

DIN EN ISO 10993-3

ICS 11.100.20

Ersatz für
DIN EN ISO 10993-3:2009-08**Biologische Beurteilung von Medizinprodukten –
Teil 3: Prüfungen auf Gentoxizität, Karzinogenität und
Reproduktionstoxizität (ISO 10993-3:2014);
Deutsche Fassung EN ISO 10993-3:2014**

Biological evaluation of medical devices –
Part 3: Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity
(ISO 10993-3:2014);
German version EN ISO 10993-3:2014

Évaluation biologique des dispositifs médicaux –
Partie 3: Essais concernant la génotoxicité, la cancérogénicité et la toxicité sur la
reproduction (ISO 10993-3:2014);
Version allemande EN ISO 10993-3:2014

Gesamtumfang 48 Seiten

DIN-Normenausschuss Feinmechanik und Optik (NAFuO)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument 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“ (Sekretariat: NEN, Niederlande) erarbeitet.

Im DIN-Normenausschuss Feinmechanik und Optik (NAFuO) ist hierfür der NA 027-02-12 AA „Biologische Beurteilung von Medizinprodukten“ zuständig.

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 Implantation*
- *Teil 7: Ethylenoxid-Sterilisationsrückstände*
- *Teil 9: Rahmen zur Identifizierung und Quantifizierung von möglichen Abbauprodukten*
- *Teil 10: Prüfungen auf Irritation und Allergien vom verzögerten Typ*
- *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 Extrakten*
- *Teil 17: Nachweis zulässiger Grenzwerte für herauslösbare Bestandteile*
- *Teil 18: Chemische Charakterisierung von Werkstoffen*

Zu dieser Internationalen Normenreihe gehören die folgenden Technischen Spezifikationen, die nicht als Deutsche Normen übernommen wurden:

ISO/TS 10993-19, *Physico-chemical, morphological and topographical characterization of materials*

ISO/TS 10993-20, *Principles and methods for immunotoxicology testing of medical devices*

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 10993-6	siehe DIN EN ISO 10993-6
ISO 10993-12	siehe DIN EN ISO 10993-12
ISO 10993-18	siehe DIN EN ISO 10993-18

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 10993-3:2009-08 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Änderung der Prüfstrategie durch Aufnahme eines *in-vivo*-Tests und einer Follow-up-Bewertung;
- b) neuer Anhang A (normativ) „Anleitung zur Auswahl eines geeigneten Verfahren zur Probenvorbereitung für die Genotoxizitätsprüfung“ aufgenommen;
- c) Aufnahme von weiteren *in-vitro* und *in-vivo*-Prüfungen für die Bewertung des genotoxischen Potenzial von Medizinprodukten;
- d) neuer Anhang B (informativ) „Flussdiagramm für die Follow-up-Bewertung“ aufgenommen;
- e) Anhang E (normativ) geändert in „Erwägungen zu Karzinogenitätsprüfungen, die als Implantationsprüfungen durchgeführt werden“;
- f) neuer Anhang F (informativ) „*In-vitro*-Prüfungen auf Embryotoxizität“ aufgenommen.

Frühere Ausgaben

DIN EN 30993-3: 1994-03

DIN EN ISO 10993-3: 2004-02, 2009-08

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 10993-6, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 6: Prüfungen auf lokale Effekte nach Implantation*

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*

Deutsche Fassung

Biologische Beurteilung von Medizinprodukten —
Teil 3: Prüfungen auf Gentoxizität, Karzinogenität
und Reproduktionstoxizität
(ISO 10993-3:2014)

Biological evaluation of medical devices —
Part 3: Tests for genotoxicity, carcinogenicity
and reproductive toxicity
(ISO 10993-3:2014)

Évaluation biologique des dispositifs médicaux —
Partie 3: Essais concernant la génotoxicité, la
cancérogénicité et la toxicité sur la reproduction
(ISO 10993-3:2014)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 6. September 2014 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	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	7
4 Anforderungen an die Prüfstrategien	7
4.1 Allgemeines	7
4.2 Zusätzliche Anforderungen für Karzinogenitätsprüfungen	8
4.3 Zusätzliche Anforderungen für Reproduktionstoxizitätsprüfungen	9
5 Genotoxizitätsprüfungen	9
5.1 Allgemeines	9
5.2 Prüfstrategie	9
5.2.1 Allgemeines	9
5.2.2 Prüfreihe	10
5.2.3 Follow-up-Bewertung	10
5.3 Probenvorbereitung	12
6 Karzinogenitätsprüfungen	12
6.1 Allgemeines	12
6.2 Prüfstrategie	13
6.3 Prüfmustervorbereitung	14
6.4 Prüfverfahren	14
7 Reproduktions- und Entwicklungstoxizitätsprüfungen	15
7.1 Allgemeines	15
7.2 Prüfstrategie	15
7.3 Prüfmustervorbereitung	16
7.4 Prüfverfahren	16
8 Prüfbericht	17
Anhang A (informativ) Anleitung zur Auswahl eines geeigneten Verfahrens zur Probenvorbereitung für die Genotoxizitätsprüfung	18
A.1 Allgemeines	18
A.2 Produktmaterialien	19
A.2.1 Low Molecular Weight Chemicals (LMWC)	19
A.2.2 Polymere (einschließlich natürlich vorkommende Polymere)	19
A.2.3 Anorganische Materialien: Abrieb von Metallen, Legierungen und Keramiken	20
A.3 Verfahren zur Probenvorbereitung	20
A.3.1 Allgemeines	20
A.3.2 Verfahren A	22
A.3.3 Verfahren B	23
A.3.4 Verfahren C	25
A.4 Zusätzliche Hinweise zur speziellen Prüfmustervorbereitung	25
A.4.1 Biologisch abbaubare Polymere	25
A.4.2 Anorganische Materialien: Abrieb von Metallen, Legierungen und Keramiken	25
A.4.3 LMWC	26
Anhang B (informativ) Flussdiagramm für die Follow-up-Bewertung	27
Anhang C (informativ) Grundlage der Prüfsysteme	28
C.1 Genotoxizitätsprüfungen	28

C.2	Karzinogenitätsprüfungen.....	29
C.3	Reproduktions/Entwicklungstoxizitätsprüfungen	29
Anhang D (informativ) Zelltransformationsprüfsysteme		30
Anhang E (normativ) Erwägungen zu Karzinogenitätsprüfungen, die als Implantationsprüfungen durchgeführt werden.....		31
E.1	Fremdkörper-Karzinogenese	31
E.2	Überlegungen zum Tierschutz	31
Anhang F (informativ) <i>In-vitro</i> -Prüfungen auf Embryotoxizität		32
Anhang ZA (informativ) Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der EU-Richtlinie 93/42/EWG über Medizinprodukte		34
Anhang ZB (informativ) Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der EU-Richtlinie 90/385/EWG über aktive implantierbare Medizinprodukte		36
Literaturhinweise		37

Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 10993-3:2014) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 194 „Biological and clinical 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 April 2015, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis April 2015 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 ersetzt EN ISO 10993:2009.

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 10993-3:2014 wurde vom CEN als EN ISO 10993-3:2014 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Einleitung

Die Grundlage für die biologische Bewertung von Medizinprodukten ist oft empirisch und geprägt von Bedenken hinsichtlich der Sicherheit für den Menschen. Das Risiko schwerer und irreversibler Schädigungen, wie Krebs oder Anomalien in der Nachfolgegeneration, ist von besonderem öffentlichem Interesse. Es ist selbstverständlich, dass bei der Bereitstellung sicherer Medizinprodukte solche Risiken soweit wie möglich minimiert werden müssen. Die Bewertung mutagener, kanzerogener und reproduktiver Gefahren ist eine wesentliche Komponente bei der Kontrolle dieser Risiken. Nicht alle Verfahren zur Prüfung auf Gentoxizität, Karzinogenität oder Reproduktionstoxizität sind gleichermaßen gut entwickelt; auch ihre Gültigkeit für die Anwendung auf Medizinprodukte ist nicht in jedem Falle gesichert.

Erhebliche Probleme mit der Prüfmustergröße und -vorbehandlung, das wissenschaftliche Verständnis von Krankheitsprozessen und die Validierung der Prüfverfahren können als limitierende Faktoren der verfügbaren Verfahren genannt werden. Beispielsweise wird die biologische Bedeutung der Festkörper-Karzinogenese nur unzureichend verstanden. Es ist zu erwarten, dass laufende wissenschaftliche und medizinische Fortschritte unser Verständnis und die Ansätze dieser wichtigen toxikologischen Effekte verbessern werden. Zum Zeitpunkt der Erstellung dieses Dokuments waren die vorgeschlagenen Prüfverfahren die am besten akzeptierten. Wissenschaftliche fundierte Alternativen zu den vorgeschlagenen Prüfungen können insofern akzeptabel sein, als sie wesentliche Aspekte der Sicherheitsbewertung betreffen.

Bei der Auswahl der Prüfungen, die für die Bewertung eines bestimmten Medizinproduktes erforderlich sind, gibt es zur sorgfältigen Abschätzung der voraussichtlichen Anwendung des Produktes am Menschen und der möglichen Wechselwirkung des Medizinproduktes mit verschiedenen biologischen Systemen keine Alternative. Diese Betrachtungen sind in Bereichen wie der Reproduktions- und Entwicklungstoxikologie besonders wichtig.

Dieser Teil der ISO 10993 enthält Prüfverfahren zum Nachweis spezifischer biologischer Risiken und Strategien — sofern erforderlich — für die Auswahl der Prüfungen, die bei der Identifikation möglicher Gefahren helfen. Die Durchführung von Prüfungen ist nicht immer notwendig oder hilfreich, um toxikologische Risiken im Zusammenhang mit der Exposition von Materialien in Medizinprodukten zu regeln. Sollte jedoch die Notwendigkeit bestehen, ist es wichtig, bei der Prüfung auf eine maximale Sensitivität des Verfahrens zu achten.

Durch die Vielfalt der möglichen Ergebnisse und der Bedeutung von Faktoren wie Ausmaß der Exposition, Unterschiede zwischen den Spezies sowie der mechanischen und physikalischen Eigenschaften, kann die Risikobewertung nur fallweise vorgenommen werden.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil der ISO 10993 legt spezifische Strategien für die Risikoabschätzung, die Auswahl der Prüfverfahren zur Gefahrenerkennung und das Risikomanagement fest, unter Berücksichtigung der Möglichkeit, der nachfolgenden, potenziellen irreversiblen biologischen Effekte, die als Ergebnis der Exposition durch Medizinprodukte auftreten können :

- Genotoxizität;
- Karzinogenität;
- Reproduktions- und Entwicklungstoxizität.

Dieser Teil der ISO 10993 ist anwendbar, sobald die Notwendigkeit festgestellt wurde, ein Medizinprodukt auf potenzielle Genotoxizität, Karzinogenität oder Reproduktionstoxizität zu untersuchen.

ANMERKUNG Eine Anleitung zur Auswahl der Prüfungen ist in ISO 10993-1 enthalten.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments unverzichtbar. 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 10993-6, *Biological evaluation of medical devices — Part 6: Tests for local effects after implantation*

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 materials*

OECD 414, *Prenatal Development Toxicity Study*

OECD 415, *One-Generation Reproduction Toxicity Study*

OECD 416, *Two-generation Reproduction Toxicity*

OECD 421, *Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test*

OECD 451, *Carcinogenicity Studies*

OECD 453, *Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies*

OECD 471, *Bacterial Reverse Mutation Test*

OECD 473, *In-vitro Mammalian Chromosome Aberration Test*

OECD 476, *In-vitro Mammalian Cell Gene Mutation Test*

OECD 487, *In-vitro Mammalian Cell Micronucleus Test*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach ISO 10993-1 und ISO 10993-12 sowie die folgenden Begriffe.

3.1

Karzinogenitätsprüfung

Prüfung zur Bestimmung des kanzerogenen Potenzials von Medizinprodukten, Materialien und/oder Extrakten mittels mehrmaliger Exposition über einen großen Teil der Lebenszeit des Versuchstiers

3.2

energieübertragendes Medizinprodukt

Produkt, das durch die Verabreichung elektromagnetischer Strahlung, ionisierender Strahlung oder Ultraschall eine gewünschte therapeutische oder diagnostische Wirkung ausübt

Anmerkung 1 zum Begriff: Dies gilt nicht für Medizinprodukte, die nur einfachen elektrischen Strom aussenden, wie z. B. elektro-kauterisierende Medizinprodukte, Herzschrittmacher oder elektrische Stimulatoren.

3.3

Genotoxizitätsprüfung

Prüfverfahren, die Säuger- oder Nicht-Säugerzellen, Bakterien, Hefen, Pilze oder ganze Tiere verwenden, um Genmutationen, Veränderungen in der Chromosomenstruktur oder andere DNA- oder Genveränderungen zu erkennen, die durch die Prüfmuster verursacht werden

3.4

maximal tolerierbare Dosis

MTD

Maximaldosis, die ein Versuchstier ohne nachteilige Auswirkungen verträgt

3.5

Reproduktions- und Entwicklungstoxizitätsprüfung

Prüfung zur Beurteilung potenzieller Effekte der Prüfmuster auf Reproduktionsfunktion, embryonale Morphologie (Teratogenität) sowie auf die pränatale und frühe postnatale Entwicklung

3.6

Probenvorbereitung

Rückstände sowie extrahierbare, auswaschbare oder biodegradierbare Materialien, die in einem mit dem Prüfsystem kompatiblen Träger erneut suspendiert werden

4 Anforderungen an die Prüfstrategien

4.1 Allgemeines

ISO 10993-1 zeigt Situationen auf, in denen das Potenzial für Genotoxizität, Karzinogenität und Reproduktionstoxizität als relevante Gefährdungen angesehen werden müssen, die in einer umfassenden biologischen Sicherheitsbeurteilung bewertet werden müssen. Prüfungen, um diese Gefährdungen zu untersuchen, müssen auf der Grundlage einer Risikobewertung begründet werden. Bei der Bestimmung, ob eine Prüfung auf Genotoxizität, Karzinogenität und Reproduktionstoxizität des Medizinproduktes notwendig ist, müssen im Rahmen einer Risikobewertung die folgenden Faktoren erfasst werden

- eine Analyse der chemischen Bestandteile der/des Produktmaterial(ien)s, einschließlich der Rückstände aus dem Herstellungsverfahren sowie Abbauprodukte oder Metaboliten, um bedenkliche Aspekte auf Grundlage von Struktur-Wirkungs-Beziehung oder früheren Nachweisen relevanter Toxizität in der chemischen Klasse zu identifizieren,

- die mechanistische Grundlage des zu berücksichtigenden toxikologischen Effekts, falls vorhanden;
- vorhandene Informationen maßgeblich für die Beurteilung von Gentoxizität, Karzinogenität und Reproduktionstoxizität des Medizinproduktes;
- das Ausmaß der vorherigen Verwendung von ähnlichen Materialien in den entsprechenden Anwendungen;
- Berücksichtigung von Rückständen des Endproduktes unter Beachtung ihrer Charakterisierung sowie ihrer potentiellen biologischen Aktivität (z. B. Struktur-Aktivitäts-Beziehung oder vorhergehende Darlegung relevanter Ergebnisse);
- Expositionsweg;
- Patientenpopulation;
- Ausmaß und Dauer der lokalen (am Ort der Implantation oder der Anwendung) und systemischen Exposition;
- die erwartete Bedeutung der Prüfergebnisse (oder das Fehlen von Prüfungen) für die Bewertung im Risikomanagement;
- Änderungen der Art oder der Menge der Rückstände, denen der Patient ausgesetzt wird, entweder durch längeren Produktkontakt oder eine geänderten Produktgröße, wenn mit einem gleichwertigen Produkt verglichen.

Allgemein verwendete Extras zur Risikobewertung (z. B. TTC) können bei der Bewertung dieser Faktoren hilfreich sein.

Wo eine Analyse der Zusammensetzung des Produktmaterials die Anwesenheit von chemischen Bestandteilen aufzeigt, die Anlass zur Sorge geben, für die aber nur unzureichende Daten verfügbar sind, muss eine Prüfung von einzelnen Chemikalien in Betracht gezogen werden. Die Prüfung einzelner Chemikalien muss einer Prüfung der zusammengesetzten Materialien oder der von Extrakten vorgezogen werden, wenn dies die Risikoabschätzung verbessert. Wo die Prüfung des Produktmaterials angezeigt ist, sind die Prüfungen mit dem Endprodukt (einschließlich Sterilisation, wenn anwendbar) oder mit typischen Mustern der Endprodukte durchzuführen, oder mit Materialien, die in der gleichen Weise wie das Endprodukt (einschließlich Sterilisation, wenn anwendbar) verarbeitet wurden. Die Entscheidung für eine Prüfung und die Art des Prüfmusters sind zu begründen und zu dokumentieren.

Eine Prüfung kann auch bei weiteren Zuständen des Produkts erforderlich sein, beispielsweise wenn Ablagerungen des Produkts auftreten oder bei Materialien, die bei der Anwendung aushärten (z. B. Zemente, Klebstoffe und Präpolymeregemische). Es sei denn, eine toxikologische Risikobewertung kommt zu dem Ergebnis, dass die weiteren Zustände des Produkts/Materials unbedenklich sind. Für Hinweise zu Produkten, die bei der Anwendung aushärten, siehe ISO 10993-12.

4.2 Zusätzliche Anforderungen für Karzinogenitätsprüfungen

Für Karzinogenitätsprüfungen müssen zusätzlich zu 4.1 die folgenden Faktoren berücksichtigt werden:

- physikalische Eigenschaften (z. B. Partikelgröße und -form, Porengröße, Oberflächenkontinuität, Oberflächenbeschaffenheit, Produktdicke),
- Ergebnisse aus Genotoxizitäts-, Implantations- und anderen Studien.

4.3 Zusätzliche Anforderungen für Reproduktionstoxizitätsprüfungen

Für Reproduktionstoxizitätsprüfungen muss zusätzlich zu 4.1 die gesamte direkte oder indirekte kumulierte Kontaktdauer mit reproduktivem Gewebe, dem Embryo/Fötus oder Keimzellen berücksichtigt werden.

Alle Informationen aus der veröffentlichten Literatur über die Wirkung von Produktmaterialien auf männliche/weibliche Geschlechtsorgane oder aus der subakuten/chronischen Studie über die Histopathologie des Fortpflanzungssystems sollte als Grundlage verwendet werden, bevor eine vollständige Prüfung auf Reproduktionstoxizität durchgeführt wird.

5 Genotoxizitätsprüfungen

5.1 Allgemeines

Bevor eine Entscheidung darüber getroffen werden kann, ob eine Prüfung auf Genotoxizität durchzuführen ist, muss ISO 10993-1 berücksichtigt werden. Die Grundüberlegung für das Prüfprogramm, die alle unter 4.1 bis 4.3 genannten, relevanten Faktoren berücksichtigt, muss begründet und dokumentiert werden.

Genotoxizitätsprüfungen sind auf die Erkennung der beiden Hauptklassen genetischer Schädigungen ausgerichtet:

- Genmutationen (Punktmutationen);
- Chromosomenschäden [strukturelle Aberrationen wie Translokationen, kleine oder große Deletionen und Insertionen, und numerische Chromosomenaberrationen (Aneuploidie)].

5.2 Prüfstrategie

5.2.1 Allgemeines

Keine einzelne Prüfung kann alle relevanten genotoxischen Substanzen nachweisen. Daher ist es die übliche Vorgehensweise, eine Serie von Prüfungen *in-vitro* und unter bestimmten Bedingungen auch *in-vivo* durchzuführen.

Bakterielle Rückmutationstests haben gezeigt, dass sie in der Lage sind, relevante genetische Veränderungen erkennen zu können, die durch die Mehrheit der genotoxischen Karzinogene, detektiert durch Prüfungen am Nager, verursacht werden. Bestimmte Klassen genotoxischer Substanzen, z. B. halogenierte Kohlenwasserstoffe, werden nicht erkannt.

Das Potenzial der Prüfmuster, in bakteriellen Systemen DNA-Schäden zu verursachen, ist unter Umständen für ihre mögliche Wirkung in eukaryotischen Zellen nicht relevant, und daher sind unterschiedliche Prüfungen in Säugetierzell-Prüfsystemen durchzuführen, es sei denn, dass dies anderweitig begründet werden kann. Es werden mehrere Säugerzellen-Systeme verwendet: Systeme, die Chromosomenschäden erkennen (*in-vitro*-Prüfungen auf strukturelle und numerische Chromosomenaberrationen); Systeme, die in erster Linie Genmutationen nachweisen (HPRT-Mutationstest), und ein System, das Genmutationen und klastogene Effekte [(Maus-Lymphom-Thymidinkinase(tk)-Test) erkennt, sowohl mithilfe der Bestimmung der Kolonienanzahl und der Koloniegröße]. *In-vitro*-Prüfungen auf Chromosomenschäden und der Maus-Lymphoma-tk-Assay liefern Ergebnisse, die gleichwertig sind. Die Ergebnisse aus beiden Prüfungen haben ein relativ hohes Maß an Übereinstimmung für Verbindungen, die als genotoxisch angesehen werden, aber im bakteriellen Rückmutationstest zu negativen Ergebnissen führen. Daher werden der Chromosomenaberrationstest und der Maus-Lymphoma-tk-Test derzeit als gleichermaßen akzeptabel angesehen, wenn einer dieser beiden Prüfungen mit dem bakteriellen Rückmutationstest im Rahmen einer Standardprüfreihe verwendet wird.

5.2.2 Prüfreihe

Wenn eine Genotoxizitätsprüfung durchgeführt wird, muss die Prüfreihe Folgendes umfassen:

- a) Eine Prüfung auf Genmutationen in Bakterien. Bakterieller Rückmutationstest (OECD 471), angepasst für Medizinprodukte, der z. B. die Prüfung mit Produktextrakten erlaubt, siehe ISO/TR 10993-33:—, Abschnitt 6, und entweder
- b) eine *in-vitro*-Prüfung mit zytogenetischer Untersuchung auf Chromosomenschäden mit Säugetierzellen, Chromosomenaberrationstest (OECD 473), angepasst für Medizinprodukte, siehe ISO/TR 10993-33:—, Abschnitt 7, oder
- c) ein *in-vitro* Maus-Lymphoma-tk-Test (OECD 476), angepasst für Medizinprodukte, einschließlich Bestimmung des Verhältnisses von kleinen und großen Kolonien, siehe ISO/TR 10993-33:—, Abschnitt 9, oder
- d) ein *in-vitro* Säugerzell Mikrokernstest für Chromosomenschäden und Aneugenität (OECD 487), angepasst für Medizinprodukte, siehe ISO/TR 10993-33:—, Abschnitt 8.

Wenn zusätzliche wichtige Faktoren (wie z.B. genotoxische Mechanismen und Pharmakokinetik), die die genotoxische Aktivität beeinträchtigen können, in Betracht gezogen werden müssen, darf in begründeten Fällen eine *in-vivo* Prüfung durchgeführt werden. Eine *in-vivo* Prüfung auf Chromosomenschädigung von hämatopoetischen Nagetierzellen kann entweder durch eine Analyse der Chromosomenaberrationen in Knochenmarkzellen oder durch Analyse von Mikrokernen in Knochenmarkzellen oder peripheren Bluterthrozyten [siehe ISO/TR 10993-33:—, Abschnitt 10 (OECD 474) oder ISO/TR 10993-33:—, Abschnitt 11 (OECD 475)].

Gegebenenfalls ist die *in-vivo*-Prüfung auf Chromosomenschäden in hämatopoetischen Nagetierzellen unter Verwendung von zwei Extrakten durchzuführen (siehe ISO 10993-12 oder Anhang A). Die bevorzugte Anwendungsrouten von polaren Trägern ist intravenös. Die bevorzugte Anwendungsrouten von nicht-polaren Trägern ist intraperitoneal.

Eine *in-vivo* Prüfung ist nicht notwendig, wenn der Anwender nachweisen kann, dass die Menge der extrahierbaren Bestandteile vom Prüfmuster geringer ist als die Menge des Materials, das eine positive Reaktion mit einem starken, gut charakterisiertem *in-vivo* Mikrokerngenotoxin hervorruft.

Ein Beispiel ist Cisplatin (CAS Nummer 15663-27-1), welches eine positive Reaktion bei 0,3 mg/kg gezeigt hat, siehe Literaturhinweis [35].

5.2.3 Follow-up-Bewertung

Wenn eine Genotoxizitätsprüfung in Übereinstimmung mit 5.2.2 durchgeführt wird und die Ergebnisse der zwei *in-vitro* Prüfungen negativ sind, ist eine weitere Genotoxizitätsprüfung an Tieren nicht notwendig.

Wenn irgendeine Prüfung positiv ist, ist das folgende stufenweise Verfahren anzuwenden (siehe auch Anhang B).

Schritt 1: Identifizierung von Störfaktoren in den Ergebnissen der initial durchgeführten Genotoxizitätsprüfungen, falls verfügbar.

- a) Identifizierung von Störfaktoren (z. B. nichtphysiologische Bedingungen, Wechselwirkung zwischen Prüfartikel und Kulturmedium, Autooxidation und Zytotoxizität).
- b) Identifizierung von Auswirkungen auf den Stoffwechsel (z. B. Art des exogenen metabolischen Systems, Art des metabolischen Profils, spezifische Metaboliten).
- c) Identifizierung von Verunreinigungen durch chemische Charakterisierung (d. h. Untersuchung oder analytische Prüfungen der Materialbestandteile).

Schritt 2: Beurteilung der Beweiskraft (WOE) der Daten unter Berücksichtigung des Wirkmechanismus (MOA).

- a) Direkter DNA-reaktiver gegenüber nicht-direkt DNA-reaktiver Wirkmechanismus.
- b) Aneuploidie- und Polyploidie-Aspekte. Ist ein Aneuploidie-Mechanismus beteiligt?

Schritt 3: Entscheidungspunkt.

Bestimmung, ob der Extrakt des Medizinproduktes oder die relevante Chemikalie ein Genotoxin ist und ob

- a) die Interpretation der Ergebnisse und die WOE/MOA-Analyse im Rahmen einer toxikologischen Risikobewertung ein angesichts der erwarteten Nutzung geringes/vernachlässigbares Risiko für den Patienten zeigt, oder
- b) die Interpretation der Ergebnisse und die WOE/MOA-Analyse im Rahmen einer toxikologischen Risikobewertung ein angesichts der erwarteten Nutzung potenzielles Risiko für den Patienten vermuten lässt.

Wenn die Bestimmung a) ergibt, sind keine weiteren zusätzlichen Prüfungen oder Auswertungen erforderlich.

Wenn die Bestimmung b) ergibt, ist mit Schritt 4 fortzufahren.

Schritt 4: Durchführung des Risikomanagements.

Bei Annahme einer genotoxischen Gefährdung, sind die Risiken dieser Gefährdung zu beachten oder die angemessene *in-vitro* und/oder *in-vivo* Follow-up Prüfung auszuwählen.

Schritt 5: Auswahl und Durchführung von zusätzlichen *in-vitro* und/oder *in-vivo*-Prüfungen

Jede *in-vivo*-Prüfung muss auf der Grundlage des am besten geeigneten Endpunkts, der in den *in-vitro*-Prüfungen ermittelt wurde, ausgewählt werden.

Allgemein angewendete *in-vivo*-Prüfungen sind

- Mikrokerntest in Nagern (OECD 474),
- Metaphaseanalyse im Knochenmark von Nagern (OECD 475),
- Transgene Mutagenitätstests (OECD 488).

Die Entscheidung, welches das am besten anwendbare Prüfsystem ist, muss begründet und dokumentiert werden.

ANMERKUNG Seit kurzem ist eine OECD-Richtlinie für die Prüfung von Chemikalien in der Entstehung, die die alkalische Einzelzell Gelelektrophorese (COMET) Prüfung für die Genotoxizitätsprüfung beschreibt. Diese Prüfung könnte sich als wertvoll für die Prüfung von Medizinprodukten erweisen, aber zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieser Internationalen Norm war die OECD-Richtlinie noch nicht veröffentlicht.¹⁾

In einem Versuch ist nachzuweisen, dass die Prüfsubstanz das Zielorgan erreicht hat. Für den Mikrokerntest und die Metaphaseanalyse im Knochenmark von Nagern kann die Bioverfügbarkeit durch einen der folgenden Ansätze nachgewiesen werden

- analytische Quantifizierung spezifischer Extraktverbindungen im Blut oder Serum,
- durch den Prüfextrakt induzierte Zytotoxizität in den Knochenmarkszellen,
- intravenöser Applikationsweg (für polare Träger).

1) OECD Draft-Guideline for the testing of chemicals – In vivo Mammalian Alkaline Comet Assay, available at: <http://www.oecd.org/>