.3 Tiere und Haltung

Es müssen gesunde, nicht trächtige weibliche Mäuse vom CBA/Ca-, CBA/J- oder BALB/c-Stamm verwendet werden, sofern nicht ein anderer Stamm validiert wurde. Siehe Literaturhinweise [33], [41] und [42]. Verschiedene Mausstämme wurden als annehmbar ausgewiesen (DBA/2, B6C3F1). Siehe Literaturhinweis [35]. Die Mäuse müssen 7 Wochen bis 12 Wochen alt sein; die Mäuse von jeder Studie müssen gleichen Alters sein (innerhalb eines Altersbereichs von einer Woche).

Haltung und Auswahl der Tiere müssen nach ISO 10993-2 erfolgen. Die routinemäßig im Laboratorium eingewöhnten Mäuse müssen individuell gekennzeichnet sein. Bei bestimmten Prüfmustern kann möglicherweise eine Einzelhaltung erforderlich sein. Dies muss begründet und dokumentiert werden.

Die Tiere müssen eindeutig durch Verfahren gekennzeichnet werden, die keine Ohrlöcher oder Ohrmarken einschließen.

Bei Gruppenhaltung sollten Kreuzkontamination und unerwünschte orale Aufnahme berücksichtigt werden.

6.2.4 Prüfverfahren

Bei Chemikalien wird der LLNA üblicherweise nach dem Dosis-Wirkungs-Prinzip durchgeführt. Bei festen Medizinprodukten müssen die zu untersuchenden Proben Extrakte sein. In diesen Fällen steht nur eine Dosis zum Prüfen zur Verfügung. Im Allgemeinen kann der Extrakt unverdünnt untersucht werden. Wenn der Extrakt jedoch stark toxische Bestandteile enthält, kann das im LLNA aufgrund der Toxizität zu einem negativen Ergebnis führen. Deshalb werden bei der Untersuchung von zytotoxischen Extrakten (siehe ISO 10993-5) die Durchführung des LLNA nach dem Dosis-Wirkungs-Prinzip und die Verdünnung des Extrakts empfohlen. Wenn im LLNA eine starke Reaktion festgestellt wird, kann zusätzlich eine Folgeprüfung bezüglich des Wirkungsbereichs durchgeführt werden, um die mögliche Sensibilisierungspotenz des Extrakts zu bewerten.

Um die Reproduzierbarkeit und Empfindlichkeit sicherzustellen, muss eine Prüfung einer Positivkontrollsubstanz für die Hautsensibilisierung vom Prüflaboratorium einbezogen werden, um das Prüfsystem zu validieren und eine Positivreaktion nachzuweisen. Als Positivkontrollen müssen gut bekannte, schwache bis mäßige Kontaktallergene, z. B. Mercaptobenzothiazol, Hexylzimaldehyd und Benzocain, verwendet werden. Die angeführten Beispiele sind möglicherweise nicht für jede zur Probenvorbereitung verwendete Trägersubstanz geeignet (z. B. wässrige Trägersubstanz); in diesen Fällen kann eine andere Positivkontrolle gewählt werden. ASTM F2148 weist darauf hin, dass in derartigen Fällen Formalin und 2,4-Dinitrochlorbenzen (DNCB) als Positivkontrollen verwendet werden sollten. Dies muss begründet und dokumentiert werden.

1 Pluronic® L92 ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch ISO.