

	DIN EN ISO 10993-6	
ICS 11.100.20	<div>Entwurf</div>	Einsprüche bis 2024-07-24 Vorgesehen als Ersatz für DIN EN ISO 10993-6:2017-09
<p>Biologische Beurteilung von Medizinprodukten – Teil 6: Prüfungen auf lokale Effekte nach Implantationen (ISO/DIS 10993-6:2024); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 10993-6:2024</p> <p>Biological evaluation of medical devices – Part 6: Tests for local effects after implantation (ISO/DIS 10993-6:2024); German and English version prEN ISO 10993-6:2024</p> <p>Évaluation biologique des dispositifs médicaux – Partie 6: Essais concernant les effets locaux après implantation (ISO/DIS 10993-6:2024); Version allemande et anglaise prEN ISO 10993-6:2024</p> <p>Anwendungswarnvermerk</p> <p>Dieser Entwurf mit Erscheinungsdatum 2024-05-24 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.</p> <p>Weil das beabsichtigte Dokument von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.</p> <p>Stellungnahmen werden erbeten</p> <ul style="list-style-type: none">– vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;– oder als Datei per E-Mail an nafuo@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;– oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Feinmechanik und Optik (NAFuO), Alexander-Wellendorff-Str. 2, 75172 Pforzheim. <p>Es wird gebeten, mit den Kommentaren zu diesem Entwurf jegliche relevanten Patentrechte, die bekannt sind, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.</p> <p>Gesamtumfang 108 Seiten</p> <p>DIN-Normenausschuss Feinmechanik und Optik (NAFuO)</p>		

Nationales Vorwort

Das Dokument prEN ISO 10993-6:2024 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).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

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

- Teil 1: Beurteilung und Prüfungen im Rahmen eines Risikomanagementsystems
- Teil 2: Tierschutzbestimmungen
- Teil 3: Prüfungen auf Gentoxizität, 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 8: Auswahl und Eignung von Referenzmaterialien für biologische Prüfungen
- Teil 9: Rahmen zur Identifizierung und Quantifizierung von möglichen Abbauprodukten
- Teil 10: Prüfungen auf 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 Substanzen
- Teil 17: Toxikologische Risikobewertung von Medizinproduktbestandteilen
- Teil 18: Chemische Charakterisierung von Werkstoffen für Medizinprodukte im Rahmen eines Risikomanagementsystems

— Teil 23: Prüfungen auf Irritation

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

ISO 5832-1	siehe	DIN EN ISO 5832-1
ISO 5832-2	siehe	DIN EN ISO 5832-2
ISO 5832-3	siehe	DIN EN ISO 5832-3
ISO 5832-5	siehe	DIN ISO 5832-5
ISO 5832-6	siehe	DIN EN ISO 5832-6
ISO 5832-7	siehe	DIN EN ISO 5832-7
ISO 5832-8	siehe	DIN EN ISO 5832-8
ISO 5834-2	siehe	DIN ISO 5834-2
ISO 7405	siehe	DIN EN ISO 7405
ISO 10993-1	siehe	DIN EN ISO 10993-1
ISO 10993-2	siehe	DIN EN ISO 10993-2
ISO 10993-4	siehe	DIN EN ISO 10993-4
ISO 10993-9:2019	siehe	DIN EN ISO 10993-9:2022-03
ISO 10993-11	siehe	DIN EN ISO 10993-11
ISO 10993-12:2021	siehe	DIN EN ISO 10993-12:2021-08
ISO 10993-16	siehe	DIN EN ISO 10993-16
ISO 11979-5	siehe	DIN EN ISO 11979-5
ISO 15798	siehe	DIN EN ISO 15798

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 10993-6:2017-09 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) informative Elemente zum Anwendungsbereich wurden in einen neuen Einleitungsabschnitt verschoben;
- b) neue Definitionen für „Vergleichsmaterial“, „Probenstück“, „Euthanasie“, „lokaler Effekt“, „Markierung der Implantationsstelle“ und „Gleichgewichtszustand“ wurden dem Abschnitt 3 hinzugefügt;
- c) ein neuer Absatz zur Verwendung von kleineren, für die Zusammensetzung repräsentativen Proben oder Probenstücken wurde zu 4.2.2 hinzugefügt;
- d) 4.3 „Auswahl von Kontrollmaterialien“ wurde neu hinzugefügt;
- e) Abschnitt 4 und Abschnitt 5 wurden überarbeitet;
- f) ein neuer Anhang E „Prüfverfahren für Produkte, die peripheres Nervengewebe berühren“ und Anhang G „Mikroskopische Beurteilung von Gewebereaktionen auf implantierte Materialien“ wurden hinzugefügt;
- g) der frühere Anhang E wurde nach Anhang F verschoben;
- h) Einträge der Literaturhinweise wurden aktualisiert;
- i) das Dokument wurde redaktionell überarbeitet.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 5832-1, *Chirurgische Implantate — Metallische Werkstoffe — Teil 1: Nichtrostender Stahl*

DIN EN ISO 5832-2, *Chirurgische Implantate — Metallische Werkstoffe — Teil 2: Unlegiertes Titan*

DIN EN ISO 5832-3, *Chirurgische Implantate — Metallische Werkstoffe — Teil 3: Titan 6-Aluminium 4-Vanadium Knetlegierung*

DIN EN ISO 5832-6, *Chirurgische Implantate — Metallische Werkstoffe — Teil 6: Kobalt-Nickel-Chrom-Molybdän-Schmiedelegerung*

DIN EN ISO 5832-7, *Chirurgische Implantate — Metallische Werkstoffe — Teil 7: Schmiedbare und kaltumformbare Cobalt-Chrom-Nickel-Molybdän-Eisenlegierung*

DIN EN ISO 5832-8, *Chirurgische Implantate — Metallische Werkstoffe — Teil 8: Kobalt-Nickel-Chrom-Molybdän-Wolfram-Eisen-Schmiedelegerung*

DIN EN ISO 7405, *Zahnheilkunde — Beurteilung der Biokompatibilität von in der Zahnheilkunde verwendeten Medizinprodukten*

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 10993-4, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 4: Auswahl von Prüfungen zur Wechselwirkung mit Blut*

DIN EN ISO 10993-9:2022-03, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 9: Rahmen zur Identifizierung und Quantifizierung von möglichen Abbauprodukten (ISO 10993-9:2019); Deutsche Fassung EN ISO 10993-9:2021*

DIN EN ISO 10993-11, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 11: Prüfungen auf systemische Toxizität*

DIN EN ISO 10993-12:2021-08, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 12: Probenvorbereitung und Referenzmaterialien (ISO 10993-12:2021); Deutsche Fassung EN ISO 10993-12:2021*

DIN EN ISO 10993-16, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 16: Entwurf und Auslegung toxikokinetischer Untersuchungen hinsichtlich Abbauprodukten und herauslösbaren Substanzen*

DIN EN ISO 11979-5, *Ophthalmische Implantate — Intraokularlinsen — Teil 5: Biokompatibilität*

DIN EN ISO 15798, *Ophthalmische Implantate — Viskoelastische Substanzen*

DIN ISO 5832-5, *Chirurgische Implantate — Metallische Werkstoffe — Teil 5: Kobalt-Chrom-Wolfram-Nickel-Schmiedelegerung*

DIN ISO 5834-2, *Chirurgische Implantate — Ultrahochmolekulares Polyethylen — Teil 2: Halbzeuge*

Biologische Beurteilung von Medizinprodukten – Teil 6: Prüfungen auf lokale Effekte nach Implantationen (ISO/DIS 10993-6:2024)

Biological evaluation of medical devices – Part 6: Tests for local effects after implantation (ISO/DIS 10993-6:2024)

Évaluation biologique des dispositifs médicaux – Partie 6: Essais concernant les effets locaux après implantation (ISO/DIS 10993-6:2024)

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	11
1 Anwendungsbereich	12
2 Normative Verweisungen	12
3 Begriffe	12
4 Allgemeine Festlegungen zu Prüfverfahren bei Implantationen	14
4.1 Allgemeines	14
4.2 Probenherstellung für die Implantation	14
4.3 Auswahl von Kontrollmaterialien	15
5 Allgemeine Gesichtspunkte und Anforderungen an die Implantationsprüfung	16
5.1 Gewebe und Implantationsstelle	16
5.2 Tiermodell	16
5.3 Prüfzeiträume	17
5.4 Chirurgischer Eingriff und Prüfbedingungen	19
5.5 Beurteilung	20
5.5.1 Allgemeines	20
5.5.2 Makroskopische Beurteilung	21
5.5.3 Entnahme des Implantats und Sammeln einer Gewebeprobe	21
5.5.4 Mikroskopische Bewertung	22
5.5.5 Beurteilung von Reaktionen	23
6 Prüfbericht	23
6.1 Allgemeines	23
6.2 Prüflabor	23
6.3 Prüfmuster/Implantat	24
6.4 Versuchstiere und Implantation	24
6.5 Implantatentnahme und histologisches Verfahren	24
6.6 Makroskopische und mikroskopische Beurteilung	24
6.7 Abschließende Beurteilung	25
Anhang A (normativ) Prüfverfahren für die Implantation in subkutanem Gewebe	26
A.1 Anwendungsbereich	26
A.2 Kurzbeschreibung	26
A.3 Prüfmuster	26
A.4 Versuchstiere und Implantationsstellen	26
A.5 Implantationsverfahren	27
A.5.1 Allgemeines	27
A.5.2 Implantation entlang der dorsalen Mittellinie	27
A.5.3 Implantation im Nacken	27
A.6 Implantationszeitraum	27
A.7 Beurteilung der biologischen Reaktion	27
A.8 Prüfbericht	28
Anhang B (normativ) Prüfverfahren für die Implantation in Muskeln	29
B.1 Anwendungsbereich	29
B.2 Kurzbeschreibung	29
B.3 Prüfmuster	29
B.4 Versuchstiere und Implantationsstellen	29
B.5 Implantationsverfahren	30
B.6 Implantationszeitraum	30

B.7	Beurteilung der biologischen Reaktion	30
B.8	Form des Prüfberichts	30
Anhang C	(normativ) Prüfverfahren für die Implantation in Knochen	31
C.1	Anwendungsbereich	31
C.2	Kurzbeschreibung	31
C.3	Prüfmuster	31
C.3.1	Allgemeines	31
C.3.2	Form der Implantatprüfmuster	31
C.3.3	Größe der Prüfmuster	31
C.4	Versuchstiere und Implantationsstellen	32
C.4.1	Versuchstiere	32
C.4.2	Implantationsstellen	32
C.5	Implantationsverfahren	33
C.6	Implantationszeitraum	33
C.7	Beurteilung der biologischen Reaktion	33
C.8	Prüfbericht	33
Anhang D	(normativ) Prüfverfahren für Implantation in Hirngewebe	34
D.1	Anwendungsbereich	34
D.2	Kurzbeschreibung	34
D.3	Prüfmuster	34
D.3.1	Allgemeines	34
D.3.2	Implantatgröße und -form	34
D.4	Versuchstiere und Implantationsstellen	35
D.4.1	Versuchstiere	35
D.4.2	Implantationsstellen	35
D.5	Implantationsverfahren	35
D.6	Implantationszeitraum	36
D.7	Beobachtungen nach der Implantation	36
D.8	Beurteilung der biologischen Reaktion	36
D.9	Prüfbericht	38
Anhang E	(normativ) Prüfverfahren für Produkte, die peripheres Nervengewebe berühren	39
E.1	Anwendungsbereich	39
E.2	Kurzbeschreibung	39
E.3	Prüfmuster und Kontrollprüfmuster	39
E.3.1	Allgemeines	39
E.3.2	Implantatgröße und -form	40
E.4	Tiermodelle und Implantationsstellen	40
E.4.1	Tiermodelle	40
E.4.2	Implantationsstellen	40
E.5	Implantationsverfahren	41
E.6	Implantationszeitraum	41
E.7	Beobachtungen nach der Implantation	41
E.8	Beurteilung der biologischen Reaktion	42
E.9	Prüfbericht	42
Anhang F	(informativ) Beispiele für Punktbewertungssysteme, die zur Unterstützung der Beurteilung lokaler biologischer Effekte nach Implantation eingesetzt werden	43
F.1	Allgemeines	43
F.2	Schlussfolgerung	45
F.3	Kommentare	45
Anhang G	(informativ) Mikroskopische Beurteilung von Gewebereaktionen auf implantierte Materialien	47
G.1	Allgemeines	47
G.2	Herstellung von Gewebeschnitten	48
G.3	Beurteilung der Implantat-Gewebe-Schnittstelle und peri-implantärer Gewebe	48
G.4	Bilder	50
G.5	Lymphknoten	50
G.6	Beurteilung der Resorption/des Abbaus eines Implantats	50

Literaturhinweise	52
-----------------------------	----

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, um die Konformitätsvermutung, wie in diesem Anhang ZA beschrieben, zu begründen	8
Tabelle 1 — Mögliche Prüfzeiträume bei Langzeitimplantation von Materialien	19
Tabelle D.1 — Beispiel für Gehirn-Biomarker und Farbmittel	37
Tabelle F.1 — Beispiel eines histologischen Bewertungssystems — Zelltyp/Reaktion	44
Tabelle F.2 — Beispiel eines histologischen Bewertungssystems — Gewebereaktion	44
Tabelle F.3 — Beispiel eines halbquantitativen Punktbewertungssystems	44
Tabelle F.4 — Ein Beispiel eines histologischen Bewertungssystems — Nervengewebereaktion	46
Tabelle G.1 — Beispiel 1: Histopathologische Punktbewertungsskala und Bewertungskriterien für den Produktabbau	51
Tabelle G.2 — Beispiel 2: Mikroskopische Punktbewertungskriterien für die Produktresorption	51

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 10993-6:2024) 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.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 10993-6:2016 ersetzen.

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

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

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 10993-6:2024 wurde von CEN als prEN ISO 10993-6:2024 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

Grundlegende Sicherheits- und Leistungsanforderungen der Verordnung (EU) 2017/745	Abschnitt(e)/Unterabschnitt(e) dieser EN	Erläuterungen/Anmerkungen
10.1 [(a), (b), (c), (d) und (g)]	4, 5 und 6, und Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D und Anhang E	Anforderungen 10.1 [(a), (b), (c), (d) und (g)] werden von diesem Dokument nur teilweise abgedeckt, da die Norm keine Anforderungen an die Auslegung und Herstellung enthält. Diese Norm stellt jedoch ein Mittel zur Verfügung, um die Wechselwirkungen von Medizinprodukten mit Gewebe nach Implantationen zu bewerten. Toxizität als systemische Auswirkung wird nur abgedeckt, wenn die Studie entsprechend ausgelegt ist. Die Leistung des Medizinprodukts in Bezug auf mechanische Belastung oder funktionale Leistung wird nicht abgedeckt. Die Entflammbarkeit wird nicht abgedeckt. Die Auswahl und Anwendung der entsprechenden Anhänge sollte nach 5.1.1 erfolgen.
10.2	4, 5 und 6, und Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D und Anhang E	Anforderung 10.2 wird von diesem Dokument nur teilweise abgedeckt, da die Norm keine Anforderungen an die Auslegung, Herstellung und Verpackung enthält. Diese Norm stellt jedoch ein Mittel zur Verfügung, um Wechselwirkungen von Verunreinigungen und Rückständen von Medizinprodukten mit dem Gewebe zu bewerten. Die Auswahl und Anwendung der entsprechenden Anhänge sollte nach 5.1.1 erfolgen.
10.4.1 (erster Absatz)	4, 5 und 6, und Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D und Anhang E	Anforderung 10.4.1 (erster Absatz) wird von diesem Dokument nur teilweise abgedeckt, da die Norm keine Anforderungen an die Auslegung und Herstellung enthält. Diese Norm stellt jedoch ein Mittel zur Verfügung, um Wechselwirkungen von Verunreinigungen und Rückständen von Medizinprodukten mit dem Gewebe zu bewerten. Die Auswahl und Anwendung der entsprechenden Anhänge sollte nach 5.1.1 erfolgen.
10.6	4, 5 und 6, und Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D und Anhang E	Anforderung 10.6 wird von diesem Dokument nur teilweise abgedeckt, da die Norm keine Anforderungen an die Auslegung und Herstellung enthält. Diese Norm stellt jedoch ein Mittel zur Verfügung, um die Eigenschaften von Partikeln zu bewerten, die im Körper des Patienten freigesetzt werden oder freigesetzt werden können. Es wird kein Leitfaden zur Größenbestimmung und zu Nanomaterialien angegeben. Die Auswahl und Anwendung der entsprechenden Anhänge sollte nach 5.1.1 erfolgen.

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

Spalte 1 Verweisung in Abschnitt 2	Spalte 2 Ausgabe der Internationalen Norm	Spalte 3 Titel	Spalte 4 Entsprechende Ausgabe der Europäischen Norm
ISO 10993-1	ISO 10993-1:2018	Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing within a risk management process	EN ISO 10993-1:2020
ISO 10993-2	ISO 10993-2:2022	Biological evaluation of medical devices — Part 2: Animal welfare requirements	EN ISO 10993-2:2022
ISO 10993-4	ISO 10993-4:2017	Biological evaluation of medical device — Part 4: Selection of tests for interactions with blood	EN ISO 10993-4:2017
ISO 10993-12:2021	ISO 10993-12:2021	Biological evaluation of medical devices — Part 12: Sample preparation and reference materials	EN ISO 10993-12:2021
ISO 10993-16	ISO 10993-16:2017	Biological evaluation of medical devices — Part 16: Toxicokinetic study design for degradation products and leachables	EN ISO 10993-16:2017

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 Normausgabe oder, wenn keine Ausgabe einer Europäischen Norm existiert, der in Spalte 2 der Tabelle ZA.2 angegebenen Ausgabe der Internationalen Norm.

WARNHINWEIS 1 — Die Konformitätsvermutung bleibt nur bestehen, solange 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-Directives, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Directives, 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.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe 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 10993-6:2016), die technisch überarbeitet wurde.

Die wesentlichen Änderungen sind folgende:

- informative Elemente zum Anwendungsbereich wurden in einen neuen Einleitungsabschnitt verschoben;
- neue Definitionen für „Vergleichsmaterial“, „Probenstück“, „Euthanasie“, „lokaler Effekt“, „Markierung der Implantationsstelle“ und „Gleichgewichtszustand“ wurden dem Abschnitt 3 hinzugefügt;
- ein neuer Absatz zur Verwendung von kleineren, für die Zusammensetzung repräsentativen Proben oder Probenstücken wurde zu 4.2.2 hinzugefügt;
- 4.3 „Auswahl von Kontrollmaterialien“ wurde neu hinzugefügt;
- Abschnitt 4 und Abschnitt 5 wurden überarbeitet;
- ein neuer Anhang E „Prüfverfahren für Produkte, die peripheres Nervengewebe berühren“ und Anhang G „Mikroskopische Beurteilung von Gewebereaktionen auf implantierte Materialien“ wurden hinzugefügt;

E DIN EN ISO 10993-6:2024-06
prEN ISO 10993-6:2024 (D)

- der frühere Anhang E wurde nach Anhang F verschoben;
- Einträge der Literaturhinweise wurden aktualisiert;
- das Dokument wurde redaktionell überarbeitet.

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

Das Ziel der Implantationsprüfverfahren ist die Charakterisierung der lokalen Gewebereaktion nach Implantation eines Medizinproduktes bzw. Materials, einschließlich der endgültigen Aufnahme, des Abbaus oder der Absorption in einem geeigneten Tiermodell.

Das Prüfmuster wird an einer anatomischen Stelle implantiert, die für die Beurteilung der lokalen Effekte des Medizinproduktes (oder eines Teils davon) in einem Tier geeignet ist.

Die lokalen Effekte des Medizinproduktmaterials werden durch einen Vergleich der durch ein Prüfmuster hervorgerufenen Gewebereaktion mit der durch in Medizinprodukten verwendete Kontrollmaterialien hervorgerufenen Gewebereaktion beurteilt, deren klinische Vertretbarkeit und deren Merkmale der Bioverträglichkeit festgestellt worden sind.

Langzeittierstudien, die für die Beurteilung lokaler biologischer Effekte ausgelegt wurden, könnten einen Einblick in einige dieser Eigenschaften (beispielsweise systemische Toxizität, Karzinogenität, Teratogenität oder Mutagenität) vermitteln. Ein sorgfältiger Studienaufbau kann andere maßgebliche Endpunkte einschließen, um die Anzahl der zum Erreichen aller Studienziele verwendeten Tiere zu reduzieren. Beispielsweise könnte eine systemische Toxizitätsstudie, die so ausgelegt ist, dass sie die Verfahren und Ergebnisse der Implantationsprüfung einschließt, den Anforderungen in diesem Dokument und in ISO 10993-11 genügen, wenn die Anforderungen beider Dokumente erfüllt werden.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt Anforderungen für Implantationsprüfverfahren fest zur vorklinischen Beurteilung lokaler Effekte nach der Implantation von Materialien, die zur Verwendung in Medizinprodukten vorgesehen sind. Um lokale Gewebereaktionen auf Medizinprodukte zu bewerten, die für einen Einsatz vorgesehen sind, bei dem die Haut oder Schleimhaut unterbrochen wird, ist dieses Dokument bei Bedarf anwendbar.

Dieses Dokument gilt für Medizinprodukte/Materialien, die eine Implantationsprüfung erfordern und die fest oder nicht fest (beispielsweise poröse Materialien, Flüssigkeiten, Gels, Pasten, Puder und Partikel) sein können, die resorbierbar/abbaufähig oder nicht resorbierbar sein können oder die durch Tissue Engineering hergestellte medizinische Produkte (TEMPs) sein können.

Diese Implantationsprüfungen sind nicht dazu vorgesehen, die Leistung des Prüfmusters im Sinne der mechanischen Belastbarkeit oder funktionellen Leistung zu bewerten oder zu ermitteln. Dieses Dokument stellt auch keinen Leitfaden zu Verfahren oder zum Studienaufbau bereit, um Anforderungen bezüglich systemischer Toxizität, Karzinogenität, Teratogenität oder Mutagenität zu erfüllen. Die Studienaufbauten können jedoch modifiziert werden, um auch andere Biokompatibilitätseffekte zu bewerten.

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 10993-4, *Biological evaluation of medical devices — Part 4: Selection of tests for interactions with blood*

ISO 10993-12:2021, *Biological evaluation of medical devices — Part 12: Sample preparation and reference materials*

ISO 10993-16, *Biological evaluation of medical devices — Part 16: Toxicokinetic study design for degradation products and leachables*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach ISO 10993-1, ISO 10993-2, ISO 10993-12, ISO 10993-16 und die folgenden Begriffe.

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

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

3.1 resorbieren

Wirkung eines/einer nichtendogenen (fremden) Materials oder Substanz oder ihrer Abbauprodukte, die durch Zellen und/oder Gewebe über einen Zeitraum durchgeleitet oder assimiliert werden

3.2

vergleichende Kontrolle

Medizinprodukt, für das eine medizinische Vorgeschichte der sicheren Anwendung bekannt ist und das zum Vergleich mit einem neuen Medizinprodukt verwendet werden darf, für das eine behördliche Zulassung erlangt werden soll

3.3

Probenstück

kleineres, bezüglich der Zusammensetzung repräsentatives Muster eines komplexeren und/oder größeren Produkts, das die gleichen Materialien, Oberflächenbeschichtungen und Verarbeitungen umfasst wie das endgültige, fertige Produkt

3.4

Abbau

Zersetzung eines Materials

[QUELLE: ISO 10993-9:2019, 3.1]

3.5

Abbauprodukt

Zwischen- oder endgültige Substanz, welche durch physische, metabolische und/oder chemische Zersetzung eines Materials oder einer Substanz entstanden ist

[QUELLE: ISO/TS 37137-1:2021, 3.2, modifiziert – „Mittel“ wurde durch „Substanz“ ersetzt.]

3.6

abbauen

Material oder eine Substanz physisch, metabolisch und/oder chemisch zersetzen

[QUELLE: ISO/TS 37137-1:2021, 3.3]

3.7

Euthanasie

humane Tötung eines Tiers mit einem Verfahren, das ein auf ein Minimum begrenztes Maß von physischem und mentalem Leid verursacht

[QUELLE: ISO 10993-2:2022, 3.5]

3.8

lokale Effekte

Gewebereaktionen auf ein implantiertes Prüfmuster, die am Ort der Prüfmustereinbringung oder -implantation durch eine pathologische Übersichtsuntersuchung oder durch Histopathologie erkannt werden können

3.9

Markierung der Implantationsstelle

inertes, nicht resorbierbares Material, das zum Markieren der Gewebestelle verwendet wird, an der das Material implantiert wurde

3.10

Gleichgewichtszustand

biologisch stabiler Zustand, bei dem über eine Zeitspanne keine Änderung der zellulären Aktivität/Morphologie/Eigenschaften des Prüfsystems erkannt wird

4 Allgemeine Festlegungen zu Prüfverfahren bei Implantationen

4.1 Allgemeines

Vor der Entscheidung über den Einsatz von Implantationsstudien sollten Überlegungen zum geeigneten Verfahren und zum Ansatz der Implantationsstudien angestellt werden, um sicherzustellen, dass die erfassten Daten Bedenken bezüglich der biologischen Reaktivität abdecken. Es sollte eine Beurteilung der erforderlichen Arten von Daten und der geeignetsten Art für deren Erhebung durchgeführt werden, um die allgemeinen Rahmenbedingungen der Normenreihe ISO 10993 einzuhalten, dass keine Tierversuche durchgeführt werden sollten, es sei denn, die Daten können nicht auf andere Weise erhoben werden. Es ist wichtig, dass die Untersuchung ausreichend detailliert geplant wird, sodass alle maßgeblichen Informationen aus der Verwendung jedes Versuchstieres und jeder Untersuchung erhalten werden können (siehe ISO 10993-2, ISO 10993-11 und ISO 10993-16).

Alle Tierversuche müssen in einer durch eine national anerkannte Organisation genehmigten Einrichtung und nach allen entsprechenden Vorschriften über den Tierschutz bei Laboratoriumstieren durchgeführt werden, um den Anforderungen nach ISO 10993-2 zu entsprechen. Diese Versuche müssen nach der Guten Laboratoriumspraxis oder anderen anerkannten Qualitätssicherungssystemen durchgeführt werden.

Die Bestimmungen in diesem Abschnitt gelten für die in Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D und Anhang E festgelegten Prüfverfahren.

4.2 Probenherstellung für die Implantation

4.2.1 Das Prüfmuster und die Kontrollprobe sollten sich im endgültig fertiggestellten Zustand befinden, wie in ISO 10993-12 beschrieben. Größe und Form des Implantats müssen begründet und dokumentiert werden. Für bestimmte Produkte kann eine klinisch maßgebliche Dosierung in Betracht gezogen werden. Eine Begründung sollte vorliegen, um die Nachahmung einer klinisch maßgeblichen Dosis in der Implantationsstudie nachzuweisen.

Prüfmuster für unterschiedliche Implantationsstellen sind in Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D und Anhang E beschrieben. Physikalische Eigenschaften (wie Form, Dichte, Härte, Oberflächenporosität und Textur), geometrische Eigenschaften (Form und Größe) und die Zusammensetzung können die Art der Gewebereaktion auf das zu prüfende Material beeinflussen und müssen aufgezeichnet werden und sind bei der Charakterisierung der Reaktion zu berücksichtigen. Kontrollproben sollten so nah wie möglich mit den physikalischen Eigenschaften und geometrischen Merkmalen der Prüfmuster übereinstimmen. Andernfalls kann ein gut beschriebenes Material mit einer gut beschriebenen Reaktion verwendet werden, wie beispielsweise Polyethylen hoher Dichte (HDPE).

Zusätzliche Kontrollproben dürfen in die Studie einbezogen werden, um die Interpretation von Gewebeproben zu unterstützen (z. B. sollte im Fall kombinierter Medikamente eine zusätzliche Kontrolle, beispielsweise mit einem Placeboprodukt (ohne Medikament), in Betracht gezogen werden).

4.2.2 Jedes Implantat muss nach dem für das Endprodukt vorgesehenen Verfahren hergestellt, bearbeitet, von Verunreinigungen gereinigt und sterilisiert werden, und dies ist in der Versuchsdokumentation nachzuweisen. Nach abgeschlossener Probenherstellung und -sterilisation müssen die Implantatproben aseptisch und derart behandelt werden, dass sichergestellt ist, dass sie vor oder während der Implantation nicht auf irgendeine Weise beschädigt oder verunreinigt werden können.

Die Verwendung kleinerer Prüfmuster oder Probenstücke, die mit den in ISO 10993-12 beschriebenen Anforderungen übereinstimmen, kann maßgeblich sein, wenn das zu prüfende Medizinprodukt aufgrund seiner Größe oder komplexen Geometrie nicht im Ist-Zustand geprüft werden kann. Die Prüfmuster oder Probenstücke müssen alle das Gewebe berührenden Materialien und Oberflächenbeschichtungen enthalten, wie auch das endgültige, fertige Medizinprodukt. Bei Medizinprodukten, die aus zwei oder mehr unterschiedlichen Materialien bestehen, sollten die implantierten Prüfmuster eine ähnliche Zusammensetzung und Oberflächenbeschichtung wie das Endprodukt aufweisen und jedes einzelne Material beinhalten. Alternativ kann es bei mehreren Materialien erforderlich sein, jedes Material und dessen entsprechende Oberflächenbeschichtung als

getrenntes Probenstück zu implantieren. Die Möglichkeit von synergistischen Effekten oder Wechselwirkungen der verschiedenen Materialien im Endprodukt muss bei der Auswahl des Prüfmusters berücksichtigt werden.

ANMERKUNG Siehe entsprechende Anhänge bezüglich Leitfäden zur Anzahl der Prüf- und Kontrollprüfmuster für jedes Material und jeden Implantationszeitraum.

4.2.3 Bei Materialien, die als Gerüst für mit Geweben hergestellte Medizinprodukte verwendet werden, kann es angebracht sein, nicht das endgültig hergestellte, Zellen und/oder Proteine enthaltende Produkt zu verwenden. Die Immunreaktion des Labortiers auf menschliche Zell-/Proteinbestandteile solcher Produkte und die Reaktion der Zellen auf das Tier kann die sich ergebende lokale Gewebereaktion beeinflussen und eine Auswertung erschweren.

ANMERKUNG Die Implantation in ein immundefizientes Tier, beispielsweise ein athymisches Nagetier, kann eine Option sein, um xenoplastische Reaktionen zu vermeiden, falls dies gerechtfertigt ist.

4.2.4 Bei Produkten aus Mehrkomponentenmaterialien, die dafür vorgesehen sind, vor dem Einsetzen auszuhärten, müssen die einzelnen Komponenten vor der Verwendung gemischt werden und vor der Implantation aushärten gelassen werden. Materialien, die jedoch *in situ* polymerisieren (z. B. Knochenzement, viele Dentalmaterialien, Gewebekleber und Klebstoffe), müssen so eingeführt werden, dass die Polymerisation *in situ* erfolgt. Das angewendete Verfahren muss begründet und dokumentiert werden. Wenn maßgebliche vertikale Normen vorliegen, sind diese als Leitfaden für die biologiespezifische Beurteilung heranzuziehen (z. B. ISO 15798, ISO 11979-5, ISO 7405).

4.2.6 Die Beurteilung muss durch Vergleich der Gewebereaktion mit jener auf ein ähnliches Material erfolgen, dessen klinische Vertretbarkeit und Merkmale der Bioverträglichkeit festgestellt worden sind.

ANMERKUNG Zur weiteren Anleitung siehe ISO 10993-12.

4.2.7 Die geometrischen und physikalischen Eigenschaften, wie Form und insbesondere die Oberflächenbeschaffenheit (einschließlich Porosität und Textur) des/der Kontrollmaterials/Kontrollmaterialien, sollten denen der implantierten Prüfmuster so weit wie praktisch möglich gleichen, wobei alle Abweichungen erklärt und begründet sein müssen.

4.3 Auswahl von Kontrollmaterialien

Der Prozess der Implantation eines Materials in Gewebe führt zu einem gewissen Grad an Zellreaktionen. Bei der Beurteilung der lokalen Effekte von Materialien nach der Implantation ist die Auswahl von vergleichenden Kontrollprüfmustern wichtig, um die Annehmbarkeit der beobachteten Gewebereaktion auf das Prüfmuster zu bestimmen. Die gewählte vergleichende Kontrollprobe sollte bezüglich der Gestalt- und Formeigenschaften ähnlich sein, da diese die Gewebereaktion erheblich beeinflussen können. So können beispielsweise die in ISO 10993-12:2021, Anhang A angegebenen Referenzmaterialien eine gute Kontrollprobe für feste, glatte, nicht resorbierbare Materialien darstellen. Im Gegensatz hierzu könnte die Reaktion wahrscheinlich aufgrund der abweichenden physikalischen Formeigenschaften unterschiedlich ausfallen, wenn sie zum Vergleich mit einem nicht resorbierbaren/abbaufähigen Herniennetz verwendet werden. Idealerweise sollte ein im Handel verfügbares Material als Kontrollprobe verwendet werden, so dass die Gewebereaktion ähnlich ist wie klinisch nachgewiesen. Für nicht resorbierbare Medizinprodukte/Materialien muss ein stabiles, nicht resorbierbares Vergleichsmaterial als vergleichende Kontrollprobe verwendet werden (siehe Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D und Anhang E).

Da die Gewebereaktion auf resorbierbare Materialien sich bei fortschreitendem Abbau in einem Ausmaß ändert, das sich je nach Zusammensetzung, Verarbeitung und Sterilisationsverfahren unterscheidet, sollten ähnliche resorbierbare vergleichende Kontrollproben in Betracht gezogen werden.

Für resorbierbare Medizinprodukte/Materialien sollte ein resorbierbares Medizinprodukt/Material als vergleichende Kontrollprobe verwendet werden. Die Resorptionsrate des Kontrollmaterials/Medizinprodukts sollte ähnlich sein wie beim Prüfmateri al/Medizinprodukt (siehe ISO/TS 37137-1). Alternativ kann, falls

dies gerechtfertigt ist, eine vergleichende Kontrollprobe mit nicht resorbierbarem Material bzw. nicht resorbierbaren Medizinprodukten durchgeführt werden (z. B. wenn keine klinisch maßgeblichen Kontrollproben mit resorbierbarem Material bzw. resorbierbaren Medizinprodukten vorhanden sind). Wenn eine vergleichende Kontrollprobe verwendet wird, werden zum Vergleich üblicherweise Referenzmaterialien, wie in ISO 10993-12:2021, Anhang A beschrieben, ebenfalls in das Tier implantiert; diese dienen der Verfahrenskontrolle, so dass insgesamt 3 getrennte Produkte in der Studie enthalten sind. Wenn für neuartige Materialien/Medizinprodukte kein handelsübliches Vergleichsmaterial/Medizinprodukt verfügbar ist, ist eine Kontrollprobe zu bevorzugen, die diesem möglichst nahe kommt. Die Art einer etwaigen unerwünschten Entzündungsreaktion, einer hohen Reaktivitätseinstufung oder eines ähnlichen histopathologischen Beurteilungsergebnisses sollte im Zusammenhang mit der gewählten Kontrollprobe besprochen werden. Die Wahl der Kontrollprobe muss dokumentiert und begründet werden. Wenn keine Kontrollprobe oder eine Scheinkontrollprobe verwendet wird, muss dies ebenfalls dokumentiert und begründet werden.

5 Allgemeine Gesichtspunkte und Anforderungen an die Implantationsprüfung

5.1 Gewebe und Implantationsstelle

5.1.1 Das Prüfmuster muss in die Gewebe implantiert werden, die für die vorgesehene klinische Anwendung des Materials am bedeutsamsten sind. Die Begründung für die Wahl der Probenanzahl, des Gewebes, der Implantationsstellen und des Prüfzeitraums muss dokumentiert werden. Prüfverfahren für verschiedene Implantationsstellen sind in Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D und Anhang E angegeben. Wenn andere Implantationsstellen gewählt werden, müssen die allgemeinen wissenschaftlichen Prinzipien befolgt werden, die die Grundlage der in Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D und Anhang E beschriebenen Prüfverfahren bilden, und es muss eine Begründung für die Auswahl einer anatomischen Implantationsstelle vorliegen, die nicht mit dem Einsatzbereich des Produkts übereinstimmt.

ANMERKUNG Für einige Produkte liegen vertikale Normen vor, die spezifische Implantationsstudien vorschreiben, um lokale Gewebereaktionen zu bewerten, beispielsweise für Intraokularlinsen (siehe ISO 11979-5) oder dentale Implantate (siehe ISO 7405). Diese Untersuchungen können verwendet werden, um die Anforderungen der ISO 10993-6 zu erfüllen.

5.1.2 Bei resorbierbaren Materialien muss die Implantationsstelle in einer Weise gekennzeichnet werden, die für die Erkennung der Stelle am Ende der festgelegten Zeiträume geeignet ist. Die Verwendung eines nicht invasiven, dauerhaften Hautmarkierungsstifts und/oder einer Schablone, die die Einsatzstelle des Prüfmusters kennzeichnet, wird ausschließlich für Kurzzeitstudien empfohlen. Dieses Markierungsverfahren ist von begrenztem Nutzen, da sich die äußerlich mit einem Markierungsstift angebrachte Markierung durch Hautschuppung lösen kann. Zusätzlich ist die Genauigkeit bei Markierungen von Stellen, die tiefer als die Haut liegen, bei vielen Labortieren durch die lose, stark bewegliche Haut begrenzt. In den meisten Fällen darf eine Markierung der Lage der Implantationsstelle aus einer geeigneten nicht resorbierbaren Kontrollprobe (beispielsweise aus HDPE 1 mm mal 2 mm mal 5 mm, mit PP-Faden, Goldmarkierung, Klemme) verwendet werden, um die Lage der Implantationsstelle zu identifizieren. Diese Markierungen können ohne eine Auswirkung auf das umliegende Gewebe entfernt werden und haben somit keinen Einfluss auf das histologische Ergebnis.

5.1.3 Zur Beurteilung der Auswirkungen dieses Vorgehens auf das beteiligte Gewebe könnte in Ausnahmefällen ein chirurgischer Scheineingriff verwendet werden; in diesen Fällen muss eine spezielle Begründung zur Verfügung gestellt werden. Wenn ein chirurgischer Scheineingriff durchgeführt wird, sollte für den Scheineingriff das gleiche Implantationsverfahren wie für die Prüfung oder die Kontrolle verwendet werden.

5.2 Tiermodell

5.2.1 Alle Aspekte der Pflege und Unterbringung von Versuchstieren müssen ISO 10993-2 entsprechen.

5.2.2 Tiere werden verwendet, um lokale Effekte nach einer Implantation zu beurteilen, und werden im Zusammenhang mit dem vorliegenden Dokument als Tiermodelle bezeichnet. Im Allgemeinen werden kleine Labortiere wie Mäuse, Ratten, Meerschweinchen oder Kaninchen bevorzugt. Die Verwendung größerer Tiere wie Hunde, Schafe, Ziegen oder Schweine kann auf der Grundlage spezieller wissenschaftlicher Erwägungen des Materials, das untersucht wird, oder, falls erforderlich, um der Implantatgröße bei Prüfung vollständiger Produkte Rechnung zu tragen, gerechtfertigt sein.

5.2.3 Die Tierart wird in Übereinstimmung mit den in ISO 10993-2 ausgeführten Grundsätzen unter angemessener Berücksichtigung der Größe der Implantatprüfmuster, der Anzahl der Implantate je Tier, der vorgesehenen Prüfdauer in Bezug zur Lebenserwartung der Tiere sowie möglicher artspezifischer Unterschiede der biologischen Reaktion ausgewählt. Die Anzahl der Tiere und Implantationsstellen sollte der Mindestzahl entsprechen, um die Variabilität zwischen den Implantationsstellen und den Tieren zu berücksichtigen.

5.2.4 Für Kurzzeit-Prüfungen werden üblicherweise Versuchstiere wie Nagetiere oder Kaninchen verwendet. Für Langzeit-Prüfungen eignen sich Versuchstiere wie Nagetiere, Kaninchen, Hunde, Schafe, Ziegen, Schweine und andere Tiere mit einer relativ langen Lebenserwartung.

5.2.5 Vor Beginn eines Tierversuchs mit abbaufähigen Materialien sollten entsprechende Informationen aus In-vitro-Abbau-Untersuchungen berücksichtigt werden, um den entsprechenden Entnahmezeitpunkt abzuschätzen. Bei resorbierbaren Materialien kann eine Pilotstudie an Nagetieren in Betracht gezogen werden, um die zu erwartende Abbaurate festzustellen, bevor Untersuchungen an größeren Tieren unternommen werden.

ANMERKUNG Leitfäden bezüglich der *In-vitro*-Abbaueigenschaften für hydrolysierbare Polymerkonstrukte sind in ISO 13781 und ASTM F1635 enthalten [23] und für resorbierbare Metallkonstrukte in ASTM F3268 [25]. Allgemeine Leitfäden zur Verbindung von In-vitro-Beobachtungen mit der Bestimmung der maßgeblichen In-vivo-Entnahmeintervalle sind in ISO/TS 17137:2021 zu finden (siehe Bild 2 und 5.1, 5.3, 5.4 und 5.6). Zusätzlich sind Leitfäden zur Auswahl von Implantationszeitpunkten für resorbierbare Materialien in ISO/TS 37137-1:2021, 8.7 und ASTM F1983, 8.3.1 [24] zu finden.

5.2.6 Die Prüfmuster der Prüf- und Kontrollmaterialien müssen unter den gleichen Bedingungen in Tiere der gleichen Art von gleichem Alter, Geschlecht und Stamm an einander entsprechenden anatomischen Stellen implantiert werden. Die Anzahl und Größe der in ein Versuchstier eingesetzten Implantate hängt von der Größe der Tierart und von der Anatomie der Implantationsstelle ab. Wo immer es möglich ist, sollten das Kontrollmaterial und die Prüfmuster in dasselbe Tier implantiert werden, es sei denn, in der Studie werden auch Endpunkte der systemischen Toxizität beurteilt. In Fällen, in denen sowohl Implantat- als auch systemische Toxizitätsendpunkte beurteilt werden, sollten die Kontroll- und Prüfmuster in getrennte Tiere implantiert werden. Ein Leitfaden zur Beurteilung der systemischen Toxizität ist in ISO 10993-11 zu finden.

5.2.7 Wenn jedoch Neuroimplantationsstudien (siehe Anhang D und Anhang E) durchgeführt oder wenn die lokalen Effekte nach der Implantation im Rahmen einer Untersuchung zur systemischen Toxizität durch Implantation untersucht werden, dürfen die Kontrollprüfmuster und die Prüfmuster nicht in dasselbe Tier implantiert werden. Bei histologischen Bewertungen sollten bewährte Verfahren für die Verarbeitung und Analyse von Geweben des Zentralnervensystems (siehe Anhang D) oder des peripheren Nervengewebes (siehe Anhang E und [59]) eingehalten werden.

5.3 Prüfzeiträume

5.3.1 Die Prüfzeiträume müssen mithilfe der wahrscheinlichen klinischen Expositionsdauer bestimmt werden, oder die Prüfung ist fortzuführen, bis sich ein Gleichgewichtszustand in Bezug auf die biologische Reaktion eingestellt hat bzw. darüber hinaus. Die gewählten Zeitpunkte müssen erklärt und begründet werden.

5.3.2 Die lokale biologische Reaktion auf die implantierten Materialien hängt sowohl von den Eigenschaften der Materialien als auch von der Reaktion auf das Trauma des chirurgischen Eingriffs ab. Die Gewebestruktur in unmittelbarer Nähe eines Implantats verändert sich in der Zeit nach dem chirurgischen Eingriff. In den ersten beiden Wochen nach der Implantation kann die Reaktion auf das chirurgische Vorgehen selbst schwer von der durch das Implantat hervorgerufenen Gewebereaktion zu unterscheiden sein. Die Dauer bis zum Erreichen eines Gleichgewichtszustands kann vom Gewebe und vom Produkt abhängen. Es muss eine Begründung für die Wahl des Bewertungszeitpunkts in einem spezifischen Gewebe (z. B. Muskel, Knochen) dokumentiert werden. In Muskel- und Bindegewebe ist abhängig von der Tierart, der Auslegung des Produkts und der Schwere des chirurgischen Traumas ein Gleichgewichtszustand an der Schnittstelle zwischen Gewebe und Produkt/Material (einschließlich der mikroskopischen Reifung von unreifem faserigem Gewebe und der damit zusammenhängenden Neubildung) in der Zellpopulation nach 9 Wochen bis 12 Wochen zu beobachten. Implantationen im Knochengewebe können längere Beobachtungszeiten erfordern, bevor ein Gleichgewichtszustand erreicht ist.

5.3.3 Bei nicht resorbierbaren Materialien werden die Kurzzeitreaktionen üblicherweise zwischen einer Woche bis zu vier Wochen und die Langzeitreaktionen in Prüfungen von mehr als 12 Wochen beurteilt.

5.3.4 Bei resorbierbaren Materialien muss der Prüfzeitraum im Verhältnis zur geschätzten Abbauphase des zu prüfenden Produkts an einer klinisch maßgeblichen Implantationsstelle stehen. Bei der Bestimmung der Zeitpunkte zur Probenbewertung muss eine Abschätzung der Abbauphase erfolgen. Dies kann *in vitro* in Echtzeit, durch beschleunigte Abbaustudien oder unter bestimmten Umständen durch mathematische Modellierung durchgeführt werden. Im Allgemeinen sollte die Untersuchungsdauer bis zum Zeitpunkt der kompletten Absorption oder darüber hinausgehen. Die Beurteilungsdauer resorbierbarer Materialien wird teilweise von der Abbauphase der Materialien abhängen. Die Untersuchungsintervalle sollten einen bedeutenden Teil des Abbauphases für das Implantat umfassen und müssen mindestens die folgenden Zeitpunkte beinhalten:

- a) Früher Zeitrahmen (wo kein oder nur ein minimaler Abbau) — Für resorbierbare Materialien sollte normalerweise ein Zeitintervall zwischen 1 Woche und 4 Wochen nach der Implantation gewählt werden, um den Anfang der Reaktion des Gewebes zu bewerten.

Wenn ein Produkt innerhalb von 4 Wochen nach der Implantation vollständig resorbiert wird, kann eine Kurzzeitimplantationsstudie für den Zeitpunkt der Beurteilung in Betracht gezogen werden; zusätzliche Zeiträume dürfen bei den Implantationsstudien weggelassen werden.

- b) Mittlerer Zeitrahmen (wenn ein Abbau stattfindet — Anschließende Untersuchungsintervalle für resorbierbare Produkte sollten durch das Abbauprofil des spezifischen resorbierbaren Materials gelenkt werden. Das Zielintervall sollte eine Beurteilung der histologischen Reaktion ermöglichen, wenn eine Reaktion des Gewebes voraussichtlich am ausgeprägtesten ist (z. B. eine wesentliche strukturelle Störung und/oder Fragmentierung des Produktes am wahrscheinlichsten ist). Implantate mit längerfristigen Abbauprofilen können mehrfache Bewertungszeitpunkte erfordern, mit Abständen, die auf das zu erwartende Abbauverhalten ausgerichtet sind.

Wenn ein Produkt bestehend aus mehreren Materialien mit unterschiedlichen Absorptionsraten implantiert ist, sollten die Zeitintervalle so mit einbezogen werden, dass die Abbauprofile aller Komponenten enthalten sind.

- c) Später Zeitrahmen (wenn das Implantat im Wesentlichen resorbiert ist) — Dieses Zeitintervall wird ausgewählt, um zu beobachten, ab wann nur noch geringe Mengen der resorbierbaren Komponenten an der Implantationsstelle vorzufinden sind.

Eine Übersichtsuntersuchung sowie eine mikroskopische Bewertung ist nach vollständiger Absorption des Implantates höchst wünschenswert. Bei Fehlen einer vollständigen Absorption sollten die gesammelten Daten ausreichend sein, um eine Charakterisierung der lokalen Effekte nach der Implantation durchzuführen, wenn:

- die Reaktion, Struktur und Funktion des betroffenen Gewebes einen akzeptablen und stabilen Gleichgewichtszustand erreicht hat, und
- das resorbierbare Material und/oder seine Abbauprodukte sich in einem Zustand der begrenzten visuell lichtmikroskopisch erkennbaren Anwesenheit befindet/befinden.

ANMERKUNG Der *In-vivo*-Abbau kann über einen langen Zeitraum auftreten, manchmal mehr als ein Jahr. Zusätzliche Tiere zur Verlängerung des Beobachtungszeitraums (Intervalle der „zu bestimmenden“ Gruppe) können von Vorteil sein, wenn das Implantat nicht innerhalb des erwarteten Untersuchungszeitraums vollständig resorbiert wurde.

Wenn das Material nicht vollständig innerhalb des späten Zeitrahmens resorbiert wurde, kann eine entsprechende wissenschaftliche Begründung für die Beendigung der Studie erstellt werden und der geschätzte Anteil (%) des verbleibenden resorbierbaren Materials sollte im Bericht erwähnt werden.

Langzeitstudien, die einen signifikanten Abschnitt des Abbauphases des Implantates umfassen, sind empfohlen. Die Implantation von *in vitro* vorab abgebautem Material (z. B. bis zu 50 % Masseverlust oder

Verlust der mechanischen Stabilität von 50 %) darf von Fall zu Fall in Betracht gezogen werden, um schneller späte Stadien nach der Implantation beobachten zu können. Jedoch ersetzen diese Studien keine Studien, die das Echtzeit-*in-vivo*-Abbauprofil des resorbierbaren Produktes beschreiben.

5.3.5 Die Charakterisierung des Abbauprozesses eines resorbierbaren Produktes kann nicht zur Prüfung der lokalen Effekte des gleichen resorbierbaren Materials angewendet werden, wenn es in Kombination verwendet wird: mit einem Medikament als Träger für die Freisetzung von Medikamenten, eine Trägerstruktur für durch Tissue Engineering hergestellte Produkte oder einer Oberflächenversiegelung für nicht resorbierbare Implantate. Da die Kombination von Produkten mit Medikamenten und/oder Zellen neue Probleme hervorrufen können, sollten die zuständigen Aufsichtsbehörden bezüglich des Studienprotokolls für resorbierbare Kombinationsprodukte hinzugezogen werden.

5.3.6 Obgleich dieses Dokument nicht die Fragen der systemischen Toxizität, die in ISO 10993-11 aufgeführt werden, anspricht, wird empfohlen, dass die zur Erfüllung dieses Dokuments erforderlichen Angaben aus entsprechend ausgelegten Untersuchungen zur systemischen Toxizität, bei denen Implantationen erfolgen, eingeholt werden können.

5.3.7 Für Langzeitstudien sind Beispiele für üblicherweise anerkannte Beobachtungszeiträume für nicht resorbierbare Materialien in Tabelle 1 angegeben. Die Versuchstiere sollten unter Einhaltung von ISO 10993-2 zu jedem Zeitpunkt human getötet werden. Eine fortgesetzte Entnahme unter Allgemeinanästhesie mit Gesundung kann unter bestimmten Umständen akzeptabel sein, was dokumentiert und begründet werden muss.

Tabelle 1 — Mögliche Prüfzeiträume bei Langzeitimplantation von Materialien

Tierart	Implantationszeitraum in Wochen ^a				
	13	26	52	78	104
Mäuse	X	X	X	—	—
Ratten	X	X	X	—	—
Meerschweinchen	X	X	X	—	—
Kaninchen	X	X	X	X	X
Hunde	X	X	X	X	X
Schafe	X	X	X	X	X
Ziegen	X	X	X	X	X
Schweine	X	X	X	X	X

^a Diese Implantationszeiträume werden allgemein genutzt. Dennoch können basierend auf den spezifischen Charakteristiken des Testmaterials andere Zeiträume anwendbar sein. Je nach beabsichtigter Verwendung des Prüfmateri als sind möglicherweise nicht alle Implantationszeiträume erforderlich.

5.4 Chirurgischer Eingriff und Prüfbedingungen

5.4.1 Der chirurgische Eingriff muss in Allgemeinanästhesie erfolgen. Bei Verwendung einer anderen Anästhesieart muss diese begründet sein und mit der ISO 10993-2 übereinstimmen. Die spezifischen Einsetz- oder Implantationsverfahren für die subkutane, intramuskuläre, neurale Implantation oder einer Implantation in den Knochen sind in Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D bzw. Anhang E beschrieben.

5.4.2 Die Anzahl der Implantate je Tier und die Anzahl der Tiere je Beobachtungszeitraum sind in Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D und Anhang E beschrieben. Wenn andere Implantationsstellen gewählt werden, müssen die allgemeinen wissenschaftlichen Prinzipien befolgt werden, die die Grundlage der in Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D und Anhang E beschriebenen Prüfverfahren bilden, und es muss eine Begründung für die Festlegung der Anzahl Implantate je Tier und der Anzahl Tiere je Beobachtungszeitraum angegeben werden. Eine ausreichende Anzahl Prüf- und Kontrollmuster muss implantiert werden, um sicherzustellen, dass die endgültige Anzahl der zu beurteilenden Proben valide Ergebnisse erbringt.

5.4.3 Die Operationstechnik kann das Ergebnis eines Implantationsverfahrens sehr stark beeinflussen. Der chirurgische Eingriff muss unter aseptischen Bedingungen und so ausgeführt werden, dass das Trauma an der Implantationsstelle auf ein Minimum herabgesetzt wird. Im Bereich des chirurgischen Eingriffs werden die Haare durch Scheren, Rasieren oder andere mechanische Mittel entfernt. Der freigelegte Hautbereich ist mit einem geeigneten Antiseptikum zu desinfizieren. Es ist sicherzustellen, dass die Implantate oder Wundflächen nicht mit dem Haar in Berührung kommen. Nach dem chirurgischen Eingriff wird die Wunde mit Klammern oder mit Nähten geschlossen, wobei Vorkehrungen zu treffen sind, damit der aseptische Zustand erhalten bleibt. Antibiotikaeinsatz sollte begründet sein.

5.4.4 Der Gesundheitszustand der Tiere muss während der Untersuchung in regelmäßigen Abständen täglich überwacht, beobachtet und dokumentiert werden. Nach dem chirurgischen Eingriff muss jedes Tier während des Prüfzeitraums mindestens einmal täglich überwacht und auf die Entwicklung von klinischen Anzeichen hin beobachtet werden, die eine tierärztliche Intervention und/oder eine vorzeitige Euthanasie erfordern können. Alle anomalen Befunde müssen notiert und hinsichtlich ihres möglichen Einflusses auf die erhaltenen Ergebnisse besprochen und in den Prüfberichten beschrieben werden.

5.4.5 Messungen des Körpergewichts sollten in für die jeweilige Studie geeigneten Intervallen durchgeführt werden. Die Verwendung postoperativer Analgetika muss den Anforderungen nach ISO 10993-2 entsprechen.

5.4.6 Nach Ablauf der Versuchsdauer sind die Tiere entsprechend den aktuell annehmbaren Euthanasieverfahren (siehe [60]) unter Einhaltung der Grundsätze nach ISO 10993-2 zu töten.

5.5 Beurteilung

5.5.1 Allgemeines

Die biologische Reaktion ist durch Dokumentation der klinischen Pathologiedaten (sofern verfügbar), der makroskopischen und histopathologischen Reaktionen als Funktion der Zeit zu beurteilen. Die Reaktionen des Prüfmusters sind mit denen auf dem Kontrollmaterial oder mit der durch einen Scheineingriff operierten Stelle zu vergleichen.

ANMERKUNG Die Beispiele der Punktbewertungssysteme, die in Anhang F und in den Literaturhinweisen angegeben sind, können vom Pathologen verwendet werden, um einen standardisierten Ansatz für die Bewertung zu unterstützen, aber sie sind möglicherweise nicht ausreichend, um pathologische Befunde zu dokumentieren, die eine nähere Untersuchung der Gewebereaktion erforderlich erscheinen lassen.

Ein Vergleich von Kontroll- und Prüfimplantaten an äquivalenten Stellen in Bezug auf jedes Implantat ist vorzunehmen, so dass die Auswirkung einer relativen Bewegung zwischen dem Gewebe und dem Implantat minimal ist.

Für jedes der Implantatintervalle muss eine ausreichende Anzahl von Prüf- und Kontrollproben beurteilt werden, wie in Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D und Anhang E festgelegt. Wenn andere Implantationsstellen gewählt werden, müssen die allgemeinen wissenschaftlichen Prinzipien befolgt werden, die die Grundlage der in Anhang A, Anhang B, Anhang C, Anhang D und Anhang E beschriebenen Prüfverfahren bilden, und es muss eine Begründung für die Festlegung der Anzahl zu beurteilender Implantate angegeben werden. Diese Prüf- und Kontrollproben müssen von mindestens drei verschiedenen Tieren stammen, falls in jedes Tier eine ausreichende Anzahl implantiert werden kann. Unter seltenen Umständen kann die Verwendung von nur zwei Tieren zulässig sein (z. B. bei einer Wundheilungsstudie mit mehreren Implantationsstellen bei jedem Tier). In allen Fällen muss die Anzahl der Proben je Tier dokumentiert und begründet werden.

In außergewöhnlichen Umständen, bei denen weniger als die ursprüngliche Anzahl der Implantationsstellen für eine Prüfung verfügbar sind, oder in Fällen von Tierverlust kann der prüfende Pathologe bestimmen, ob die Anzahl der Prüfstellen in ihrer Reaktion einheitlich ist, sodass eine genaue Gesamtbewertung erfolgen kann.

5.5.2 Makroskopische Beurteilung

Jede Implantationsstelle muss auf Veränderungen gegenüber der normalen Struktur untersucht werden. Das lokale, das Implantat umgebende Gewebe sollte untersucht und entnommen werden. Wenn das Prüfmuster eingekapselt ist, muss die gesamte Kapsel entnommen werden, es sei denn, es liegt eine anderweitige Begründung vor. Falls nicht, müssen mindestens 5 mm Gewebe über alle makroskopischen Läsionen an der Anwendungs- bzw. Implantationsstelle des Prüfmusters hinaus entnommen werden. Das Implantat und das umgebende Gewebe müssen für die histologischen Beurteilungen möglicherweise intakt bleiben. Zusätzlich sollten die regionalen ableitenden Lymphknoten [40] entnommen werden. Die makroskopischen Beobachtungen (z. B. Hämatome, Ödeme, Verkapselung) sind zu beschreiben. Das Vorhandensein, die Form und der Ort des Implantats einschließlich möglicher Überreste abbaufähiger Materialien sind zu dokumentieren. An den Implantationsstellen und an Stellen, an denen andere abnorme makroskopische Befunde auftreten, wird die Verwendung der makroskopischen Farbfotografie empfohlen. Zusätzlich zur Untersuchung des Implantatorts sollte jedes Mal, wenn ein Tier Anzeichen einer Erkrankung oder Reaktionen auf das Implantat aufweist, eine pathologische Übersichtsuntersuchung durchgeführt werden [63].

5.5.3 Entnahme des Implantats und Sammeln einer Gewebeprobe

Nachdem das Tier eingeschläfert wurde, ist die Implantationsstelle zusammen mit ausreichend nichtangegriffenem umgebendem Gewebe (mindestens 5 mm an Gewebe auf allen Seiten des explantierten Prüfmusters) auszuschneiden, um die Beurteilung der lokalen histopathologischen Reaktion zu ermöglichen. Dabei ist darauf zu achten, dass keine Artefakte aus der Grenzschicht zwischen Implantat und Gewebe eingebracht werden, wenn die Umhüllung aus frischem nichtfixiertem Gewebe geöffnet wird. Wenn das infrage kommende Material sich offensichtlich nicht am untersuchten Ort befindet (resorbierbare Materialien), wird der Explantationsort so ausgedehnt, dass er mehrere Millimeter normalen Gewebes an allen Seiten der erwarteten Implantationsstelle enthält. Wenn ein Implantat und dessen interessierender Bereich während der Nekropsie einfach aus seiner Höhle/Tasche entnommen werden kann, dann müssen die Befunde der frischen Gewebetasche (Exudat, Farbe, sonstige) notiert werden. Da die Entfernung von Implantaten beim Beschneiden die Ausrichtung von komplexen Produkten beeinflussen kann und durch Zusammenziehen der Fibrose die Kapseldicke beeinflusst werden kann, kann eine zusätzliche Dokumentation während der Nekropsie erforderlich sein. Eine chemische Fixierung der Implantationsstelle mit dem Test- und/oder Kontrollmaterial darf an diesem Punkt durchgeführt werden. Für die meisten Materialien und Färbungen eignet sich eine 10%ige neutral gepufferte Formalinlösung (NBF) als chemische Fixierung. Je nach Gewebeprobengröße ist eine Fixierung für 24 h bis 72 h oder länger angemessen. Sobald die chemische Fixierung beendet ist, können harte Materialien, wie Metalle oder dichte Kunststoffe vorsichtig aus der peri-implantären Kapsel entfernt werden, wenn kein substanzieller Verlust von Schnittstelleninformationen auftritt (d. h. von Material/Gewebe an der Schnittstelle zwischen Produkt und Gewebe). Die Kapsel markiert die Implantationshöhle. Einige weiche Materialien dürfen für die Bearbeitung und das Schneiden mit der Paraffin-Mikrotomie *in situ* getrimmt und behandelt werden. Dies ist der Entfernung des Implantats vorzuziehen, wenn Materialien porös sind und Gewebewachstum im Laufe der Zeit vorliegt. Es ist ein Pathologe hinzuzuziehen, um zu entscheiden, ob das Gewebe nicht vom Prüfmuster getrennt werden sollte, weil Bedenken bestehen, dass der Verlust der Schnittstelleninformation die histopathologische Interpretation behindern könnte; es kann erforderlich sein, ein Verfahren zu entwickeln, um zu entscheiden, ob ein Produkt entfernt werden kann oder für eine vollständige histologische Interpretation an Ort und Stelle belassen werden muss.

Bei nichtabbaufähigen Implantaten sollten die ableitenden Lymphknoten entnommen werden; sie können bei Bedarf für spätere histopathologische Bewertungen in NBF aufbewahrt werden. Bei abbaufähigen Implantaten sollten die ableitenden Lymphknoten entnommen werden, und es sollte eine Histopathologie der ableitenden Lymphknoten durchgeführt werden, da die Beurteilung der ableitenden Lymphknoten zum Beweis der Migration abbaufähiger Materialien wichtig ist. Die Entnahme von zusätzlichen, nicht ableitenden Lymphknoten/Lymphgewebe(n) für die Verwendung als Kontrollgewebe sollte in Betracht gezogen werden [64].

ANMERKUNG 1 Es wird anerkannt, dass es nicht immer möglich ist, bei allen Mustern die ableitenden Lymphknoten zu lokalisieren.

Wenn es durch Erkrankungen, klinische Beobachtung und Nekropsiebefunde oder eine Versuchsanordnung zur Bewertung der systemischen Toxizität angezeigt ist, müssen weitere Organe im erforderlichen Umfang entnommen werden.

Die exzidierten Gewebeproben sind nach geeigneten, für die histopathologische Beurteilung erforderlichen Verfahren aufzubereiten, einschließlich Fixation, Beschneiden, Einbetten, Mikrotomie und Anfärben. Falls angemessen, sind die Implantationsstelle (zur Verifizierung seiner Identität), die Anzahl der in jeden Paraffinblock eingebetteten Stücke, deren Schnittgeometrie und die Schnittdicke während der Mikrotomie zu notieren.

Bei Anwendung konventioneller Techniken (Paraffineinbettung) darf die Hülle des Gewebes vor oder nach Behandlung mit einem Fixativ geöffnet werden, und der Zustand der Implantatoberfläche sowie des Gewebettes müssen dokumentiert werden. Wenn die Implantat/Gewebe-Grenzfläche bei harten Materialien wie Metallen oder dichten Kunststoffen untersucht werden soll, wird die Einbettung der intakten Gewebeumhüllung mit dem Implantat *in situ* unter Verwendung von Hartplastik anstelle von Paraffin bevorzugt; entsprechende Schneid- oder Schleiftechniken werden zur Herstellung von histologischen Schnitten verwendet.

Wenn das Gewebe oder Implantat nicht in Paraffin geschnitten werden kann, können andere Techniken zum Einbetten/Schneiden (z. B. Kunststoffeinbetten) zur Beurteilung der Grenzschicht zwischen Implantat und Gewebe notwendig sein. Wenn Einbettungstechniken die Schnittstelle zwischen Implantat und Gewebe verändern, müssen alle Beobachtungen an der Grenzschicht dokumentiert werden.

ANMERKUNG 2 Bei „weichen“ Implantaten in Weichteilgeweben können die Gewebeproben bearbeitet werden, ohne das Implantat zu entfernen.

5.5.4 Mikroskopische Bewertung

Bei der Bewertung der mikroskopischen Reaktion auf ein implantiertes Material sind viele Faktoren zu berücksichtigen. Anhang G, „Mikroskopische Beurteilung von Gewebereaktionen auf implantierte Materialien“, enthält einige Punkte, die bei der Beurteilung einer Implantationsstelle zu berücksichtigen sind.

Bei dem für die histologische Bewertung verwendeten Punktbewertungssystem muss der Umfang des beeinträchtigten Bereichs berücksichtigt werden, entweder durch Verwendung des standardmäßigen halbquantitativen ordinalen Bewertungsverfahrens oder anderer Beurteilungskriterien, die vom untersuchenden Pathologen als angemessen betrachtet werden. Wenn halbquantitative Bewertungskriterien verwendet werden, sind einige Beispiele hierzu in Anhang F angegeben. Die Stelle des Implantats, die Anzahl der Implantationsstellen und die Schnittgeometrie sollten notiert werden. Aufgrund der qualitativen und kontextbasierten Art der Erzeugung mikroskopischer Daten während einer pathologischen Untersuchung können vom untersuchenden Pathologen halbquantitative (ordinale) Bewertungskriterien auf Grundlage der Implantationsstelle und der entsprechenden Zellen/zellenspezifischen Parameter entwickelt werden. Bei komplexen Medizinprodukten/Materialien (z. B. resorbierbaren Materialien, Nanomaterialien) sollten zusätzliche mikroskopische Beobachtungen bei der Bewertung in Betracht gezogen werden.

Die Bewertungskriterien müssen in einem Bericht aufgeführt und wissenschaftlich begründet werden.

Zu den Parametern der biologischen Reaktion, die beurteilt und dokumentiert werden müssen, können, ohne darauf begrenzt zu sein, die folgenden gehören:

- a) alle vom untersuchenden Pathologen identifizierten mikroskopisch beachtenswerten Befunde;
- b) bei Implantaten, die eine fibröse Kapsel aufweisen, das Ausmaß der Fibrose/der fibrösen Kapselbildung, entweder halbquantitativ bewertet oder durch Messungen der Dicke (des Bereichs) (siehe Anhang F);
- c) eine halbquantitative Näherung des Ausmaßes der in verschiedenen Bereichen nahe am Implantat vorhandenen Entzündung, mit nach Bedarf abgegrenzten Entzündungszelltypen (z. B. polymorphkernige Zellen, Lymphozyten, Plasmazellen, Eosinophile, Makrophagen und vielkernige Zellen);

- d) der Grad und die Verteilung einer Nekrose;
- e) weitere Gewebeeränderungen wie Vaskularisierung, Fettinfiltration, Bildung von Granulomen, Mineralisation, Knochenumbildung, Knochenneubildung, Vorhandensein von Fremdmaterial oder andere, vom untersuchenden Pathologen als maßgeblich angesehene Befunde;
- f) Parameter des Materials wie Fragmentation und/oder Vorhandensein von Trümmern, Form und Lage von Überresten abgebauten Materials;
- g) bei porösen und resorbierbaren Implantatmaterialien die Qualität und Quantität des Gewebeeinwachsens.

Histologische Reaktionen, einschließlich weiterer unerwünschter Befunde oder anderer bemerkenswerter Befunde, müssen dokumentiert werden. Der untersuchende Pathologe muss während der Lebensphase jedes Versuchstiers über alle unerwünschten Befunde informiert sein (siehe [61]). Mikrofotografische Aufnahmen können hilfreich zur Dokumentierung sein.

Bei abbaufähigen/resorbierbaren Materialien muss auf der mittleren oder der Stufe des fast vollständigen Abbaus in den untersuchten Gewebeproben etwas Restmaterial des abbaufähigen Implantats vorhanden sein. Zusätzlich können zur Bewertung der Wiederherstellung der normalen Struktur repräsentative Bereiche der Implantationsstelle beurteilt werden, wie sie durch Marker oder Schablone angezeigt werden.

Bei Knochenimplantaten ist die Schnittstelle zwischen Gewebe und Material von besonderem Interesse. Sowohl der Bereich, in dem Kontakt mit dem Knochen erfolgt, und die Knochenmenge in der unmittelbaren Umgebung des Implantats als auch das Vorhandensein von einsprossendem unverknöchertem Gewebe ist zu beurteilen. Das Vorhandensein von Knochenresorption oder neue Knochenbildung müssen festgehalten werden.

Die Einfärbung von Gewebeobjektträgern mit Hämatoxylin und Eosin ist der Goldstandard, aber zusätzliche Einfärbungen und Analysen sollten in Betracht gezogen werden, wenn eine weitere Klärung erforderlich ist.

5.5.5 Beurteilung von Reaktionen

Beispiele quantitativer Punktbewertungssysteme sind in den Literaturhinweisen [33] und [34] angegeben.

Beispiele halbquantitativer Punktbewertungssysteme sind in Anhang F und den Literaturhinweisen [24], [26] und [28] angegeben.

Zusätzlich finden sich Beispiele weiterer Punktbewertungssysteme in den Literaturhinweisen.

6 Prüfbericht

6.1 Allgemeines

Der Prüfbericht muss genügend Einzelheiten enthalten, um eine unabhängige Bewertung der Ergebnisse zu ermöglichen. Wenn es mehr als ein Produktmaterial gibt, sollte der Pathologe jedes Material einzeln beurteilen und dokumentieren. Wenn eine Beurteilung der Reaktion auf einzelne Materialien des Produkts nicht möglich ist, sollte der Pathologe die Reaktion auf die kombinierten Materialien des Prüfmusters des Produkts beurteilen und einen Bericht dazu erstellen.

6.2 Prüflabor

Die folgenden Informationen zum Prüflabor müssen in einem Bericht aufgeführt werden:

- a) Name des Prüflabors und dessen Zertifizierung;
- b) Datum, Name und Unterschrift der Person(en), die verantwortlich für den Bericht ist (sind).

6.3 Prüfmuster/Implantat

Die folgenden Informationen zu den Prüfmustern/Implantaten müssen in einem Bericht aufgeführt werden:

- a) Beschreibung der Prüf- und Kontrollmaterialien wie Bezeichnung, Oberflächenbeschaffenheit sowie Gestalt, Größe und Masse der Implantate;
- b) die Begründung für die Auswahl der Kontrollmuster und der geometrischen Eigenschaften des implantierten Materials muss erbracht werden.

6.4 Versuchstiere und Implantation

Die folgenden Informationen zu den Tieren und zur Implantation müssen in einem Bericht aufgeführt werden:

- a) Art, Zuchtstamm, Geschlecht, Alter und/oder Gewicht und Herkunft;
- b) Versuchsbedingungen, einschließlich Unterbringung und Fütterung;
- c) alle Beobachtungen hinsichtlich der Tierschutzbestimmungen während der Untersuchung;
- d) Einsetztechniken einschließlich des chirurgischen Vorgehens, die Anästhesie und die Gabe von Schmerzmitteln nach der Operation,
- e) die mit der Implantation oder Explantation zusammenhängenden Probleme und alle Beobachtungen während der Untersuchung.

6.5 Implantatentnahme und histologisches Verfahren

Die folgenden Informationen über die Entnahme und das histologische Verfahren müssen in einem Bericht erfasst werden:

- a) Beschreibung der Entnahmetechnik sowie der Anzahl der entnommenen Implantate für jedes Tier und für jeden Beobachtungszeitraum;
- b) Beurteilung des Implantats einschließlich der Beobachtungen aus der Übersichtsuntersuchung von Implantaten, Geweben und Organen, und eine Beschreibung der für die Fixierung und Herstellung der histologischen Schnitte angewandten Techniken;
- c) Verfahren und Ergebnisse der histologischen Beurteilung des Implantatorts und, falls angezeigt, aller bei der Autopsie Veränderungen zeigenden Organe;
- d) bei resorbierbaren Materialien unter anderem eine Beschreibung des Abbaugrades, einschließlich der Materialmerkmale bei der Entnahme des Implantats (freiliegende Teilchen, Faserbildung, amorphe Gele, Kristallisationszustand). Potentiell maßgebliche zusätzliche Beobachtungen wie Änderungen der molaren Masse und Masseverluste sollten berücksichtigt werden, wenn das Implantat, ohne die Grenzschicht zwischen Implantat und Gewebe zu verletzen, entfernt werden kann;
- e) wenn das endgültige Ziel des Implantates eine Geweberestrukturierung/-regeneration ist, sollte die Prüfung des erwarteten normalen Gewebes am Implantationsort betrachtet werden.

6.6 Makroskopische und mikroskopische Beurteilung

Die folgenden Informationen über die makroskopische und mikroskopische Beurteilung müssen in einem Bericht erfasst werden:

- a) makroskopische Beobachtungen: Diese müssen sowohl die Beobachtungen an jedem Implantat als auch das makroskopische Erscheinungsbild des das Implantat umgebenden Gewebes umfassen. Wenn anwendbar, die Beobachtung der ableitenden Lymphknoten, besonders für resorbierbare Materialien.
- b) Ergebnisse aus jeder histologischen Untersuchung und Analyse. Wenn anwendbar, die Beobachtung der ableitenden Lymphknoten, besonders für resorbierbare Materialien.

6.7 Abschließende Beurteilung

Der Bericht muss eine vergleichende Beurteilung der lokalen Effekte nach der Implantation hinsichtlich der biologischen Reaktionen auf die Prüf- und Kontrollmaterialien enthalten.

Anhang A (normativ)

Prüfverfahren für die Implantation in subkutanem Gewebe

A.1 Anwendungsbereich

Dieses Prüfverfahren wird für die Bewertung der biologischen Reaktion subkutanen Gewebes auf ein implantiertes Material angewendet.

Eine Untersuchung der subkutanen Implantation sollte für Produkte in Betracht gezogen werden, die in subkutanem Gewebe implantiert werden oder die Langzeitkontakt mit Schleimhäuten haben. Die Untersuchung darf verwendet werden, um die Wirkung unterschiedlicher Oberflächentexturen oder -zustände des gleichen Materials zu vergleichen oder um die Wirkung verschiedener Behandlungen oder Veränderungen des Materials zu bewerten.

A.2 Kurzbeschreibung

Die biologische Reaktion auf Implantate aus Prüfmustern wird mit der biologischen Reaktion auf Implantate aus Kontrollprüfmustern verglichen. Die Kontrollmaterialien sind in Medizinprodukten verwendete Materialien, deren klinische Vertretbarkeit und Merkmale der Bioverträglichkeit festgestellt worden sind.

A.3 Prüfmuster

Die allgemeinen Festlegungen zur Herstellung von Prüfmustern und Kontrollprüfmustern sind in 4.2 beschrieben. Die Größe der Implantate richtet sich nach der Größe des Versuchstiers. Die folgenden sind als Mindestabmessungen zu betrachten:

- a) Bei Verwendung von Scheiben; Prüfmuster mit einem Durchmesser von 10 mm bis 12 mm und einer Materialstärke von 0,3 mm bis 1,0 mm.

ANMERKUNG Das subkutane Gewebe, tief bis zum Muskel Panniculus carnosus reichend, ist besonders geeignet für die Beurteilung von Polymerfolienmaterial. An einer intramuskulären Stelle kann sich das Folienmaterial falten, sodass es schwierig wird, die eigenen Wirkungen des Materials zu bewerten.

- b) Bei Verwendung von Stäben oder Zylindern müssen Prüfmuster einen Durchmesser von 1,5 mm bis 2 mm, eine Länge von 5 mm bis 10 mm und gerundete Enden haben.
- c) Prüfmuster, die nicht im festen Zustand vorliegen (einschließlich Pulvern, Gels, Flüssigkeiten, Cremes und Partikeln) müssen direkt in die Gewebe implantiert werden. Eine entsprechende Markierung der Implantationsstelle ist für resorbierbare Materialien empfohlen (siehe 5.1.2). Volumina von 0,1 ml oder 0,1 g können angemessen sein.
- d) Andere Abmessungen, die anatomisch kompatibel sind, dürfen genutzt werden, um Implantationsprüfungen, beispielsweise mit klinisch maßgeblichen Proben, durchzuführen.

A.4 Versuchstiere und Implantationsstellen

Die Implantate müssen in das dorsale subkutane Gewebe von ausgewachsenen Mäusen, Ratten, Meerschweinchen oder Kaninchen eingesetzt werden. Unter diesen ist eine Tierart in Übereinstimmung mit den Festlegungen nach ISO 10993-2 auszuwählen.

Es sind mindestens drei Tiere für jedes Material und genügend Implantationsstellen zu verwenden, um 10 Prüfmuster und 10 Kontrollprüfmuster für jedes Material und jeden Implantationszeitraum zu erhalten.

Wenn mehrere Gewebeprüfmuster aus einer einzelnen Implantationsstelle entnommen werden, müssen die Schnitte für die histologische Untersuchung mindestens 1 cm voneinander entfernt sein.

Gewebeproben, die zur Prüfung des Materials herangezogen werden, müssen mindestens von drei Tieren stammen. Ein nicht resorbierbarer Kontrollkörper muss zu jedem Zeitpunkt beurteilt werden. Ein einzelner Prüfzeitpunkt ist akzeptabel, sofern eine akzeptable wissenschaftliche Begründung dokumentiert ist, die Folgendes beinhalten muss:

- den Kontrollkörper;
- die Implantationsdauer;
- das Tiermodell;
- das Studienprotokoll;
- die historischen Kontrolldaten.

A.5 Implantationsverfahren

A.5.1 Allgemeines

Es ist eines der in A.5.2 und A.5.3 beschriebenen Verfahren auszuwählen.

A.5.2 Implantation entlang der dorsalen Mittellinie

Es ist ein Einschnitt in die Haut zu setzen und eine oder mehrere subkutane Taschen durch stumpfes Präparieren vorzubereiten. Der Ansatz der Tasche muss mehr als 10 mm von der Hautschnittlinie entfernt sein. Ein Implantat wird in jeweils eine Tasche eingepflanzt. Die Implantate dürfen einander nicht berühren. Alternativ dürfen beide Körperflanken genutzt werden.

ANMERKUNG Als Alternative können die Implantate auch mit einem Trokar an die gewünschte Stelle gebracht werden oder, wenn indiziert, können multiple kleine Schnitte gemacht werden.

A.5.3 Implantation im Nacken

Bei Mäusen wird oberhalb des Kreuzbeins ein 10 mm langer Einschnitt gesetzt und durch stumpfes Präparieren in Richtung Nacken ein subkutaner Tunnel vorbereitet. Ein Implantat wird durch den Tunnel eingeschoben und am Nacken ausgerichtet [31], [32].

Bei Ratten wird jeweils ein Implantat des Prüfmaterials und des Kontrollmaterials getrennt auf jeder Seite des Nackens eingesetzt. Die Implantate dürfen einander nicht berühren. Alternativ dürfen beide Körperflanken und/oder Hinterbeine verwendet werden.

In einiger Entfernung vom Implantat wird der Tunnel durch ein geeignetes Nahtmaterial mit Stichen geschlossen, damit sich das Implantat nicht bewegen kann.

A.6 Implantationszeitraum

Um einen Gleichgewichtszustand der biologischen Gewebereaktion sicherzustellen, muss/müssen der Implantationszeitraum/die Implantationszeiträume den Festlegungen nach 5.3 entsprechen.

A.7 Beurteilung der biologischen Reaktion

Die Beurteilung muss die in Abschnitt 5 festgelegten Anforderungen berücksichtigen.

A.8 Prüfbericht

Die Darstellung der Prüfergebnisse und der endgültige Prüfbericht müssen die in Abschnitt 6 aufgeführten Punkte sowie Begründungen für die gewählten spezifischen Verfahren enthalten.

Anhang B (normativ)

Prüfverfahren für die Implantation in Muskeln

B.1 Anwendungsbereich

Dieses Prüfverfahren wird für die Bewertung der biologischen Reaktion von Muskelgewebe auf ein implantiertes Material angewendet.

B.2 Kurzbeschreibung

Das Implantat wird in den Muskel eines Versuchstiers eingesetzt. Die biologische Reaktion auf Implantate aus Prüfmustern wird mit der biologischen Reaktion auf Implantate aus Kontrollprüfmustern verglichen. Die Kontrollmaterialien sind in Medizinprodukten verwendete Materialien, deren klinische Vertretbarkeit und Merkmale der Bioverträglichkeit festgestellt worden sind.

B.3 Prüfmuster

Die allgemeinen Festlegungen zur Herstellung von Prüfmustern und Kontrollprüfmustern sind in 4.2 beschrieben. Die Größe der Implantate richtet sich nach der Größe der ausgewählten Muskelgruppe.

Für die paravertebralen Muskeln von Kaninchen werden typischerweise Implantate (z. B. Stäbe) mit einer Breite von 1 mm bis 3 mm und einer Länge von etwa 10 mm verwendet. Alternativ dürfen größere Proben (z. B. Scheiben) mit einem Durchmesser bis 10 mm und einer Dicke bis 3 mm chirurgisch implantiert werden.

Andere Abmessungen, die anatomisch kompatibel sind, dürfen genutzt werden, um Implantationsprüfungen, beispielsweise mit klinisch maßgeblichen Proben, durchzuführen.

Die Prüfmuster müssen abgerundete Kanten haben, und die Enden müssen mit einem vollen Halbkreis abgerundet sein.

B.4 Versuchstiere und Implantationsstellen

Es ist sicherzustellen, dass die Muskeln ausreichend groß sind, um die Implantatprobekörper aufnehmen zu können. Je Versuch ist nur eine Tierart zu verwenden. Die Implantate sind unter Anästhesie in das Muskelgewebe der Versuchstiere einzusetzen.

ANMERKUNG Die paravertebralen Muskeln von Kaninchen sind die bevorzugten Implantationsstellen. Als Alternative für kleinere Probekörper können die glutealen Muskeln von Ratten oder die festen Muskeln von Kaninchen verwendet werden.

Es sind mindestens drei Tiere für jedes Material und genügend Implantationsstellen zu verwenden, um 10 Prüfmuster und 10 Kontrollprüfmuster für jeden Implantationszeitraum zu erhalten.

Die zu bewertenden Prüf- und Kontrollkörper müssen von mindestens drei verschiedenen Tieren sein.

Falls damit gerechnet wird, dass ein Prüfmaterial eine mehr als minimale Reaktion hervorruft, ist die Verwendung eines zusätzlichen vergleichenden Kontrollmaterials, von dem bekannt ist, dass es eine minimale Gewebereaktion hervorruft, an einer den Prüfmaterialien gegenüberliegenden Stelle in Betracht zu ziehen.

Ein nicht resorbierbarer Kontrollkörper muss zu jedem Zeitpunkt beurteilt werden. Ein einzelner Prüfzeitpunkt ist akzeptabel, sofern eine akzeptable wissenschaftliche Begründung dokumentiert ist, die Folgendes beinhalten muss: