


	DIN EN ISO 10993-11	
ICS 11.100.20	Ersatz für DIN EN ISO 10993-11:2009-08	
<p>Biologische Beurteilung von Medizinprodukten – Teil 11: Prüfungen auf systemische Toxizität (ISO 10993-11:2017); Deutsche Fassung EN ISO 10993-11:2018</p> <p>Biological evaluation of medical devices – Part 11: Tests for systemic toxicity (ISO 10993-11:2017); German version EN ISO 10993-11:2018</p> <p>Évaluation biologique des dispositifs médicaux – Partie 11: Essais de toxicité systémique (ISO 10993-11:2017); Version allemande EN ISO 10993-11:2018</p>		
Gesamtumfang 49 Seiten		
DIN-Normenausschuss Feinmechanik und Optik (NAFuO)		



DIN EN ISO 10993-11:2018-09

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 10993-11:2018) wurde vom ISO/TC 194 „Biological and clinical evaluation of medical devices“ in Zusammenarbeit mit dem CEN/TC 206 „Biologische und klinische Beurteilung von Medizinprodukten“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Für die deutsche Mitarbeit ist der Arbeitsausschuss NA 027-02-12 AA „Biologische Beurteilung von Medizinprodukten“ im DIN-Normenausschuss Feinmechanik und Optik (NAFuO) verantwortlich.

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

ISO 10993-1	siehe DIN EN ISO 10993-1
ISO 10993-2	siehe DIN EN ISO 10993-2
ISO 10993-3	siehe DIN EN ISO 10993-3
ISO 10993-6	siehe DIN EN ISO 10993-6
ISO 10993-10	siehe DIN EN ISO 10993-10
ISO 10993-12	siehe DIN EN ISO 10993-12

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 10993-11:2009-08 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Reduzierung der Gruppengröße für die Prüfung auf chronische Toxizität in Tabelle 1
- b) Einfügen eines neuen Anhang F (informativ), Organliste für die begrenzte histopathologische Auswertung bei Medizinprodukten, die einer systematischen Toxizitätsprüfung unterzogen wurden;
- c) der ursprüngliche Anhang F wurde zu Anhang G verschoben;
- d) Einfügen eines neuen Anhang H (informativ), Subchronische Prüfung bei Ratten – Duale parenterale Verabreichungswege;
- e) Literaturhinweise überarbeitet.

Frühere Ausgaben

DIN EN ISO 10993-11: 1995-12, 2006-11, 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 10993-3, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 3: Prüfungen auf Gentoxizität, Karzinogenität und Reproduktionstoxizität*

DIN EN ISO 10993-6, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 6: Prüfungen auf lokale Effekte nach Implantationen*

DIN EN ISO 10993-10, *Biologische Beurteilung von Medizinprodukten — Teil 10: Prüfungen auf Irritation und Hautsensibilisierung*

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

DIN EN ISO 10993-11:2018-09

— Leerseite —

EUROPÄISCHE NORM
EUROPEAN STANDARD
NORME EUROPÉENNE

EN ISO 10993-11

Mai 2018

ICS 11.100.20

Ersatz für EN ISO 10993-11:2009

Deutsche Fassung

Biologische Beurteilung von Medizinprodukten —
Teil 11: Prüfungen auf systemische Toxizität
(ISO 10993-11:2017)

Biological evaluation of medical devices —
Part 11: Tests for systemic toxicity
(ISO 10993-11:2017)

Évaluation biologique des dispositifs médicaux —
Partie 11: Essais de toxicité systémique
(ISO 10993-11:2017)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 31. Juli 2017 angenommen.

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

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

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, 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, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



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

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

© 2018 CEN Alle Rechte der Verwertung, gleich in welcher Form und in welchem Verfahren, sind weltweit den nationalen Mitgliedern von CEN vorbehalten.

Ref. Nr. EN ISO 10993-11:2018 D

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Anhang ZA (informativ) Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der abzudeckenden Richtlinie 93/42/EWG [ABl. L 169]	6
Anhang ZB (informativ) Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der abzudeckenden Richtlinie 90/385/EWG [ABl. L 189]	9
Vorwort	11
Einleitung	12
1 Anwendungsbereich	13
2 Normative Verweisungen	13
3 Begriffe	13
4 Allgemeine Überlegungen	15
4.1 Allgemeines	15
4.2 Wahl der Tierarten	15
4.3 Zustand der Tiere	15
4.4 Tierpflege und -haltung	16
4.5 Größe und Anzahl der Gruppen	16
4.5.1 Größe der Gruppen	16
4.5.2 Anzahl der Gruppen	16
4.5.3 Kontrollversuche für die Exposition	17
4.6 Expositionsweg	17
4.7 Probenvorbereitung	17
4.8 Dosierung	17
4.8.1 Verabreichung des Prüfmusters	17
4.8.2 Dosierungsvolumen	17
4.8.3 Dosierungshäufigkeit	18
4.9 Körpergewicht und Aufnahme von Futter und Wasser	18
4.10 Klinische Beobachtungen	18
4.11 Klinische Pathologie	19
4.12 Anatomische Pathologie	19
4.13 Aufbau der Studie	20
4.14 Qualität der Untersuchung	20
5 Akute systemische Toxizität	20
5.1 Allgemeines	20
5.2 Aufbau der Studie	21
5.2.1 Vorbereitungen	21
5.2.2 Versuchstiere	21
5.2.3 Prüfbedingungen	21
5.2.4 Körpergewicht	21
5.2.5 Klinische Beobachtungen	22
5.2.6 Pathologie	22
5.3 Beurteilungskriterien	23
5.3.1 Allgemeines	23
5.3.2 Beurteilung der Ergebnisse	23
5.4 Abschlussbericht	24

6	Systemische Toxizität bei wiederholter Exposition (subakute, subchronische und chronische systemische Toxizität).....	25
6.1	Allgemeines	25
6.2	Aufbau der Studie.....	26
6.2.1	Vorbereitungen	26
6.2.2	Versuchstiere	26
6.2.3	Prüfbedingungen	26
6.2.4	Körpergewicht.....	27
6.2.5	Klinische Beobachtungen.....	27
6.2.6	Pathologie	27
6.3	Beurteilungskriterien.....	28
6.3.1	Allgemeines	28
6.3.2	Beurteilung der Ergebnisse	28
6.4	Abschlussbericht	29
Anhang A (informativ)	Verabreichungswege	30
A.1	Allgemeines	30
A.2	Kutan.....	30
A.3	Implantation.....	30
A.4	Inhalation	30
A.5	Intradermal	30
A.6	Intramuskulär	30
A.7	Intraperitoneal.....	31
A.8	Intravenös	31
A.9	Oral	31
A.10	Subkutan.....	31
Anhang B (informativ)	Dosierungsvolumen	32
B.1	Allgemeines	32
B.2	Verweisungen zum Dosierungsvolumen	32
Anhang C (informativ)	Übliche klinische Symptome und Beobachtungen	33
Anhang D (informativ)	Vorgeschlagene hämatologische, klinisch-chemische und Urinuntersuchungen	34
D.1	Hämatologie	34
D.2	Klinische Chemie	34
D.3	Urinuntersuchungen (Sammelurin, z. B. 16 h bis 24 h)	35
Anhang E (informativ)	Vorgeschlagene Organliste für die histopathologische Beurteilung	36
Anhang F (informativ)	Organliste für die begrenzte histopathologische Auswertung bei Medizinprodukten, die einer Prüfung zur systematischen Toxizität unterzogen wurden.....	38
F.1	Allgemeines	38
F.2	Durchführung	38
Anhang G (informativ)	Informationen zu den durch das Material vermittelten Pyrogenen	40
Anhang H (informativ)	Subchronische Prüfung bei Ratten — Duale parenterale Verabreichungswege.....	42
H.1	Allgemeines	42
H.2	Durchführung	42
H.3	Dosierungsvolumen und Dosierungshäufigkeit — Begründung	43
H.3.1	Intravenös	43
H.3.2	Intraperitoneal.....	43
Literaturhinweise.....		44

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 10993-11:2018) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 194 „Biological and clinical evaluation of medical devices“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 206 „Biologische und klinische Beurteilung von Medizinprodukten“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis November 2018, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis November 2018 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 10993-11:2009.

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

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

Die folgenden in Bezug genommenen Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen). Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Jedoch sollte der Anwender bei der Anwendung dieser Norm im Sinne von Anhang ZA stets überprüfen, ob in Bezug genommene Dokumente ersetzt worden sind und ob deren betreffende Inhalte weiterhin als der allgemein anerkannte Stand der Technik erachtet werden können.

Wenn im Text der ISO-Norm auf eine IEC- oder ISO-Norm verwiesen wird, muss dies als normative Verweisung auf die entsprechende EN-Norm, sofern vorhanden, und andernfalls auf die datierte Ausgabe der ISO- oder IEC-Norm, wie unten aufgeführt, verstanden werden.

ANMERKUNG Die Art und Weise, wie auf diese in Bezug genommenen Dokumente in normativen Anforderungen verwiesen wird, bestimmt das Ausmaß (als Ganzes oder teilweise), in dem sie gelten.

Tabelle 1 — Zusammenhang zwischen undatierten normativen Verweisungen und datierten EN- und ISO-Normen

Normative Verweisungen wie in Abschnitt 2 der ISO-Norm aufgeführt	Entsprechende datierte Norm	
	EN	ISO oder IEC
ISO 10993-1	EN ISO 10993-1:2009	ISO 10993-1:2009
ISO 10993-2	EN ISO 10993-2:2006	ISO 10993-2:2006

ANMERKUNG 2 Dieser Teil der EN ISO 10993 verweist auf ISO 10993-1, der wiederum auf ISO 14971 verweist. In Europa sollte davon ausgegangen werden, dass die Verweisung auf ISO 14971 der auf EN ISO 14971:2012 entspricht.

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, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 10993-11:2017 wurde von CEN als EN ISO 10993-11:2018 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Anhang ZA **(informativ)**

Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der abzudeckenden Richtlinie 93/42/EWG [ABl. L 169]

Diese Europäische Norm wurde im Rahmen eines von der Europäischen Kommission erteilten gemeinsamen Normungsauftrages M/BC/CEN/89/9 bezüglich harmonisierter Normen in Verbindung mit horizontalen Aspekten im Bereich von Medizinprodukten erarbeitet, um ein freiwilliges Mittel zur Erfüllung der grundlegenden Anforderungen der Richtlinie 93/42/EWG des Rates vom 14. Juni 1993 über Medizinprodukte bereitzustellen [ABl. L 169].

Sobald diese Norm im Amtsblatt der Europäischen Union im Sinne dieser Richtlinie in Bezug genommen worden ist, berechtigt die Übereinstimmung mit den in Tabelle ZA.1 aufgeführten normativen Abschnitten dieser Norm innerhalb der Grenzen des Anwendungsbereiches dieser Norm zur Vermutung der Konformität mit den entsprechenden grundlegenden Anforderungen dieser Richtlinie und der zugehörigen EFTA-Vorschriften.

ANMERKUNG 1 Wenn in einem Abschnitt dieser Norm auf den Risikomanagement-Prozess Bezug genommen wird, muss der Risikomanagement-Prozess in Übereinstimmung mit der Richtlinie 93/42/EWG, geändert durch die Richtlinie 2007/47/EG stehen. Dies bedeutet, dass, gemäß dem Wortlaut der entsprechenden grundlegenden Anforderung, Risiken „weitestgehend“ verringert, „auf ein Minimum“ verringert, „soweit wie möglich“ verringert, „minimiert“ oder „ausgeschlossen/beseitigt“ werden müssen.

ANMERKUNG 2 Die Politik des Herstellers zur Festlegung des akzeptablen Risikos muss in Übereinstimmung mit den grundlegenden Anforderungen 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 11 und 12 der Richtlinie stehen.

ANMERKUNG 3 Dieser Anhang ZA beruht auf den normativen Verweisungen nach der Tabelle mit den Verweisungen im Europäischen Vorwort, die die Verweisungen im Haupttext ersetzen.

ANMERKUNG 4 Wenn eine grundlegende Anforderung 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 Richtlinie 93/42/EWG [ABl. L 169]

Grundlegende Anforderungen der Richtlinie 93/42/EWG	Abschnitt(e)/Unterabschnitt(e) dieser Europäischen Norm	Erläuterungen/Anmerkungen
7.1 (Erster und zweiter Spiegelstrich)	4, 5 und 6	<p>Grundlegende Anforderung ER 7.1 wird nur teilweise von ISO 10993-11 abgedeckt, da die Norm nicht die Anforderungen an Aufbau und Herstellung abdeckt. Dieser Teil von ISO 10993 legt jedoch Prüfverfahren für die Bewertung der systemischen Toxizität von Materialien fest, die für den Einsatz in Medizinprodukten bestimmt sind. Daher bietet diese Norm ein Mittel um systemische Toxizitätsstudien im Zusammenhang mit den verwendeten Materialien zu beurteilen.</p> <p>Diese Prüfungen sind nicht dafür vorgesehen die Leistung des Prüfmusters in Bezug auf mechanische oder funktionelle Belastung zu bewerten.</p> <p>Systemische Toxizitätsstudien, die durch Implantation durchgeführt werden, können die Anforderungen dieses Teils von ISO 10993 erfüllen. Bei der Durchführung von kombinierten Studien zur Bewertung lokaler Effekte und systemischer Effekte sind die Anforderungen dieses Teils von ISO 10993 und ISO 10993-6 zu erfüllen.</p> <p>Für ER 7.1 (erster und zweiter Spiegelstrich) ist die Entflammbarkeit nicht abgedeckt.</p>
7.2	4, 5 und 6	<p>Grundlegende Anforderung ER 7.2 wird nicht von ISO 10993-11 abgedeckt, da die Norm keine Anforderungen an Aufbau, Herstellung und Verpackung stellt und nicht zur Risikominimierung verpflichtet. Dieser Teil von ISO 10993 legt jedoch Prüfverfahren für die Bewertung der systemischen Auswirkungen fest, die sich aus der Exposition von Anwendern oder Patienten gegenüber Kontaminanten oder Rückständen in Medizinprodukten ergeben. Diese Bewertung kann ein erster Schritt zur Risikominimierung sein. Risiken für Personen, die mit dem Transport oder der Lagerung von Medizinprodukten zu tun haben, werden jedoch nicht berücksichtigt.</p>

Grundlegende Anforderungen der Richtlinie 93/42/EWG	Abschnitt(e)/Unterabschnitt(e) dieser Europäischen Norm	Erläuterungen/Anmerkungen
7.5, erster Absatz, nur erster Satz	4, 5 und 6	Grundlegende Anforderung ER 7.5 wird nicht von ISO 10993-11 abgedeckt, da die Norm keine Anforderungen an Aufbau und Herstellung stellt und nicht zur Risikominimierung verpflichtet. Dieser Teil von ISO 10993 legt jedoch Prüfverfahren für die Bewertung der systemischen Auswirkungen fest, die sich aus der Exposition gegenüber Stoffen ergeben, die von Medizinprodukten freigesetzt werden oder aus diesen austreten. Diese Bewertung kann ein erster Schritt zur Risikominimierung sein. Andere Formen der Toxizität werden in dieser Norm nicht behandelt.

Allgemeine Anmerkung: Die Konformitätsvermutung hängt auch von der Übereinstimmung mit allen relevanten Abschnitten/Unterabschnitten der ISO 10993-1 ab.

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

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

Anhang ZB (informativ)

Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der abzudeckenden Richtlinie 90/385/EWG [ABl. L 189]

Diese Europäische Norm wurde im Rahmen eines von der Europäischen Kommission erteilten gemeinsamen Normungsauftrages M/BC/CEN/89/9 bezüglich harmonisierter Normen in Verbindung mit horizontalen Aspekten im Bereich von Medizinprodukten erarbeitet, um ein freiwilliges Mittel zur Erfüllung der grundlegenden Anforderungen der Richtlinie 90/385/EWG des Rates vom 20. Juni 1990 zur Angleichung der Rechtsvorschriften der Mitgliedstaaten über aktive implantierbare medizinische Geräte bereitzustellen [ABl. L 189].

Sobald diese Norm im Amtsblatt der Europäischen Union im Sinne dieser Richtlinie in Bezug genommen worden ist, berechtigt die Übereinstimmung mit den in Tabelle ZB.1 aufgeführten normativen Abschnitten dieser Norm innerhalb der Grenzen des Anwendungsbereiches dieser Norm zur Vermutung der Konformität mit den entsprechenden grundlegenden Anforderungen dieser Richtlinie und der zugehörigen EFTA-Vorschriften.

ANMERKUNG 1 Wenn in einem Abschnitt dieser Norm auf den Risikomanagement-Prozess Bezug genommen wird, muss der Risikomanagement-Prozess in Übereinstimmung mit der Richtlinie 90/385/EWG, geändert durch die Richtlinie 2007/47/EG stehen. Dies bedeutet, dass, gemäß dem Wortlaut der entsprechenden grundlegenden Anforderung, Risiken „weitestgehend“ verringert, „auf ein Minimum“ verringert, „soweit wie möglich“ verringert, „minimiert“ oder „ausgeschlossen/beseitigt“ werden müssen.

ANMERKUNG 2 Die Politik des Herstellers zur Festlegung des akzeptablen Risikos muss in Übereinstimmung mit den grundlegenden Anforderungen 1, 4, 5, 8, 9 und 10 der Richtlinie stehen.

ANMERKUNG 3 Dieser Anhang ZB beruht auf den normativen Verweisungen nach der Tabelle mit den Verweisungen im Europäischen Vorwort, die die Verweisungen im Haupttext ersetzen.

ANMERKUNG 4 Wenn eine grundlegende Anforderung nicht in der Tabelle ZB.1 erscheint, bedeutet dies, dass sie nicht in dieser Europäischen Norm abgedeckt ist.

Tabelle ZB.1 — Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und Anhang 1 der Richtlinie 90/385/EWG [ABl. L 189]

Grundlegende Anforderungen der Richtlinie 90/385/EWG	Abschnitt(e)/Unterabschnitt(e) dieser Europäischen Norm	Erläuterungen/Anmerkungen
9 (Nur erster und zweiter Spiegelstrich)	4, 5 und 6	<p>Grundlegende Anforderung 9 wird nur teilweise von ISO 10993-11 abgedeckt, da die Norm nicht die Anforderungen an Aufbau und Herstellung abdeckt. Dieser Teil von ISO 10993 legt jedoch Prüfverfahren für die Bewertung der systemischen Toxizität von Materialien fest, die für den Einsatz in Medizinprodukten bestimmt sind. Daher bietet diese Norm ein Mittel um systemische Toxizitätsstudien im Zusammenhang mit den verwendeten Materialien zu beurteilen.</p> <p>Diese Prüfungen sind nicht dafür vorgesehen die Leistung des Prüfmusters in Bezug auf mechanische oder funktionelle Belastung zu bewerten.</p> <p>Systemische Toxizitätsstudien, die durch Implantation durchgeführt werden, können die Anforderungen dieses Teils von ISO 10993 erfüllen. Bei der Durchführung von kombinierten Studien zur Bewertung lokaler Effekte und systemischer Effekte sind die Anforderungen dieses Teils von ISO 10993 und ISO 10993-6 zu erfüllen.</p> <p>Andere Formen der Toxizität sind nicht abgedeckt</p>

Allgemeine Anmerkung: Die Konformitätsvermutung hängt auch von der Übereinstimmung mit allen relevanten Abschnitten/Unterabschnitten der ISO 10993-1 ab.

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

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

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsorganisationen (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 Themen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

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

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

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

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

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 194, *Biological and clinical evaluation of medical devices*.

Diese dritte Ausgabe ersetzt die zweite Ausgabe (ISO 10993-11:2006), die mit den folgenden Änderungen technisch überarbeitet wurde:

- a) Verringerung der Gruppengröße bei Prüfung der chronischen Toxizität in Tabelle 1;
- b) neuer Anhang F hinzugefügt;
- c) der ursprüngliche Anhang F wurde zu Anhang G verschoben;
- d) neuer Anhang H hinzugefügt;
- e) die Literaturhinweise wurden aktualisiert.

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

Einleitung

Die systemische Toxizität ist eine mögliche nachteilige Auswirkung der Anwendung von Medizinprodukten. Allgemeine Auswirkungen, wie auch Auswirkungen auf Organe und Organsysteme können sich ergeben, wenn herauslösbare Substanzen aus dem Produkt oder dessen Materialien in Körperteile aufgenommen werden, mit denen sie nicht in direktem Kontakt stehen, sich in diesen verteilen und in deren Stoffwechsel gelangen. Dieses Dokument behandelt die Beurteilung der generalisierten systemischen Toxizität, nicht die Toxizität für spezifische Zielorgane oder Organsysteme, selbst wenn diese Wirkungen sich aus der systemischen Aufnahme und Verteilung toxischer Substanzen ergeben können.

Wegen der großen Bandbreite von Medizinprodukten, ihrer Materialien und ihrer vorgesehenen Anwendung schreibt dieses Dokument nicht übermäßig viel vor. Während dieser Teil besondere, bei der Anlage von Prüfungen auf systemische Toxizität zu berücksichtigende methodologische Gesichtspunkte behandelt, muss die richtige Anlage der Studie selbst einzig und allein auf die Art der Materialien für das bestimmte Produkt und dessen vorgesehene klinische Anwendung zugeschnitten sein.

Andere Elemente dieses Dokuments sind naturgemäß vorschreibend, einschließlich der Punkte, die die Vereinbarkeit mit der Guten Laborpraxis behandeln, und der Elemente, die in die Berichterstattung aufzunehmen sind.

Während einige Prüfungen auf systemische Toxizität (z. B. Langzeitimplantation oder Studien zur Hauttoxizität) so gestaltet werden können, dass mit ihnen sowohl systemische Auswirkungen als auch örtliche, karzinogene oder reproduktionstoxische Auswirkungen untersucht werden, richtet dieses Dokument sein Augenmerk nur auf die Gesichtspunkte solcher Studien, die zur Ermittlung systemischer Auswirkungen vorgesehen sind. Studien, die zur Behandlung anderer toxikologischer Endpunkte vorgesehen sind, werden in ISO 10993-3, ISO 10993-6, ISO 10993-10 und ISO/TS 10993-20 angesprochen.

Vor der Durchführung einer Studie zur systemischen Toxizität sollten alle zur Verfügung stehenden Daten und wissenschaftlich bestätigte Verfahren in der Planung und Verbesserung des Aufbaus einer Studie zur systemischen Toxizität überprüft werden. Dazu gehört die Eignung der Verwendung von Eingabedaten wie vorhandene toxikologische Daten, Daten aus der Untersuchung der chemischen Charakterisierung und/oder andere biologische Prüfungen (einschließlich *in vitro* Prüfungen und weniger invasive *In-vivo*-Prüfungen) um die Verbesserung von Studienentwurf, Dosisauswahl und/oder Auswahl von pathologischen Endpunkten bei der Beurteilung der Studie abzudecken. Insbesondere für die Studie zur systemischen Toxizität bei wiederholter Exposition ist die Verwendung von wissenschaftlich fundierten Studien, die Verwendung von Pilotenstudien und statistischen Studien und die Verwendung von unvoreingenommenen, quantitativen Endpunkten/Verfahren in den pathologischen (einschließlich histopathologischen) und klinischen chemischen Verfahren wichtig, um Daten zu erhalten, die über ausreichende wissenschaftliche Gültigkeit verfügen.

Letztendlich ist die Toxikologie eine unvollkommene Wissenschaft. Das Ergebnis irgendeiner Einzelprüfung sollte nicht die einzige Grundlage für die Entscheidung sein, ob ein Medizinprodukt für seine vorgesehene Verwendung sicher ist.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt Anforderungen an Verfahren fest und gibt eine Anleitung, die bei der Beurteilung des Potenzials von Materialien für Medizinprodukte zur Auslösung nachteiliger systemischer Reaktionen zu befolgen sind.

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*

3 Begriffe

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

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

— IEC Electropedia: unter <http://www.electropedia.org/>

— ISO Online Browsing Platform: unter <http://www.iso.org/obp>

3.1

Dosis

Dosierung

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

3.2

Dosis-Wirkung

Beziehung zwischen der Dosierung und der Größe einer definierten biologischen Auswirkung bei einem Einzelwesen oder in einer Stichprobe aus einer Population

3.3

Dosis-Reaktion

Beziehung zwischen der Dosierung und dem Spektrum der Auswirkungen, die mit der Exposition gegenüber dem Untersuchungsgut zusammenhängen

Anmerkung 1 zum Begriff: Es gibt zwei Arten von Dosis-Reaktion-Beziehungen. Die erste Art ist die Reaktion eines Einzelwesens auf eine Reihe von Dosen. Die zweite Art ist die Verteilung der Reaktionen einer Population von Einzelwesen auf eine Reihe von Dosen.

3.4

herauslösbare Substanz

durch die Einwirkung von Wasser oder sonstigen Flüssigkeiten im Zusammenhang mit der Benutzung des Produkts aus einem Medizinprodukt oder Material entfernter chemischer Bestandteil

Anmerkung 1 zum Begriff: Beispiele für herauslösbare Substanzen sind Zusatzstoffe, Sterilisationsrückstände, Verfahrensrückstände, Abbauprodukte, Lösemittel, Weichmacher, Schmiermittel, Katalysatoren, Stabilisatoren, Antioxidantien, Farbstoffe, Füllstoffe und Monomere.

3.5

Grenzwertprüfung

Verwendung einer einzigen Gruppe zu untersuchender Individuen mit einer geeigneten Dosierung des Prüfmusters zur Abgrenzung des Vorhandenseins oder Nichtvorhandenseins einer toxischen Gefährdung

3.6

systemische Toxizität

Toxizität, die nicht auf nachteilige Auswirkungen an der Kontaktstelle zwischen dem Körper und dem Medizinprodukt begrenzt ist

Anmerkung 1 zum Begriff: Die systemische Toxizität erfordert die Aufnahme und Verteilung einer toxischen Substanz von ihrem Eintrittsort zu einer entfernten Körperstelle, an der schädliche Folgen ausgelöst werden.

3.7

akute systemische Toxizität

nachteilige Auswirkungen zu irgendeinem Zeitpunkt innerhalb von 72 h nach einer einzigen, mehrfachen oder kontinuierlichen Exposition gegenüber einem Prüfmuster für 24 h

3.8

subakute systemische Toxizität

nachteilige Auswirkungen, die nach einer mehrfachen oder kontinuierlichen Exposition zwischen 24 h und 28 Tagen auftreten

Anmerkung 1 zum Begriff: Da dieser Begriff von der Wortwahl her unrichtig ist, können die im festgelegten Zeitraum auftretenden nachteiligen Auswirkungen auch als Kurzzeitstudie zur systemischen Toxizität mit wiederholter Exposition beschrieben werden. Die Wahl von Zeitabständen zwischen 14 Tagen und 28 Tagen ist mit den meisten als Bestimmungen geltenden internationalen Richtlinien vereinbar und wird als begründete Vorgehensweise angesehen. Studien zur subakuten systemischen Toxizität mit intravenöser Gabe werden im Allgemeinen als Behandlungsdauer > 24 h, aber < 14 Tagen definiert.

3.9

subchronische systemische Toxizität

nachteilige Auswirkungen, die nach der wiederholten oder kontinuierlichen Anwendung eines Prüfmusters während eines Teils der Lebensdauer auftreten

Anmerkung 1 zum Begriff: Studien zur subchronischen Toxizität dauern üblicherweise 90 Tage bei Nagern, aber nicht mehr als 10 % der Lebensdauer anderer Tierarten. Studien zur subchronischen Toxizität mit intravenöser Gabe werden bei Nagern und Nichtnagern im Allgemeinen als Behandlungsdauer zwischen 14 Tagen und 28 Tagen definiert.

3.10

chronische systemische Toxizität

nachteilige Auswirkungen, die nach der wiederholten oder kontinuierlichen Anwendung eines Prüfmusters über einen größeren Anteil der Lebensdauer auftreten

Anmerkung 1 zum Begriff: Studien zur chronischen Toxizität dauern üblicherweise 6 Monate bis 12 Monate.

3.11

Prüfmuster

Material, Medizinprodukt, Medizinproduktteil, Bestandteil, Extrakt oder Anteil des Extraktes, das oder der einer biologischen oder chemischen Prüfung oder Beurteilung unterzogen wird

4 Allgemeine Überlegungen

4.1 Allgemeines

Bevor eine Entscheidung getroffen wird, eine Prüfung auf systemische Toxizität durchzuführen, muss ISO 10993-1 in Betracht gezogen werden. Die Entscheidung, eine Prüfung durchzuführen, muss auf der Grundlage einer Bewertung des Risikos zur systemischen Toxizität begründet sein. Die Wahl der geeigneten Prüfung(en) für ein Produkt muss, unter angemessener Berücksichtigung von Art und Dauer des Kontakts, ISO 10993-1 entsprechen.

Die Prüfungen müssen am Endprodukt und/oder an repräsentativen Proben von Bestandteilen des Endprodukts und/oder seinen Materialien durchgeführt werden. Die Prüfmuster müssen die Bedingungen widerspiegeln, unter denen das Produkt üblicherweise hergestellt und bearbeitet wird. Falls Abweichungen davon notwendig sind, müssen sie zusammen mit ihrer Begründung im Untersuchungsbericht festgehalten werden. Für die Feststellung von Gefährdungen kann es notwendig sein, die Prüfmuster einer überhöhten Einwirkung auszusetzen.

Die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Prüfmusters, beispielsweise pH-Wert, Stabilität, Viskosität, Osmolalität, Pufferkapazität, Löslichkeit und Sterilität, sind einige der Faktoren, die bei der Anlage der Studie zu berücksichtigen sind.

Wenn Tierversuche erwogen werden, sollten zur Erfüllung der ISO 10993-2 alle zur Verfügung stehenden und praktischen Alternativen des Ersatzes, der Verminderung der Tierzahl und der Verfeinerung festgestellt und durchgesetzt werden. Für die akute *in vivo*-Toxizitätsprüfung sind *in vitro*-Zytotoxizitätsdaten zur Bestimmung der Anfangsdosis nützlich.

4.2 Wahl der Tierarten

Es gibt kein absolutes Kriterium für die Wahl einer besonderen Tierart für die Prüfung von Medizinprodukten auf systemische Toxizität. Die verwendeten Tierarten müssen jedoch wissenschaftlich begründet sein und den Bedingungen von ISO 10993-2 entsprechen. Für Studien zur akuten Toxizität von Medizinprodukten durch orale oder intravenöse Gabe, Hautkontakt und Inhalation wird das Nagetier (Maus oder Ratte) bevorzugt, mit der Option für das Kaninchen (hasenartiges Tier) bei Studien mit Hautkontakt und Implantation. Andere Nichtnager können möglicherweise für die Prüfung erwogen werden, unter Anerkennung dessen, dass eine Anzahl von Faktoren die Anzahl oder Wahl der Tierarten für die Studie bestimmen könnte.

Bei Durchführung einer Studienreihe unterschiedlicher Dauer für die systemische Toxizität, z. B. akute, subakute, subchronische und/oder chronische systemische Toxizität, ist es vorzuziehen, einen einzigen Stamm einer Tierart zu verwenden. Dadurch werden die Abweichungen zwischen Arten und Stämmen gesteuert und eine Beurteilung ermöglicht, die nur mit der Dauer der Studie zusammenhängt. Sollten unterschiedliche Arten oder Stämme verwendet werden, muss die Begründung für deren Wahl dokumentiert werden.

4.3 Zustand der Tiere

Im Allgemeinen sollten gesunde, junge, zweckgezüchtete Tiere bekannter Herkunft und mit festgelegtem mikrobiologischem Gesundheitszustand verwendet werden. Zu Beginn der Studie sollten die Gewichtsabweichungen der verwendeten Tiere beim gleichen Geschlecht $\pm 20\%$ des mittleren Gewichts nicht überschreiten. Bei Verwendung von Weibchen sollten sie noch nicht geworfen haben und nicht trächtig sein. Die Wahl der Tiere muss begründet werden.

4.4 Tierpflege und -haltung

Die Pflege der Tiere und der Umgang mit ihnen müssen anerkannten Richtlinien für die Tierhaltung entsprechen. Die Tiere müssen vor der Behandlung an die Laborbedingungen angepasst und diese Zeitspanne muss dokumentiert werden. Für sinnvolle Ergebnisse sind die Steuerung der Umgebungsbedingungen und sachgerechte Techniken der Tierpflege notwendig. Futterbestandteile und Einstreumaterialien, die bekanntermaßen toxisch sind oder die Toxizität beeinflussen, sollten richtig charakterisiert und ihre Möglichkeit zur Beeinflussung der Untersuchungsergebnisse sollte berücksichtigt werden.

4.5 Größe und Anzahl der Gruppen

4.5.1 Größe der Gruppen

Die Präzision der Prüfung auf systemische Toxizität hängt weitgehend von der Anzahl der je Dosisstufe verwendeten Tiere ab. Der erforderliche Präzisionsgrad und damit die Anzahl der je Dosisgruppe erforderlichen Tiere hängen vom Zweck der Studie ab.

Die Gruppengrößen sollten logischerweise mit der Dauer der Behandlung zunehmen, sodass am Ende der Studie genügend Tiere in jeder Gruppe für eine gründliche biologische Beurteilung zur Verfügung stehen. Es sollte jedoch die Mindestanzahl von Tieren verwendet werden, die mit der Gewinnung sinnvoller Ergebnisse vereinbar ist (siehe ISO 10993-2). Empfohlene Mindestgruppengrößen unter Berücksichtigung aller Expositionswege werden in Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1 — Empfohlene Mindestgruppengrößen

Art der Studie	Nager	Nichtnager
akut ^a	5	3
subakut	10 (5 je Geschlecht) ^a	6 (3 je Geschlecht) ^a
subchronisch	20 (10 je Geschlecht) ^a	8 (4 je Geschlecht) ^a
chronisch	30 (15 je Geschlecht) ^{b,c}	c

^a Die Prüfung bei einem einzigen Geschlecht ist vertretbar. Wenn ein Produkt zur Verwendung bei nur einem Geschlecht vorgesehen ist, sollte die Prüfung bei diesem Geschlecht erfolgen.

^b Die Empfehlung für Nager bezieht sich auf die Prüfung einer Einzeldosisgruppe. Wo zusätzliche überhöhte Dosisgruppen mit einbezogen werden, darf die empfohlene Gruppengröße auf 10 je Geschlecht reduziert werden.

^c Für die Gruppengröße Nichtnager bei chronischen Studien wird eine statistische Beratung durch einen Fachmann empfohlen. Grundlage der Anzahl der untersuchten Tiere sollte die Mindestanzahl sein, bei der sinnvolle Ergebnisse geliefert werden. Bei Beendigung der Studie müssen genügend Tiere verbleiben, um eine richtige statistische Beurteilung der Ergebnisse sicherzustellen.

4.5.2 Anzahl der Gruppen

Das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein einer toxischen Gefährdung (d. h. Grenzwertprüfung) könnte mit einer Gruppe je Dosis, die mit einer geeigneten Dosierung des Prüfmusters bei einer einzigen Tierart behandelt wird, abgegrenzt werden. Andere Studien mit unterschiedlichen Dosen oder Dosis-Reaktions-Studien erfordern jedoch mehrere Gruppen zur Beschreibung der toxischen Reaktion.

Die Anzahl der Gruppen darf erhöht werden, wenn versucht wird, eine Dosisreaktion mit überhöhten Dosen zu charakterisieren. Folgende Beispiele für eine Überhöhung der Dosis sollten berücksichtigt werden:

- Mehrfaches der klinischen Oberfläche für die Exposition;
- Mehrfaches der Expositionsdauer;
- Mehrfaches des extrahierbaren Anteils oder der einzelnen Chemikalien;
- mehrfache Verabreichungen in einem Zeitraum von 24 h.

Andere Verfahren zur Überhöhung der Dosis können vertretbar sein. Das verwendete Verfahren muss begründet werden.

4.5.3 Kontrollversuche für die Exposition

Abhängig vom Ziel der Studie, von der Art des zu prüfenden Artikels und des Expositionsweges sollten Negativkontrollen, Kontrollen mit Trägersubstanzen und/oder Kontrollversuche mit einer Scheinbehandlung in alle Studien zur systemischen Toxizität einbezogen werden. Bei diesen Kontrollversuchen müssen die Vorbereitung des Prüfmusters und das Behandlungsverfahren nachgeahmt werden.

4.6 Expositionsweg

Medizinprodukte oder deren herauslösbare Substanzen können über vielfältige Expositionswege Zugang zum Körper haben. Wo es möglich ist, muss der Expositionsweg bei der Prüfung der für die Verwendung des Produkts klinisch bedeutsamste sein. Wenn ein alternativer Expositionsweg erforderlich ist, muss er begründet werden. Beispiele von Verabreichungswegen sind in Anhang A zu finden.

4.7 Probenvorbereitung

Eine Anleitung zur Vorbereitung der Proben und zu deren Stabilität ist in ISO 10993-12 gegeben.

4.8 Dosierung

4.8.1 Verabreichung des Prüfmusters

Die Verfahren sollten so angelegt sein, dass physiologische Veränderungen oder Probleme des Wohlbefindens der Tiere, die nicht direkt mit der Toxizität des zu prüfenden Materials zusammenhängen, vermieden werden. Falls eine tägliche Einzeldosis ausreichenden Volumens oder ausreichender Konzentration nicht möglich ist, darf die Dosis in kleineren Anteilen über einen Zeitraum von nicht über 24 h gegeben werden.

Die Prüfmuster müssen bei einer physiologisch vertretbaren Temperatur verabreicht werden. Im Allgemeinen ist die Raum- oder Körpertemperatur eine übliche Praxis. Abweichungen müssen begründet werden.

Parenteral verabreichte Trägersubstanzen sollten physiologisch verträglich sein. Wo es erforderlich ist, sollte eine Filtration der Proben zur Beseitigung von Teilchen angewendet und dokumentiert werden. Wenn Medizinprodukte und/oder Prüfmuster in Form von Nanomaterialien zu beurteilen sind, dürfen keine Probenfiltrationen durchgeführt werden (siehe ISO/TR 10993-22).

Die Bewegungseinschränkung von Tieren bei Studien zur systemischen Toxizität mit wiederholter Exposition sollte im Allgemeinen auf 4 h bis 6 h täglich begrenzt werden. Art und Dauer der Bewegungseinschränkung sollten das Minimum dessen betragen, das zur Erreichung der wissenschaftlichen Ziele erforderlich ist, und diese sollten nicht von sich aus das Wohlbefinden der Versuchstiere beeinträchtigen. Abweichungen müssen begründet werden.

Wenn eine Bewegungseinschränkung erforderlich ist, sollten die Tiere vor der Verabreichung des Prüfmusters entsprechend der Bewegungseinschränkung akklimatisiert werden.

4.8.2 Dosierungsvolumen

Eine Anleitung zum Dosierungsvolumen ist in Anhang B zusammengefasst. Wenn Gruppen für unterschiedliche Dosierungen verwendet werden, darf das Untersuchungsvolumen auf ein Mindestmaß herabgesetzt werden, indem die Konzentration so eingestellt wird, dass ein gleichbleibendes Volumen bei allen Dosen sichergestellt ist. Eine Verwendung von größeren Dosierungsvolumen als den in Anhang B dargestellten muss begründet werden.

Große Dosierungsvolumen bei der oralen Verabreichung sollten vermieden werden, weil sich bei ihnen gezeigt hat, dass das Magenvolumen überschritten wird und sie unmittelbar in den Dünndarm übergehen. Große Volumen können auch in die Speiseröhre zurückfließen.

Auch die intramuskuläre Verabreichung ist, abhängig von der Größe des Tieres und dem Ort der Muskulatur, in ihrem Volumen begrenzt. Artspezifische Volumen für die intramuskuläre Verabreichung werden in Anhang B behandelt.

Die Volumen bei der stoßweisen (bolusförmigen) intravenösen Injektion werden üblicherweise in einem Zeitraum von etwa 1 min abgegeben. Die Injektionsrate ist ein wichtiger Faktor, und es wird darauf hingewiesen, dass sie bei Nagern 2 ml/min nicht überschreiten darf.

Für die Verabreichung großer Volumen kann eine langsame oder zeitaufwendige Injektion oder die intravenöse Infusion erforderlich sein. Die Flüssigkeitsverabreichung muss unabhängig von der berechneten Rate beendet oder ihre Rate verringert werden, wenn das Tier eine ausgeprägte Veränderung im klinischen Zustand zeigt.

Eine langsame intravenöse Injektion kann bei Prüfmustern notwendig sein, die durch ihre Löslichkeit oder reizende Wirkung begrenzt sind.

Eine Dauerinfusion darf bei klinischer Indikation angewendet werden. Volumen und Rate der Verabreichung hängen von der jeweiligen Flüssigkeit ab, und die Standardpraxis der Therapie mit Flüssigkeiten ist zu berücksichtigen. Als Richtlinie beträgt das bei einer einzigen Gelegenheit verabreichte Volumen < 10 % des zirkulierenden Blutvolumens über einen Zeitraum von 2 h. Die Minimierung der wirksamen Bewegungseinschränkung der Versuchstiere ist ein Schlüsselfaktor, der bei Dauerinfusionen zu berücksichtigen ist.

Zur subkutanen Verabreichung des Prüfmaterials wird auf Anhang B verwiesen. Die Rate und das Ausmaß der Aufnahme in den Körper hängen von der Rezeptur des Prüfmusters ab.

4.8.3 Dosierungshäufigkeit

Grundlage der Dosierungshäufigkeit sollte deren klinische Relevanz sein. Verfahren mit übersteigerten Maßnahmen müssen eindeutig festgelegt und begründet werden.

Bei Studien zur akuten systemischen Toxizität sollten die Tiere dem Prüfmuster in einer einzigen Dosis oder mehrfachen Dosisanteilen innerhalb eines Zeitraums von 24 h ausgesetzt werden.

Bei Studien mit wiederholter Exposition sollte den Tieren während der Dauer des Versuchs täglich eine Dosis des Prüfmusters, 7 Tage in der Woche, verabreicht werden. Andere Dosierungsvorschriften können vertretbar sein, müssen aber begründet werden.

4.9 Körpergewicht und Aufnahme von Futter und Wasser

Veränderungen des Körpergewichts und bei der Aufnahme von Futter und Wasser können den Wirkungen eines zu prüfenden Artikels zugeschrieben werden. Demzufolge müssen die Einzelgewichte der Tiere kurz vor Verabreichung des Prüfmusters, in regelmäßigen Abständen während des Verlaufs der Studie und bei deren Beendigung bestimmt werden (z. B. üblicherweise innerhalb von 24 h bei einer einzelnen oder akuten Dosis und von nicht mehr als 7 Tagen bei Studien mit wiederholten Expositionen). Bei einer Dosierung nach Körpergewicht sollte das letzte verfügbare Körpergewicht verwendet werden.

Gegebenenfalls müssen Messungen des Verbrauchs an Futter und Wasser bei länger andauernden Expositionsversuchen erwogen werden.

4.10 Klinische Beobachtungen

Klinische Beobachtungen sollten durch entsprechend ausgebildete Personen erfolgen, um eine einheitliche Berichterstattung sicherzustellen. Die Häufigkeit und Dauer der Beobachtungen sollte sich nach der Art und Schwere der toxischen Reaktionen, der Schnelligkeit ihres Auftretens und der Dauer der Erholungsphase richten. In den frühen Stadien einer Studie, besonders bei Akutstudien, kann eine erhöhte Häufigkeit der Beobachtungen notwendig sein. Der Zeitpunkt, zu dem toxische Symptome erscheinen und verschwinden,

deren Dauer und die Todeszeit sind wichtig, besonders wenn die Tendenz besteht, dass sich nachteilige klinische Symptome oder Todesfälle verzögern. Humane Endpunkte, wie sie in nationalen oder internationalen Tierschutzrichtlinien definiert sind, sollten verwendet werden, um unnötiges Leiden zu vermeiden. Bei den allgemeinen klinischen Beobachtungen muss die Spitzenzeit der voraussichtlichen Auswirkungen nach der Dosisverabreichung berücksichtigt werden.

Die Beobachtungsergebnisse müssen systematisch zu dem Zeitpunkt, an dem sie erfasst werden, aufgezeichnet werden. Aufzeichnungen müssen für jedes Tier geführt werden.

Beobachtungen an der Käfigwand auf Lebensfähigkeit oder erkennbare klinische Symptome müssen mindestens einmal täglich unter Anwendung üblicher Laborbeschreibungen für klinische Auswirkungen (siehe Anhang C) aufgezeichnet werden.

Bei Langzeitstudien mit wiederholter Exposition müssen Beobachtungen zur Morbidität und Mortalität mindestens zweimal täglich aufgezeichnet werden. Bei länger dauernden Studien mit wiederholter Exposition kann eine umfassendere Übersichtsuntersuchung auf nachteilige klinische Symptome auf mindestens wöchentlicher Grundlage erwogen werden.

4.11 Klinische Pathologie

Hämatologische und klinisch-chemische Analysen werden zur Untersuchung toxischer Wirkungen in Geweben, Organen und sonstigen Systemen durchgeführt. Wenn es angezeigt ist, müssen diese Analysen an Blutproben erfolgen, die von Tieren aus einer Studie mit wiederholter Exposition stammen und die mindestens kurz vor Beendigung des Tierversuchs oder als Teil seiner geplanten Beendigung entnommen wurden. In einigen Fällen kann Fasten der Tiere vor der Blutentnahme notwendig sein. Wenn es wissenschaftlich angezeigt ist, kann eine Urinanalyse während der letzten Woche einer Langzeitstudie mit wiederholter Exposition unter Verwendung eines Sammelurins (z. B. 16 h bis 24 h) erfolgen.

Vorgeschlagene Kennwerte für die Hämatologie, die klinische Chemie und die Urinanalyse zur Beurteilung sind in Anhang D aufgeführt.

4.12 Anatomische Pathologie

Makropathologische Beurteilungen sollten, wenn es klinisch angezeigt ist, bei Studien zur akuten systemischen Toxizität erwogen werden.

Bei allen Tieren aus Studien mit wiederholter Exposition muss eine vollständige, in die Einzelheiten gehende pathologische Übersichtsuntersuchung durchgeführt werden, zu der eine sorgfältige Untersuchung der äußeren Körperoberfläche, aller Körperöffnungen, der Schädel-, Brust- und Bauchhöhle und ihres Inhalts gehört. Ausgewählte Organe sollten zur Feststellung des Gewichts gegebenenfalls von allem anhaftenden Gewebe befreit und ihr Feuchtgewicht sollte zur Vermeidung des Austrocknens so schnell wie möglich gewogen werden.

Anhang E empfiehlt die Gewebe, die gewogen und in einem geeigneten Fixiermedium für die histopathologische Untersuchung aufbewahrt werden sollten.

Eine Zusammenfassung der Mindestbeobachtungen für jede Art einer Studie wird in Tabelle 2 gegeben.

Tabelle 2 — Zusammenfassung der Beobachtungen

Beobachtung	Akut	Subakut/subchronisch	Chronisch ^a
Veränderung des Körpergewichts	+	+	+
Klinische Beobachtungen	+	+	+
Klinische Pathologie	b	a, b	+
Makropathologie	b	+	+
Organgewichte	b	+	+
Histopathologie	b	a, b	+
<div><div>+</div>Daten sollten zur Verfügung gestellt werden.</div> <div><div>a</div>Die Prüfung auf chronische systemische Toxizität ist im Allgemeinen eine zeitliche Ausdehnung der subakuten/subchronischen Prüfung, die durch die Expositionsdauer des Menschen gerechtfertigt wird. Es werden viele der gleichen Kennwerte festgehalten und berichtet. Die Gruppengrößen dürfen erhöht werden, um Begleitgruppen einzubeziehen, bei denen einige oder alle dieser Beobachtungen durchgeführt werden dürfen.</div> <div><div>b</div>Diese Untersuchungen sollten erwogen werden, wenn sie klinisch angezeigt sind oder wenn eine Prüfung mit längerer Exposition nicht vorgesehen ist. Aufstellungen vorgeschlagener Untersuchungen der Körperflüssigkeiten und von Organen/Geweben finden sich in Anhang D, Anhang E und Anhang F.</div>			

4.13 Aufbau der Studie

Der Aufbau der Studie wird in den nachfolgenden Abschnitten dieses Dokuments aufgeführt. Es wird empfohlen, sich für den Aufbau der Studie mit Fachleuten zu beraten.

4.14 Qualität der Untersuchung

Die Gute Laborpraxis behandelt die Organisation, den Ablauf und die Bedingungen, unter denen Laborstudien geplant, durchgeführt, überwacht, aufgezeichnet und berichtet werden. Ziel dieser Praxis ist die Förderung der Qualität und Validität der Prüfungsdaten. Sie unterstützt auch die Bemühungen zur globalen Harmonisierung, indem sie die Vereinbarungen zum Verständnis zwischen handelnden Nationen erleichtert. Studien zur systemischen Toxizität müssen nach solchen Prinzipien geführt werden.

5 Akute systemische Toxizität

5.1 Allgemeines

Die akute systemische Toxizität liefert allgemeine Informationen über die Gesundheitsgefährdungen, die bei einer akuten Exposition auf dem vorgesehenen klinischen Weg wahrscheinlich entstehen. Eine Studie zur akuten Toxizität könnte ein Anfangsschritt bei der Festlegung von Dosierungen für subakute/subchronische und andere Studien sein und kann Angaben über die Art und Weise der toxischen Wirkung einer Substanz über den vorgesehenen klinischen Expositionsweg liefern. Bei der Prüfung der akuten systemischen Toxizität erfolgen nach der Verabreichung des Prüfmusters Beobachtungen der Auswirkungen (z. B. nachteilige klinische Symptome, Veränderungen des Körpergewichts, makropathologische Befunde) und der Todesfälle. Tiere, die schwere und andauernde Symptome von Schmerzen und Leiden zeigen, müssen umgehend auf humane Weise getötet werden. Ätzende oder reizende Materialien, bei denen die Verursachung ausgeprägter Schmerzen oder Leiden bekannt ist, sollten als solche gemeldet werden und brauchen nicht geprüft zu werden.

ICCVAM (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods) und ECVAM (European Centre for the Validation of Alternative Methods) haben *in vitro*-Prüfungen auf Zytotoxizität als Alternative zur Prüfung der akuten oralen Toxizität validiert. Humane Endpunkte, wie sie in nationalen oder internationalen Tierschutzrichtlinien definiert sind, sollten verwendet werden, um unnötiges Leiden zu vermeiden.

5.2 Aufbau der Studie

5.2.1 Vorbereitungen

Gesunde junge, erwachsene Tiere werden vor der Prüfung mindestens fünf Tage an die Laborbedingungen angepasst. Kürzere Zeitdauern müssen begründet werden. Die Tiere werden dann einer Zufallsauswahl unterworfen und den Behandlungsgruppen zugeordnet.

5.2.2 Versuchstiere

5.2.2.1 Wahl der Arten

Typischerweise wird eine Nagerart (Ratte, Maus) verwendet. Die charakteristischen Merkmale des Versuchsmodells (Alter, Gewicht usw.) sind in 4.2 und 4.3 festgelegt. Wenn Arten von Nichtnagern verwendet werden, muss deren Verwendung wissenschaftlich begründet werden.

5.2.2.2 Anzahl und Geschlecht

Die Anzahl und Art der Gruppen, die Tiere je Gruppe und das Geschlecht entsprechen der Festlegung in 4.5.

5.2.2.3 Unterbringungs- und Fütterungsbedingungen

Die Temperatur und die relative Luftfeuchte in den Räumen für die Versuchstiere sollten für die Art geeignet sein, z. B. für Mäuse (22 ± 3) °C und 30 % bis 70 % relative Luftfeuchte. Typischerweise sollte die Abfolge der künstlichen Beleuchtung 12 h Licht und 12 h Dunkelheit sein.

Zur Fütterung darf standardisiertes handelsübliches Laborfutter bei unbegrenzter Zufuhr von Trinkwasser verwendet werden. Die Tiere sollten je nach Fall in Geschlechtsgruppen oder einzeln untergebracht werden; bei Gruppenunterbringung dürfen in einem Käfig nicht mehr als fünf Tiere untergebracht werden.

5.2.3 Prüfbedingungen

5.2.3.1 Dosisstufen

Die Dosisstufen müssen der Festlegung in 4.8 entsprechen.

Die Tiere in der Kontrollgruppe sollten, außer bei der Nichtverabreichung des Prüfmusters, identisch zu denen in der Versuchsgruppe behandelt werden.

5.2.3.2 Durchführung

Die Tiere erhalten innerhalb eines einzigen Zeitraums von 24 h eine einzige Dosis des Prüfmusters oder, bei Bedarf, mehrere Dosen. Anzeichen einer Toxizität sollten bei ihrer Feststellung einschließlich Zeitpunkt des Auftretens, Grad und Dauer protokolliert werden.

Eine regelmäßige Beobachtung der Tiere ist notwendig, um sicherzustellen, dass keine Tiere aus der Studie durch Kannibalismus, Selbstauflösung von Geweben (Autolyse) oder falsche Unterbringung verloren gehen. Am Ende der Studie werden alle überlebenden Tiere eingeschläfert. Alle tödlich erkrankten Tiere sollten entnommen und eingeschläfert werden, wenn ein entsprechendes Verhalten bei ihnen festgestellt wird. Verfahren zur Einschläferung sollten den nationalen oder internationalen Tierschutzrichtlinien entsprechen.

Die Beobachtungspläne und humanen Endpunkte sollten die Möglichkeit ausschließen, dass Tiere als direkte Folge der Toxizität des Prüfmusters tot aufgefunden werden.

5.2.4 Körpergewicht

Die Bestimmungen des Körpergewichts sollten unmittelbar vor der Substanzverabreichung, täglich in den ersten drei Tagen danach, wöchentlich nach der ersten Dosis, wenn es nach der Dauer der Studie angezeigt ist, und am Ende der Studie erfolgen.

5.2.5 Klinische Beobachtungen

Der Beobachtungszeitraum für eine Studie zur akuten systemischen Toxizität muss, wenn es angemessen erscheint, mindestens drei Tage oder länger betragen. Die spezifischen Gesichtspunkte von Häufigkeit und Art der Beobachtung sind in 4.10 und Anhang C festgelegt. Die Beobachtungen müssen in allen Fällen in entsprechender Häufigkeit erfolgen, und geeignete Maßnahmen müssen unternommen werden, um den Tierverlust in der Studie auf ein Mindestmaß herabzusetzen, z. B. Sektion oder Einfrieren der tot aufgefundenen Tiere und Isolation oder Einschläfern schwacher oder tödlich erkrankter Tiere. Zu den Beobachtungen an der Käfigwand sollten, ohne darauf beschränkt zu sein, Veränderungen an Haut und Fell, Augen und Schleimhäuten wie auch solche des Atmungssystems, Kreislaufsystems, des autonomen und zentralen Nervensystems, der Muster der motorischen Aktivität und des Verhaltens gehören; dabei sind die Beschreibungen aus Anhang C zu verwenden.

5.2.6 Pathologie

5.2.6.1 Klinische Pathologie

Beurteilungen der klinischen Pathologie müssen in Erwägung gezogen werden, wenn ein Hinweis vorliegt, z. B. über Produktmaterialien mit erwarteter oder beobachteter Toxizität (aus einer vorherigen Studie) oder für neue Produktmaterialien, für die keine vorherige Erfahrung vorliegt. Wenn Beurteilungen der klinischen Pathologie durchgeführt werden, müssen die folgenden Untersuchungen berücksichtigt werden.

- a) Die hämatologischen Befunde, wie in Anhang D festgelegt, sollten zur Untersuchung am Ende des Prüfzeitraums berücksichtigt werden.
- b) Die in Anhang D aufgeführten klinischen biochemischen Untersuchungen des Blutes sollten am Ende des Prüfzeitraums erwogen werden. Prüfbereiche, die für Studien mit akuter Exposition als geeignet angesehen werden, sind die Funktionen von Leber und Niere. Zusätzliche klinisch-biochemische Untersuchungen dürfen, wo es notwendig ist, angewendet werden, um die Beobachtung der festgestellten Wirkungen auszuweiten.

Die Urinanalyse (siehe Anhang D) ist routinemäßig nicht notwendig, sondern nur, wenn dafür auf der Grundlage der erwarteten oder beobachteten Toxizität Anzeichen bestehen. Vorgeschlagene Kennwerte sind in Anhang D aufgeführt.

5.2.6.2 Pathologische Übersichtsuntersuchung

Beurteilungen von pathologischen Übersichtsuntersuchungen müssen in Erwägung gezogen werden, wenn ein Hinweis vorliegt, z. B. über Produktmaterialien mit erwarteter oder beobachteter Toxizität (aus einer vorherigen Studie) oder für neue Produktmaterialien, für die keine vorherige Erfahrung vorliegt. Dazu sollte eine Untersuchung der äußeren Körperoberfläche, aller Körperöffnungen, der Schädel-, Brust- und Bauchhöhle und ihres Inhalts gehören. Gegebenenfalls sollte auch die Aufzeichnung des Gewichts von Gehirn, Leber, Nieren, Nebennieren und Hoden erwogen werden, die in feuchtem Zustand so schnell wie möglich nach der Sektion gewogen werden sollten, um ein Austrocknen und anschließend falsch niedrige Werte zu verhindern.

5.2.6.3 Histopathologie

Eine vollständige histopathologische Untersuchung wird typischerweise nicht an Geweben und Organen von Tieren aus einer Studie zur akuten systemischen Toxizität durchgeführt, außer wenn sie spezifisch infolge außergewöhnlicher Befunde aus der pathologischen Übersichtsuntersuchung angezeigt ist.

5.3 Beurteilungskriterien

5.3.1 Allgemeines

Abhängig vom angewendeten Aufbau der Studie gelten die folgenden Beurteilungskriterien.

a) Bei Prüfungen nach Art des Arzneibuchs.

- 1) Wenn während des Beobachtungszeitraums einer Prüfung auf akute systemische Toxizität keines der mit dem Prüfmuster behandelten Tiere eine signifikant stärkere biologische Reaktion zeigt als die mit der Trägermaterialkontrolle behandelten Tiere, erfüllt die Probe die Anforderungen dieser Prüfung.
- 2) Wenn bei Verwendung von fünf Tieren zwei oder mehr Tiere sterben oder wenn bei zwei oder mehr Tieren ein Verhalten wie Krämpfe oder Niederliegen auftritt oder wenn bei drei oder mehr Tieren ein endgültiger (Ende der Studie) Verlust des Körpergewichts von über 10 % auftritt, erfüllt die Probe die Anforderungen der Prüfung nicht. Jeder vorübergehende Gewichtsverlust sollte zusammen mit anderen klinischen Beobachtungen bei der Bewertung der systemischen Toxizität kritisch beurteilt werden.
- 3) Wenn irgendwelche mit der Probe behandelte Tiere nur leichte Anzeichen einer biologischen Reaktivität aufweisen und nicht mehr als ein Tier grobe Symptome einer biologischen Reaktivität aufweist oder stirbt, wird die Prüfung an Gruppen von 10 Tieren wiederholt.
- 4) Wenn bei der Wiederholungsprüfung alle 10 mit der Probe behandelten Tiere während des Beobachtungszeitraums keine signifikante biologische Reaktivität zeigen, die höher liegt als die bei den mit der Trägermaterialkontrolle behandelten Tieren, erfüllt die Probe die Anforderungen dieser Prüfung.

b) Bei Prüfungen auf akute systemische Toxizität, die nicht nach dem Arzneibuch erfolgen.

Es besteht die Möglichkeit, die Beurteilungen unter Anwendung ausgedehnterer Verfahren, einschließlich der klinischen Pathologie und pathologischen Anatomie durchzuführen, was die Notwendigkeit einer Wiederholungsprüfung beseitigen kann. Bei der akuten Exposition kann dazu eine Neubeurteilung gehören, wenn bei gleichlaufenden Kontrollversuchen mehrdeutige Unterschiede auftreten. Die Unterschiede sollten erläutert und die Studie so erweitert werden, dass sie gegebenenfalls fünf zusätzliche Tiere enthält.

5.3.2 Beurteilung der Ergebnisse

Die Befunde aus einer Studie zur akuten systemischen Toxizität sollten im Zusammenhang mit den Befunden vorausgehender Studien, falls solche verfügbar sind, beurteilt und hinsichtlich der toxischen Wirkungen und der gegebenenfalls beobachteten pathologischen Untersuchungsbefunde betrachtet werden. In die Beurteilung muss die Beziehung zwischen der Dosis der zu prüfenden Substanz und dem Vorhandensein oder Nichtvorhandensein sowie der Häufigkeit und Schwere anomaler Befunde, einschließlich klinischer und Verhaltensanomalien, grober Schädigungen, Veränderungen des Körpergewichts, Auswirkungen auf die Mortalität und anderer allgemeiner oder spezifischer Auswirkungen einbezogen werden.

5.4 Abschlussbericht

Die folgenden Angaben müssen gegebenenfalls im Abschlussbericht der Studie zur akuten systemischen Toxizität enthalten sein:

- a) Details über das Prüflabor und den Sponsor der Studie sowie die Begründung für die Auswahl des Studienaufbaus.
- b) Prüfmuster:
 - 1) physikalische Beschaffenheit, Reinheit und physikalisch-chemische Eigenschaften, wenn angemessen;
 - 2) weitere Daten zur Identitätskennzeichnung.
- c) Extraktionslösungsmittel oder Trägersubstanz (falls zutreffend):
 - 1) Begründung für die Wahl eines/einer anderen als dem/der in ISO 10993-12 aufgeführten Extraktionslösungsmittel oder Trägersubstanz.
- d) Versuchstiere:
 - 1) Verwendete(r) Art/Stamm;
 - 2) Anzahl, Alter und Geschlecht der Tiere;
 - 3) Herkunft, einschließlich mikrobiologischer Status (z.B. erhöhte Barriere, konventionell), Unterbringungsbedingungen (Temperatur, Feuchtigkeit, Einstreu, Beleuchtung, Fütterung usw.);
 - 4) Gewichte zu Beginn der Prüfung.
- e) Prüfbedingungen:
 - 1) Begründung für die Wahl der Dosis;
 - 2) Einzelheiten über die Rezeptur/Herstellung der zu prüfenden Substanz; erzielte Konzentrationen; gegebenenfalls Stabilität und Homogenität;
 - 3) Einzelheiten der Verabreichung der zu prüfenden Substanz;
 - 4) gegebenenfalls Umrechnung der Konzentration der zu prüfenden Substanz (ppm) auf die tatsächliche Dosis (mg je kg Körpergewicht);
 - 5) Einzelheiten über die Qualität von Futter, Wasser und Einstreu.
- f) Ergebnisse:
 - 1) die Daten dürfen tabellarisch zusammengefasst werden, wobei für jede Kontroll- und Prüfungsgruppe die Anzahl der Tiere zu Beginn der Prüfung, die Anzahl der Tiere mit nachteiligen klinischen Symptomen und die Anzahl der Tiere mit Veränderungen des Körpergewichts darzustellen sind;
 - 2) Körpergewicht/Veränderungen des Körpergewichts;
 - 3) gegebenenfalls Futter- und Wasserverbrauch;
 - 4) Daten toxischer Reaktionen nach Geschlecht und Dosisstärke, einschließlich der Anzeichen von Toxizität;
 - 5) Art, Schwere und Dauer klinischer Beobachtungen (ob reversibel oder nicht);
 - 6) gegebenenfalls Bewertungen des neurologisch bedingten Verhaltens;

- 7) gegebenenfalls die angewendeten hämatologischen Untersuchungen und deren Ergebnisse mit einschlägigen Ausgangsdaten;
 - 8) gegebenenfalls die angewendeten klinisch-biochemischen Untersuchungen und deren Ergebnisse mit einschlägigen Ausgangsdaten;
 - 9) gegebenenfalls die angewendeten Untersuchungen zur Urinanalyse und deren Ergebnisse mit einschlägigen Ausgangsdaten;
 - 10) gegebenenfalls Körpergewicht zum Todeszeitpunkt und Organgewichte;
 - 11) Sektionsbefunde;
 - 12) gegebenenfalls eine detaillierte Beschreibung aller histopathologischen Befunde;
 - 13) eine statistische Auswertung der Ergebnisse, sofern verwendet, und eine Diskussion ihrer biologischen Bedeutung.
- g) Diskussion der Ergebnisse.
- h) Schlussfolgerungen.
- i) Angabe zur Qualitätssicherung.

Eine Studie zur akuten systemischen Toxizität wird Angaben über die Auswirkungen der akuten Exposition gegenüber einer zu prüfenden Substanz liefern. Die Extrapolation der Ergebnisse der Studie auf den Menschen ist in begrenztem Maße zulässig, aber sie kann nutzbringende Angaben über die zulässige Exposition des Menschen liefern.

6 Systemische Toxizität bei wiederholter Exposition (subakute, subchronische und chronische systemische Toxizität)

6.1 Allgemeines

Während bei der akuten Toxizität die nachteiligen Wirkungen von Einzeldosen (oder einer begrenzten Exposition) behandelt werden, ist eine üblichere Form der Exposition des Menschen gegenüber vielen Medizinprodukten die wiederholte oder andauernde Exposition. Auswirkungen der wiederholten oder andauernden Exposition können potentiell durch Ansammlung von Chemikalien in Geweben oder über andere Mechanismen auftreten. Durch Langzeitprüfung (subakut, subchronisch, chronisch) können diese möglichen Effekte festgestellt werden.

Prüfungen der systemischen Toxizität mit wiederholter Exposition liefern Informationen über Gesundheitsgefährdungen, die bei einer verlängerten Exposition auf dem vorgesehenen klinischen Weg wahrscheinlich entstehen. Sie könnten auch Angaben über die Art und Weise der toxischen Wirkung einer Substanz über den vorgesehenen klinischen Expositionsweg liefern.

Studien zur systemischen Toxizität mit wiederholter Exposition liefern detaillierte Informationen über toxische Wirkungen, Zielorgane, die Reversibilität oder sonstige Auswirkungen und können als Grundlage für eine Sicherheitsabschätzung dienen. Die Ergebnisse dieser Studien liefern wichtige Angaben, die sich in der Ausweitung der Führung klinisch-pathologischer und pathologisch-anatomischer Untersuchungen widerspiegeln.

Studien mit wiederholter Exposition stellen im Allgemeinen kein Kriterium für eine Zweituntersuchung bereit. Eher werden die Gruppengrößen so angelegt, dass sie Raum für eine statistische Auswertung der aufgezeichneten Beobachtungen schaffen (siehe Tabelle 1).

Wegen der unterschiedlichen Dauer von Studien mit wiederholter Exposition müssen die Prüfmuster so vorbereitet werden, wie es erforderlich ist, um ihre Stabilität sicherzustellen.

6.2 Aufbau der Studie

6.2.1 Vorbereitungen

Gesunde, junge erwachsene Tiere werden vor der Prüfung mindestens fünf Tage an die Laborbedingungen angepasst. Die Tiere werden dann einer Zufallsauswahl unterworfen und den Behandlungsgruppen zugeordnet.

6.2.2 Versuchstiere

6.2.2.1 Wahl der Arten

Typischerweise wird ein Nagetier (Ratte, Maus) verwendet. Die charakteristischen Merkmale des Versuchsmodells (Alter, Gewicht usw.) sind in 4.2 und 4.3 festgelegt. Wenn Arten von Nichtnagern verwendet werden, muss das wissenschaftlich begründet werden.

6.2.2.2 Anzahl und Geschlecht

Die Anzahl und Art der Gruppen, Tiere je Gruppe und das Geschlecht entsprechen der Festlegung in 4.5. Bei wissenschaftlicher Begründung sollte die Verwendung von Begleittieren erwogen werden, die mit der hohen Dosisstufe über einen vorher festgelegten Zeitraum über das abschließende Einschlafen der allgemeinen Versuchstiere hinaus behandelt werden. Diese Gruppe mit ihren Begleittieren darf verwendet werden, um Auswirkungen der Behandlung einschließlich Reversibilität, Weiterbestehen von Auswirkungen oder verzögerte toxische Wirkungen zu untersuchen. Die Begleittiere müssen bei subchronischen Studien für mindestens 28 Tage beibehalten werden.

6.2.2.3 Unterbringungs- und Fütterungsbedingungen

Die Temperatur und die relative Luftfeuchte in den Räumen für die Versuchstiere sollten für die Art geeignet sein, z. B. $(22 \pm 3)^\circ\text{C}$ und 30 % bis 70 % relative Luftfeuchte für Ratten. Typischerweise sollte die Abfolge der künstlichen Beleuchtung 12 h Licht und 12 h Dunkelheit sein.

Zur Fütterung darf standardisiertes handelsübliches Laborfutter bei unbegrenzter Zufuhr von Trinkwasser verwendet werden. Die Tiere dürfen je nach Fall mit Begründung in Geschlechtsgruppen oder einzeln in Käfigen gehalten werden; bei Gruppenunterbringung sollten nicht mehr als fünf Tiere in einem Käfig gehalten werden.

6.2.3 Prüfbedingungen

6.2.3.1 Dosisstufen

Die bei Toxizitätsprüfungen von Medizinprodukten zu verwendende Dosis muss im Verhältnis zu den Ergebnissen der Risikobeurteilung festgelegt sein, im gegebenen Fall unter Ausgleich der klinischen Expositionsdosis unter Anwendung von Sicherheitsfaktoren. Die Tiere in der Kontrollgruppe sollten, außer bei der Behandlung mit der zu prüfenden Substanz, auf identische Weise zu den Tieren in der Versuchsgruppe behandelt werden.

Anders als klassische chemische Studien zur systemischen Toxizität mit wiederholter Exposition ergeben Studien mit wiederholter Exposition gegenüber Medizinprodukten oft keine Dosis-Reaktions-Wirkungen, und so ist eine toxische Wirkung bei der höchsten Dosisstufe nicht zwingend vorgeschrieben.

6.2.3.2 Durchführung

Tiere sollten im Idealfall während der Dauer der Studie an 7 Tagen/Woche mit der Dosis behandelt werden. Bei länger andauernden Studien mit wiederholter Exposition ist die Verabreichung an 5 Tagen/Woche vertretbar, sollte jedoch dokumentiert und begründet werden.

6.2.4 Körpergewicht

Die Bestimmungen des Körpergewichts sollten unmittelbar vor der Substanzverabreichung, wöchentlich nach der ersten Dosis, wenn es nach der Dauer der Studie angezeigt ist, und am Ende der Studie erfolgen.

6.2.5 Klinische Beobachtungen

Der Beobachtungszeitraum bei einer Studie zur systemischen Toxizität mit wiederholter Exposition muss für die Dauer der Studie geeignet sein. Die spezifischen Gesichtspunkte von Häufigkeit und Art der Beobachtung sind in 4.10 und Anhang C festgelegt. Die Beobachtungen müssen in allen Fällen in entsprechender Häufigkeit erfolgen, und geeignete Maßnahmen müssen unternommen werden, um den Tierverlust in der Studie auf ein Mindestmaß herabzusetzen, z. B. Sektion oder Einfrieren der tot aufgefundenen Tiere und Isolation oder Einschläfern schwacher oder tödlich erkrankter Tiere. Zu den Beobachtungen an der Käfigwand sollten, ohne darauf beschränkt zu sein, Veränderungen an Haut und Fell, Augen und Schleimhäuten wie auch solche des Atmungssystems, Kreislaufsystems, des autonomen und zentralen Nervensystems, der Muster der motorischen Aktivität und des Verhaltens gehören; dabei sind die Beschreibungen aus Anhang C zu verwenden.

Typische augenärztliche Untersuchungen unter Verwendung eines Augenspiegels oder eines gleichermaßen geeigneten Gerätes sollten vor der Verabreichung der Prüfsubstanz und nach Abschluss der Studie vorzugsweise an allen Tieren, mindestens jedoch bei Tieren der Gruppe hoher Dosierung und der Kontrollgruppe, durchgeführt werden. Sofern Veränderungen in den Augen festgestellt werden, sollten alle Tiere einer Untersuchung unterzogen werden. Ausnahmen von der Untersuchung sollten dokumentiert und begründet werden.

6.2.6 Pathologie

6.2.6.1 Klinische Pathologie

Die folgenden Untersuchungen sollten erfolgen.

- a) Die hämatologischen Werte nach der Festlegung in Anhang D sollten am Ende des Prüfzeitraums untersucht werden. Abhängig von der Länge der Studie sollte eine häufigere Probenahme erwogen werden.
- b) Die klinisch-biochemischen Blutanalysen sollten am Ende des Prüfzeitraums durchgeführt werden. Abhängig von der Länge der Studie sollte eine häufigere Entnahme von Blutproben erwogen werden. Prüfbereiche, die bei allen Studien mit wiederholter Exposition als geeignet angesehen werden, sind das Elektrolytgleichgewicht, der Kohlenhydratstoffwechsel und die Funktionen von Leber und Niere. Die Wahl spezifischer Untersuchungen kann von Beobachtungen über die Wirkungsweise der Untersuchungssubstanz abhängen. Vorgeschlagene Analysen sind in Anhang D aufgeführt. Zusätzliche klinisch-biochemische Untersuchungen dürfen, wo es erforderlich ist, angewendet werden, um die Beobachtung der festgestellten Wirkungen auszuweiten.

Die Urinanalyse (siehe Anhang D) ist routinemäßig nicht notwendig, sondern nur, wenn dafür auf der Grundlage der erwarteten oder beobachteten Toxizität Anzeichen bestehen.

Daten für Normalwerte aus der Vorgeschichte der Tiere sind nützlich für die Aufstellung von Normalwerten und den Vergleich mit gleichlaufenden Kontrollstudien. Wenn festgestellt wird, dass Daten für Normalwerte aus der Vorgeschichte nicht geeignet sind, sollte die Sammlung dieser Angaben über Tiere des gleichen Alters, Geschlechts, Stammes und gleicher Herkunft erwogen werden, vorzugsweise innerhalb des gleichen Labors.

6.2.6.2 Pathologische Übersichtsuntersuchung

Alle Tiere sollten einer vollständigen pathologischen Übersichtsuntersuchung unterzogen werden; dazu gehört die Untersuchung der äußeren Körperoberfläche, aller Körperöffnungen, der Schädel-, Brust- und Bauchhöhle und ihres Inhalts. Die Nebennieren, das Gehirn, die Nebenhoden, das Herz, die Nieren, Leber, Eierstöcke, Milz, Hoden, der Thymus und die Gebärmutter sollten in feuchtem Zustand so schnell wie möglich nach der Sektion gewogen werden, um ein Austrocknen und anschließend falsch niedrige Werte zu verhindern. Die in Anhang E aufgeführten Organe und Gewebe sollten in einem geeigneten Medium für die mögliche nachfolgende histopathologische Untersuchung aufbewahrt werden.

6.2.6.3 Histopathologie

- a) Eine vollständige histopathologische Untersuchung sollte an Organen und Geweben von Tieren aus den Kontrollgruppen und den Gruppen mit Hochdosierung erfolgen.
- b) Alle makroskopischen Läsionen sollten untersucht werden.
- c) Die Lungen von Tieren aus Gruppen mit niedrigen und mittleren Dosen sollten, falls verwendet, histopathologisch zum Nachweis einer Infektion untersucht werden, da das eine geeignete Bewertung des Gesundheitszustands der Tiere bietet. Auch die histopathologische Untersuchung der Leber und der Nieren in diesen Gruppen sollte erwogen werden. Bei den Tieren aus diesen Gruppen sind weitere histopathologische Untersuchungen möglicherweise nicht erforderlich, sie müssen aber immer an Organen durchgeführt werden, die bei den Gruppen mit Hochdosierung einen Nachweis von Schädigungen zeigten.
- d) Wenn eine Begleitgruppe verwendet wird, dürfen histopathologische Untersuchungen an Geweben und Organen durchgeführt werden, die bei den behandelten Gruppen Auswirkungen zeigten.
- e) Im Allgemeinen sollten bei Studien zur Chronizität Kontrolltiere verwendet werden, um das Auftreten von Infektionserregern zu überwachen. Je nach Indikation dürfen bei den Tieren aus den Kontrollgruppen serologische oder histologische Untersuchungen durchgeführt werden.
- f) Bei der Auswahl der Organe für die Histopathologie sollte die chemische Charakterisierung von Produktmaterialien berücksichtigt werden. Wenn zum Beispiel das Gerät mit Arzneimitteln/Pharmazeutika beschichtet ist, sollten Zielorgane für diese Chemikalien bei behandelten Tieren auf irgendwelche nachteiligen Wirkungen untersucht werden.

6.3 Beurteilungskriterien

6.3.1 Allgemeines

Die Daten dürfen tabellarisch zusammengefasst werden, wobei für jede Prüfungsgruppe die Anzahl der Tiere zu Beginn der Prüfung, die Anzahl der Tiere mit Läsionen, die Arten der Läsionen und der Prozentsatz der Tiere mit jeder Art einer Läsion dargestellt wird/werden. Statistische Auswertungen sollten erfolgen, aber zunächst sollte die biologische Relevanz berücksichtigt werden. Allgemein anerkannte statistische Verfahren sollten angewendet, und während der Phase des Studienaufbaus ausgewählt werden.

6.3.2 Beurteilung der Ergebnisse

Die Befunde aus einer Studie mit wiederholter Exposition sollten im Zusammenhang mit den Befunden vorausgegangener Studien bewertet und hinsichtlich der toxischen Wirkungen und der pathologischen und histopathologischen Befunde betrachtet werden. In die Beurteilung müssen die Beziehungen zwischen der Dosis der zu prüfenden Substanz und der beobachteten Wirkungen einbezogen werden. Beobachtete Wirkungen, einschließlich klinischer und Verhaltensanomalien, makroskopischer Läsionen, mikroskopischer Veränderungen, Auswirkungen auf die Mortalität und sonstiger Auswirkungen sollten auf ihre biologische Signifikanz beurteilt werden. Die Beurteilung der beobachteten Auswirkungen sollte auch ihre Relevanz für den Menschen in Betracht ziehen.

6.4 Abschlussbericht

Im Abschlussbericht für die Studie zur systemischen Toxizität mit wiederholter Exposition müssen die Information aus 5.4 enthalten sein. Zusätzlich müssen folgende Angaben erfolgen:

- die angewendeten hämatologischen Untersuchungen und deren Ergebnisse mit einschlägigen Ausgangsdaten;
- die angewendeten klinisch-biochemischen Untersuchungen und deren Ergebnisse mit einschlägigen Ausgangsdaten;
- die histopathologischen Befunde;
- eine statistische Auswertung der Ergebnisse, sofern verwendet, und eine Diskussion ihrer biologischen Bedeutung.

Eine Langzeitstudie zur systemischen Toxizität wird Angaben zu den Auswirkungen der wiederholten Exposition gegenüber einer zu prüfenden Substanz zur Verfügung stellen. Die Extrapolation der Ergebnisse der Studie auf den Menschen ist in begrenztem Maße zulässig, aber sie kann nutzbringende Angaben über die zulässige Exposition des Menschen liefern.

Anhang A **(informativ)**

Verabreichungswege

A.1 Allgemeines

Mehrere Verabreichungswege werden in A.2 bis A.10 aufgeführt. Andere Verabreichungswege können klinisch stärker relevant sein und sollten verwendet werden. Es muss der wichtigste Verabreichungsweg verwendet werden. Wenn ein alternativer Verabreichungsweg angewendet wird, muss er begründet werden. Bei der Anlage entsprechender Studien wird die Beratung durch Fachleute vorgeschlagen.

A.2 Kutan

Für an der Körperoberfläche verwendete Produkte können Prüfungen auf systemische Toxizität auf dem kutanen Verabreichungsweg geeignet sein. Die Einschränkung des Zugangs der Tiere zum Prüfmuster mit dem Maul sollte berücksichtigt werden.

A.3 Implantation

Prüfungen auf systemische Toxizität durch Implantation können für zu implantierende Produkte geeignet sein. Die Prüfung kann für die direkte Prüfung eines Materials durch Anwendung in einem allgemeinen oder spezifischen Bereich geeignet sein. Form und Struktur des Prüfgegenstands sollten berücksichtigt werden. Verfahren zur Implantation können in ISO 10993-6 gefunden werden.

A.4 Inhalation

Prüfungen auf systemische Toxizität auf dem Inhalationsweg können für Produkte mit einem Kontaktumfeld geeignet sein, das für das Herauslösen flüchtiger chemischer Dämpfe oder für ein Aerosol/Partikelprüfmuster mit Inhalationsmöglichkeit förderlich ist. Genaue Protokollangaben für diesen Verabreichungsweg können in den meisten, der Inhalationstoxikologie gewidmeten Texten gefunden werden.

A.5 Intradermal

Prüfungen auf systemische Toxizität auf dem intradermalen Verabreichungsweg können für ein Produkt geeignet sein, dessen intradermale Kontaktumgebung dem Herauslösen chemischer Stoffe förderlich ist. Die Prüfmuster werden typischerweise direkt durch Injektion in den Intradermalbereich verabreicht. Die Benutzung mehrfacher Behandlungsstellen sollte eindeutig festgelegt und begründet werden.

A.6 Intramuskulär

Prüfungen auf systemische Toxizität auf dem intramuskulären Verabreichungsweg können für Produkte geeignet sein, deren intramuskuläre Kontaktumgebung dem Herauslösen chemischer Stoffe förderlich ist. Die Prüfmuster werden typischerweise direkt durch Injektion in das Muskelgewebe oder durch chirurgische Implantation verabreicht. Die Stellen sind so zu wählen, dass ein Funktionsverlust oder die Möglichkeit von Schmerzen durch Nervenschädigungen, die durch Spannungen der Muskelfasern durch das injizierte oder implantierte Material verursacht werden, auf ein Mindestmaß herabgesetzt wird. Bei Studien mit wiederholten Dosen sollten die Stellen gewechselt werden, weil beispielsweise nichtwässrige Rezepturen > 24 h als Depot am Ort verbleiben können. Die Benutzung mehrfacher Anwendungsstellen sollte eindeutig festgelegt und begründet werden.

A.7 Intraperitoneal

Prüfungen auf systemische Toxizität auf dem intraperitonealen Verabreichungsweg können für Produkte geeignet sein, deren Kontaktumgebung mit dem Flüssigkeitsweg oder der Bauchfellhöhle dem Herauslösen chemischer Substanzen förderlich ist. Das ist auch ein geeigneter Verabreichungsweg, wenn der Extrakt nicht intravenös verabreicht werden sollte, wie bei allen nichtpolaren öligen Extrakten oder wo Partikel vorhanden sein könnten. Dieser Weg ist der Filtration bei einer intravenösen Injektion vorzuziehen. Die Prüfmuster werden typischerweise direkt in die Bauchfellhöhle abgegeben. Bei Berechnungen der Dosishäufigkeit sollte berücksichtigt werden, dass die auf diesem Wege verabreichten Untersuchungsmaterialien in erster Linie über den Pfortaderkreislauf aufgenommen werden und deshalb vor Erreichen des allgemeinen Blutkreislaufs die Leber passieren müssen. Es sollte vorsichtig vorgegangen werden, damit nicht in den Magen oder in den Verdauungstrakt injiziert wird.

A.8 Intravenös

Prüfungen auf systemische Toxizität auf dem intravenösen Verabreichungsweg können für Produkte geeignet sein, deren direkte oder indirekte Kontaktumgebung mit dem Flüssigkeitsweg oder dem Blut dem Herauslösen chemischer Substanzen förderlich ist. Die Prüfmuster werden typischerweise in das Gefäßsystem eingebracht oder direkt injiziert. Bei Vorhandensein von Partikeln sollte die intraperitoneale Verabreichung oder die Probenfiltration erwogen werden. Für die Beurteilung von Nanomaterialien können Nanomaterialdispersionen selbst für die intravenöse Verabreichung in Betracht gezogen werden. Empfohlene Dosisvolumen und Raten der Verabreichung bei Studien auf dem intravenösen Weg bei den am häufigsten verwendeten Versuchstierarten sind in Anhang B aufgeführt.

Es sollte vorsichtig vorgegangen werden, um die Möglichkeit einer Injektion des Prüfmusters außerhalb des Gefäßes auf ein Mindestmaß herabzusetzen. Bei Injektionen, die 5 min oder länger andauern, sollte die Verwendung einer Flügelkanüle oder eines intravenösen Zugangs erwogen werden.

A.9 Oral

Prüfungen auf systemische Toxizität auf dem oralen Verabreichungsweg können für Produkte geeignet sein, die direkte oder indirekte Berührung mit der Mundschleimhaut haben, oder für Produkte mit sonstiger Anwendung im Verdauungstrakt. Die Prüfmuster werden typischerweise über Sonden eingebracht. Die Versuchstiere sollten üblicherweise vor der Verabreichung des Prüfmusters nüchtern sein. Die Nahrungspause kann von einigen Stunden bis über Nacht reichen, wobei die kürzeren Zeiträume Tiere mit höherem Stoffwechselumsatz betreffen. Die Tiere sollten nach der Nahrungspause gewogen werden, und anschließend sollte das Prüfmuster in einer Einzeldosis auf der Grundlage des Körpergewichts verabreicht werden. Die Fütterung darf nach Verabreichung des Prüfmusters weitere 3 h bis 4 h aufgeschoben werden. Wo eine Dosis in Anteilen über einen bestimmten Zeitraum verabreicht wird, kann es abhängig von der Länge des Zeitraums notwendig sein, die Tiere mit Futter und Wasser zu versorgen.

A.10 Subkutan

Prüfungen auf systemische Toxizität auf dem subkutanen Weg können für ein Produkt geeignet sein, dessen subkutane Kontaktumgebung dem Herauslösen chemischer Stoffe förderlich ist. Die Prüfmuster werden typischerweise direkt durch Injektion oder Implantation in den Subkutanbereich eingebracht. Die Benutzung mehrfacher Anwendungsstellen sollte eindeutig festgelegt und begründet werden.

Anhang B
(informativ)

Dosierungsvolumen

B.1 Allgemeines

Die Prinzipien der humanen Tierforschung erfordern, dass alle angemessenen Anstrengungen unternommen werden, um alle nachteiligen physiologischen oder pathologischen Auswirkungen auf ein Mindestmaß herabzusetzen oder auszuschalten. Die in der Tabelle B.1 aufgeführten Werte sind als informativ anzusehen und stellen die in der Literatur berichteten Höchstgrenzwerte bei einer Anwendung mit einer einzigen Dosis dar. Diese Höchstwerte sollten in diesem Dokument nicht als Empfehlung aufgefasst werden, sondern die Prüfer sollten obere Grenzwerte unter Berücksichtigung von Faktoren, wie Körpergewicht/Körperoberfläche, Geschwindigkeit oder Rate der Verabreichung, Anzahl und Häufigkeit der Verabreichungen, physikalisch-chemische und biologische Eigenschaften des Prüfmusters und Tierstamm, anwenden. Bei wiederholten Dosisanwendungen sollten Bemühungen unternommen werden, um das Dosierungsvolumen unter Berücksichtigung dieser Anpassungsfaktoren auf ein Mindestmaß herabzusetzen.

Tabelle B.1 — Maximale Einzeldosierungsvolumen (ml/kg) bei der Prüfmusterverabreichung

Tierart	Subkutan ml/kg	Intramuskulär ml/kg	Intraperitoneal ml/kg	Sonde ml/kg	Intravenös ml/kg
Ratte	20	1	20	50	40
Maus	50	2	50	50	50
Kaninchen	10	1	20	20	10
Hund	2	1	20	20	10
Affe	5	1	20	15	10

ANMERKUNG Bestimmungen einzelner Länder dürfen die aufgeführten Höchstvolumen außer Kraft setzen. Intramuskuläre Verabreichungen bei Nagern sollten 0,1 ml/Stelle (Maus) und 0,2 ml/Stelle (Ratte) nicht übersteigen, wobei die intravenösen Dosierungsvolumen 1 ml/min nicht überschreiten sollten.

B.2 Verweisungen zum Dosierungsvolumen

Siehe Literaturhinweise [11], [12], [13], [14], [15], [16].

Anhang C
(informativ)

Übliche klinische Symptome und Beobachtungen

Tabelle C.1 — Übliche klinische Symptome und Beobachtungen

Klinische Beobachtung	Beobachtetes Symptom	Beteiligte(s) System(e)
Atmung	Dyspnoe (Bauchatmen, Nach-Luft-Schnappen), Apnoe, Zyanose, beschleunigte Atmung, Absonderungen aus den Nasenlöchern	ZNS, Lunge, Herz
Bewegungsabläufe	Abnahme/Zunahme, Schläfrigkeit, Verlust des Aufrichtens, Katalepsie, Ataxie, ungewöhnliche Bewegungen, Prostrationssyndrom, Zittern, Faszikulation	ZNS, Somatomotorik, Sinneseindrücke (Sensorium), Nerv-Muskel-Koordination, autonomes Nervensystem
Krämpfe	Klonisch, tonisch, tonisch-klonisch, asphyktisch, Opisthotonus	ZNS, Nerv-Muskel-Koordination autonomes Nervensystem, Atmung
Reflexe	Hornhautreflex, Stellreflexe, Muskelhaltung, Lichtreflex, Schreckreflex	ZNS, Sinneseindrücke, autonomes Nervensystem, Nerv-Muskel-Koordination
Augensymptome	Tränenfluss, Pupillenverengung, Pupillenerweiterung, Hervortreten der Augen, Lidhängen, Trübungen, Regenbogenhautentzündung, Bindehautentzündung, gefärbter Tränenfluss, Erschlaffen der Nickhaut	Autonomes Nervensystem, Reizung
Herz-Kreislauf-Symptome	Verlangsamung oder Beschleunigung der Herzaktion, Rhythmusstörungen, Gefäßerweiterung, Gefäßverengung	ZNS, autonomes Nervensystem, Herz, Lunge
Speichelfluss	Übermäßig	Autonomes Nervensystem
Aufstellen der Haare	Raues Fell	Autonomes Nervensystem
Schmerzunempfindlichkeit	Abnehmende Schmerzreaktion	ZNS, Sinneseindrücke
Muskeltonus	Hypotonie, Hypertonie	Autonomes Nervensystem
Magen-Darm-Trakt	Weicher Stuhl, Durchfall, Erbrechen, Harnfluss, Nasenausfluss	ZNS, autonomes Nervensystem, Sinneseindrücke, Beweglichkeit des Magen-Darm-Kanals, Nieren
Haut	Ödem, Rötung	Gewebeschaden, Reizung

Anhang D **(informativ)**

Vorgeschlagene hämatologische, klinisch-chemische und Urinuntersuchungen

D.1 Hämatologie

- Gerinnungspotenzial (PT, APTT)
- Hämoglobinwert
- Hämatokritwert
- Plättchenzählung
- Zählung der roten Blutzellen
- Zählung der weißen Blutzellen
- weißes Differentialblutbild

D.2 Klinische Chemie

- Albumin
- alkalische Leukozytenphosphatase (ALP)
- Alanin-Amino-Transferase (ALT)
- Aspartat-Amino-Transferase (AST)
- Kalzium
- Chlorid
- Cholesterin
- Kreatinin
- Gamma-GT
- Glucose
- anorganisches Phosphat
- Kalium
- Natrium
- Gesamtbilirubin
- Gesamteiweiß
- Triglyceride
- Harnstoffstickstoff
- zusätzliche Enzyme, wenn wissenschaftlich angebracht
- der Gesamtwert der Immunglobuline kann als Indikator für eine Immuntoxizität angesehen werden

D.3 Urinuntersuchungen (Sammelurin, z. B. 16 h bis 24 h)

- Aussehen
- Bilirubin
- Glucose
- Ketone
- Okkultes Blut
- Protein
- Sediment
- Spezifisches Gewicht oder Osmolalität
- Volumen
- Weitere wissenschaftlich geeignete Untersuchungen, wenn der Prüfgegenstand im Verdacht steht, spezifisch organotoxisch zu sein (das erfordert in der Regel eine gekühlte Probensammlung)

Anhang E (informativ)

Vorgeschlagene Organliste für die histopathologische Beurteilung

Zusätzlich zur histopathologischen Beurteilung sollten die mit einem Stern (*) gekennzeichneten Organe/Gewebe gewogen werden, während andere Organe gewogen werden, wenn es wissenschaftlich angebracht ist. Die klinischen und sonstigen Befunde können die Notwendigkeit der Untersuchung zusätzlicher Gewebe nahelegen. Ebenso sollten alle Organe konserviert werden, die auf der Grundlage der bekannten Eigenschaften der zu prüfenden Substanz als Zielorgane wahrscheinlich sind.

Eine vollständige histopathologische Untersuchung sollte an den konservierten Organen und Geweben aller Tiere in den Kontrollgruppen und den Gruppen mit der höchsten Dosierung erfolgen. Diese Untersuchungen, je nach Erfordernis gezielt an spezifischen Organen/Geweben, sollten auf Tiere aller anderen Dosierungsgruppen erweitert werden, wenn in der Gruppe mit der höchsten Dosierung auf die Behandlung zu beziehende Veränderungen beobachtet werden.

- Nebennieren*
- Alle makroskopischen Läsionen (einschließlich an den Verabreichungsstellen)
- Aorta
- Knochenmark (Oberschenkel, Rippe oder Brustbein)
- Gehirn* (repräsentative Querschnitte einschließlich Großhirn, Kleinhirn und Brücke)
- Blinddarm
- Dickdarm
- Zwölffingerdarm
- Nebenhoden*
- Speiseröhre
- Augen
- Gallenblase (falls vorhanden)
- Herz*
- Unterer Dünndarm (Ileum)
- Oberer Dünndarm (Jejunum)
- Nieren*
- Leber*
- Lungen und Bronchien (Konservierung durch Befüllen mit Fixiermittel und anschließendes Eintauchen)

- Lymphknoten (örtliche, zur Erfassung der Verabreichungsstelle und entfernt liegende, zur Erfassung systemischer Wirkungen)
- Brustdrüse (bei Weibchen)
- Skelettmuskulatur
- Nasenmuscheln (bei Studien mit Inhalation)
- Nerv (Ischias oder Nervus tibialis), vorzugsweise in enger Nachbarschaft zum Muskel gelegen
- Eierstöcke*
- Bauchspeicheldrüse
- Nebenschilddrüse
- Zirbeldrüse
- Vorsteherdrüse
- Enddarm
- Speicheldrüsen
- Bläschendrüsen (Samenblasen)
- Haut
- Rückenmark
- Milz*
- Brustbein
- Magen
- Hoden*
- Thymusdrüse*
- Schilddrüse
- Luftröhre
- Harnblase
- Gebärmutter* (einschließlich Gebärmutterhals und Eileiter)
- Scheide

Anhang F **(informativ)**

Organliste für die begrenzte histopathologische Auswertung bei Medizinprodukten, die einer Prüfung zur systematischen Toxizität unterzogen wurden

F.1 Allgemeines

Zahlreiche Medizinprodukte verwenden üblicherweise zum Einsatz kommende Materialien, die sich nur in der Menge oder Art chemischer Zusatzstoffe, in der Verarbeitung oder bei den Sterilisationsverfahren unterscheiden.

Wenn eine toxikologische Risikobeurteilung der extrahierbaren/herauslösbaren Bestandteile des Produkts feststellt, dass eine Biokompatibilitäts-/Sicherheitsbewertung auf potentielle systemische Wirkungen erforderlich ist, dann kann eine histopathologische Beurteilung mit verringertem Umfang in Betracht gezogen werden. In dem vorliegenden Modell wird eine begrenzte Anzahl potentieller Zielorgane/Gewebe unter Verwendung eines mehrstufigen Ansatzes untersucht.

F.2 Durchführung

Alle in Anhang E angegebenen Gewebe sollten gesammelt und konserviert werden.

Die begrenzte histopathologische Untersuchung sollte für alle in Tabelle F.1 aufgeführten monistischen (en: Tier I) Organe/Gewebe durchgeführt werden.

Sofern abnorme oder fragwürdige Befunde bei den monistischen Geweben (en: Tier I) oder bei der gleichzeitigen klinischen Pathologie (klinische Chemie und Hämatologie) beobachtet werden, wird mit den dualistischen (en: Tier II) Organen/Geweben (prüfen einer vollständigen Liste der Organe/Gewebe in Anhang E) fortgefahren.

Tabelle F.1 — Organliste für eine begrenzte Histopathologie

Organsystem	Systemorgane/-gewebe (wenn auf Arten anwendbar)	Monistische Gewebe
Herz-Kreislauf	Herz, Arterien, Venen, Kapillaren, Blut	Herz
Verdauung	Mund, Speicheldrüsen, Speiseröhre, Leber, Magen, Gallenblase, Pankreas, Eingeweide (Duodenum, Colon transversum, Colon ascendens, Colon descendens, Ileum, Jejunum, Zökum, Colon sigmoideum), Rektum, Anus	Leber
Endokrines System	Hypothalamus, Hypophyse, Schilddrüse, Nebenschilddrüse, Nebennieren, Epiphyse, Pankreas	Nebennieren
Ausscheidungsorgane	Nieren, Harnleiter, Blase, Harnröhre, Haut, Lunge, Rektum	Nieren
Hautanhangsorgane	Haut, Unterhautgewebe, Haare, Nägel	Haut
Lymphatisches System	Lymphknoten, Tonsillen, Polypen, Thymusdrüse, Milz	Milz
Muskelsystem	Bizeps, Trizeps, Deltamuskel, Gesäßmuskulatur, Achillessehne, Sehnen	Muskeln
Nervensystem	Gehirn, Rückenmark, Nerven, periphere Nerven, Augen, Ohren	Gehirn
Fortpflanzungsorgane	Eierstöcke, Eileiter, Uterus, Vagina, Brustdrüsen, Hoden, Samenleiter, Samenblasen, Prostata, Penis	Hoden, Eierstöcke
Atmungssystem	Nase, Nasenhöhlen, Pharynx, Larynx, Trachea, Bronchien, Lunge, Zwerchfell	Lunge, Bronchien
Skelettsystem	Femur, Humerus, Radius, Elle, Schädel, Sternum, Schlüsselbein, Wadenbein, Schienbein, Wirbelsäule, Schulterblatt, Becken, Steißbein, Fingerknochen, Knochenmark, Knorpelgewebe, Ligamente	Femur oder Sternum
Hämatopoetisches System	Knochenmark	Femur, Rippe oder Sternum
Sonstige	Makroskopische Läsionen auch an der Behandlungsstelle	Wie beobachtet

Anhang G (informativ)

Informationen zu den durch das Material vermittelten Pyrogenen

Die Pyrogenität ist die Fähigkeit eines chemischen Wirkstoffs oder einer sonstigen Substanz, eine fieberhafte Reaktion hervorzurufen. Pyrogene Reaktionen können durch Materialien, Endotoxine oder sonstige Substanzen, wie Bestandteile von grampositiven Bakterien und Pilzen vermittelt werden. Dieses Dokument behandelt die durch Materialien vermittelte Pyrogenität.

Es ist nicht notwendig, alle neuen Medizinprodukte auf die Pyrogenität *in vivo* zu prüfen. Es sollten jedoch Materialien, die Substanzen enthalten, die in der Vergangenheit eine pyrogene Reaktion ausgelöst haben, und/oder neue chemische Einheiten, bei denen das pyrogene Potential nicht bekannt ist, auf eine durch das Material vermittelte Pyrogenität beurteilt werden. Bei Medizinprodukten, die in einem Kombinationsprodukt verwendet werden können, sollte eine Prüfung auf Pyrogenität des Produkts in Betracht gezogen werden. Die Verunreinigung mit Endotoxinen kann eine Quelle einer pyrogenen Reaktion sein, und das sollte nicht mit einer durch das Material vermittelten pyrogenen Reaktion verwechselt werden.

— Durch Endotoxine vermittelte Pyrogenität

Diese Form der Pyrogenität, die von biologisch aktiven Endotoxinen gramnegativer Bakterien stammt, die üblicherweise eine Fieber hervorrufende Verunreinigung bei der Herstellung von Medizinprodukten sind, wird durch Bestimmung der Menge der Endotoxine in den Produkten durch eine für Endotoxine spezifische Prüfung (LAL, Limulus-Amoebocyten-Lysat-Test) ohne Durchführung eines Kaninchenversuchs bewertet (siehe Literaturhinweis [3]).

— Durch Materialien vermittelte Pyrogenität

Diese Art der Pyrogenität stammt von nichtendotoxin bezogenen Faktoren. Nachstehend ist eine Aufstellung von Substanzen, die als Auslöser einer pyrogenen Reaktion bekannt sind, ohne Endotoxine zu sein:

- endogene Pyrogene (z. B. IL-1, IL-6, TNF α , INF- γ);
- Prostaglandin;
- Induktoren (z. B. Polyadenyl-, Polyuridyl-, Polybionosin- und Polyribocytidylsäure);
- Substanzen, die die Funktion der Wärmeregulierungszentren unterbrechen (z. B. LSD, Kokain, Morphin);
- die oxidative Phosphorylierung entkoppelnde Wirkstoffe (z. B. 4, 6-Dinitro-o-Kresol, Dinitrophenol, Pikrinsäure);
- *N*-Phenyl- β -naphthylamin und Aldo- α -naphthylamin (der Fieber erzeugende Mechanismus ist unbekannt);
- bakterielle Exotoxine (z. B. TSST-1, SEA, Spe F, Spe C);
- Neurotransmitter (z. B. Noradrenalin, Serotonin);
- in einigen Fällen Metalle wie Nickelsalze.

Zum Nachweis der durch Materialien vermittelten Pyrogenität wird gegenwärtig der Kaninchen-Pyrogentest, der eine pyrogene Aktivität in einem breiten Bereich erfassen kann, empfohlen. Verfahren für die Durchführung des Kaninchen-Pyrogentests sind im Amerikanischen Arzneibuch, dem Europäischen Arzneibuch und im Japanischen Arzneibuch zu finden. Der LAL-Test ist für die Bestimmung der Pyrogenität dieser Substanzen nicht geeignet. Sollten weitere Verfahren zur Erfassung der nicht endotoxinbedingten Pyrogenität entwickelt und validiert werden, werden diese als Ersatz für den Kaninchentest erwogen werden.

Laufende Entwicklungen sind Tests, die auf der Freisetzung von Zytokinen durch Monozyten/Makrophagen basieren, welche in der Lage sind, die Pyrogenität, bedingt durch Komponenten von gramnegativen als auch grampositiven Bakterien sowie Pilzen, zu erkennen. Diese *in vitro* Tests sind allerdings nicht zur Bestimmung der materialvermittelten Pyrogenität validiert.

Anhang H
(informativ)

Subchronische Prüfung bei Ratten — Duale parenterale
Verabreichungswege

H.1 Allgemeines

Bei vielen Produkten, die eine subakute/subchronische Prüfung der Toxizität erfordern, handelt es sich um implantierbare Produkte, und demzufolge erfolgt der klinisch relevanteste Expositionsweg im Tiermodell über die Implantation. Wenn jedoch das Produkt nicht als Implantat vorgesehen ist, ist die Exposition des Produktes über die Dosierung von Extrakten eine Möglichkeit. Die gleichzeitige parenterale Verabreichung polarer und nichtpolarer Extrakte kann eine Möglichkeit sein.

Klinisch bedeutet das, wenn ein Medizinprodukt implantiert oder von außen übertragen wird, kann die Exposition gegenüber polaren und nichtpolaren herauslösbaren Stoffen gleichzeitig auftreten. Ein Ansatz zur Bewertung der Toxizität ist die Injektion von sowohl polaren als auch nichtpolaren Extrakten in dasselbe Tier. Diese Exposition bildet genauer die klinische Erfahrung der Gesamtexposition gegenüber extrahierbaren Stoffen ab. Dieses Modell kann ungeeignet sein, wenn die Notwendigkeit besteht, die Verabreichungswege separat zu untersuchen. In diesem Fall sollte Abschnitt 6 in Betracht gezogen werden.

Die empfohlenen Verabreichungsparameter für das Modell der dualen parenteralen Verabreichungswege entsprechen der Festlegung in Tabelle H.1.

Tabelle H.1 — Empfohlene Verabreichungsparameter

Anzahl der Tiere/ Geschlecht/ Gruppe ^a	Verabreichungs- weg	Dosis		
		Volumen ml/kg ^b	Häufigkeit Untersuchungstage ^d	Rate ml/min
6	Intravenös	10	Täglich für 14 d	≤ 2
	Intraperitoneal	5 ^c	1, 4, 7, 10, 13	Langsame Bolusinjektion
^a Mit Trägersubstanzkontrolle behandelte Tiere (sechs je Geschlecht) sollten genauso dosiert werden. ^b Empfohlenes Volumen. ^c Sesamöl wird bevorzugt. ^d Verabreichungstage dürfen am Tag 0 beginnen.				

H.2 Durchführung

Während der Dauer der Untersuchung (d. h. 14 Dosen) wird den Versuchstieren für 7 Tage/Woche der polare Prüfmusterextrakt und den Kontrolltieren die polare Trägersubstanz intravenös verabreicht. Bei nichtpolaren Prüfmustern wird denselben Versuchstieren der nichtpolare Prüfmusterextrakt und den Kontrolltieren die nichtpolare Trägersubstanz während der Dauer der Untersuchung an jedem dritten Tag intraperitoneal (d. h. 5 Dosen) verabreicht.

H.3 Dosierungsvolumen und Dosierungshäufigkeit — Begründung

H.3.1 Intravenös

Tabelle B.1 beschreibt die maximalen Dosierungsvolumen bei der Verabreichung eines Prüfmusters, wenn eine einzelne oder eine sehr begrenzte Anzahl an intravenösen Behandlungen erforderlich ist. Das Volumen sollte bei täglich wiederholten oder wiederkehrenden Verabreichungen des Prüfmusters auf beliebigen Verabreichungswegen reduziert werden. LASA (siehe Literaturhinweis [17]) empfiehlt ein maximales intravenöses Dosierungsvolumen von 5 ml/kg bei einer, bei der Ratte in einem relativen kurzen Zeitraum (weniger als 1 min) durchgeführten Bolusinjektion, und für die einmalige tägliche Dosierung auf einer Routinebasis (Injektionsrate ≤ 2 ml/min). Bei der wiederholten intravenösen Verabreichung von Medizinproduktextrakten gilt ein Dosisvolumen von 10 ml/kg als unwahrscheinlich, bei den Versuchstieren eine übermäßige Belastung zu verursachen, siehe Literaturhinweis [13].

H.3.2 Intraperitoneal

Tabelle B.1 beschreibt die maximalen Dosierungsvolumen bei der Verabreichung eines Prüfmusters, wenn eine einzelne oder eine sehr begrenzte Anzahl an intraperitonealen Behandlungen erforderlich ist. Die aktuellen Erfahrungen weisen darauf hin, dass 5 ml/kg Sesamölextrakt intermittierend verabreicht, gut toleriert werden. Ausreichende Einzelberichte legen nahe, dass ein peritoneales Restvolumen (PRV) nicht-wässriger Injektate von 5 ml/kg bis 10 ml/kg für bis zu drei Tage fortbesteht. Folglich gilt bei der wiederholten peritonealen Verabreichung nichtpolarer Medizinproduktextrakte bei gleichzeitiger Verabreichung einer intravenösen Injektion von 10 ml/kg ein Dosisvolumen von 5 ml/kg als unwahrscheinlich, bei den Versuchstieren eine übermäßige Belastung zu verursachen, und stellt ein annehmbares verlängertes Expositionsvolumen bei nichtpolaren Extrakten dar.

Verschiedene Komplikationen bei dem intraperitonealen Verabreichungsweg sind gut dokumentiert. Diese umfassen Blutungen an der Injektionsstelle, Darmparalyse durch die injizierte Substanz, Verletzungen der Bauchorgane, Peritonitis und Injektion in den Magen-Darm-Trakt oder in die Blase. In diesem Zusammenhang wird die Häufigkeit fehlerhafter intraperitonealer Injektionen durch erfahrene Prüfer mit 11 % bis 20 % angegeben (siehe Literaturhinweis [18]). In dieser Hinsicht und unter Berücksichtigung des peritonealen Restvolumens (PRV) und der Möglichkeit der Erhöhung des intraperitonealen Injektatvolumens mit einer zu häufigen Verabreichung gilt ein Verabreichungsschema von dreimal wöchentlich als unwahrscheinlich, bei den Versuchstieren eine übermäßige Belastung zu verursachen, und stellt eine annehmbare verlängerte Expositionshäufigkeit bei nichtpolaren wässrigen Injektaten dar.

Allgemeine Aspekte des Studienaufbaus werden in Abschnitt 6 behandelt.

Literaturhinweise

Allgemein

- [1] ISO 10993, *Biological evaluation of medical devices*
- [2] ASTM F619-03, *Standard Practice for Extraction of Medical Plastics*
- [3] AAMI/ST72, *Bacterial Endotoxin — Test methods, routine monitoring, and alternatives to batch testing*
- [4] U.S./EPA PB 86/108958 and 89/124077
- [5] U.S./FDA Toxicological principles for the safety assessment of direct food additives, 1982
- [6] U.S. Code of Federal Regulation 1500.40: Method of Testing Toxic Substances
- [7] United States Pharmacopoeia 26: Biological Reactivity Tests, In Vivo; The National Formulary 21, Rockville, MD; Pharmacopoeial Convention, 2003, pp. 2028-2032
- [8] European Pharmacopoeia. Eighth Edition, 2014
- [9] MHLW Notification by Director, OMDE, Yakushokuki-hatsu 0301 No. 20, March 1, 2012. Basic Principles of Biological Safety Evaluation Required for Application for Approval to Market Medical Devices
- [10] OECD Series on Testing and Assessment No. 129: Guidance Document on Using Cytotoxicity Tests to Estimate Starting Doses for Acute Oral Systemic Toxicity Tests

Verweisungen zum Dosierungsvolumen

- [11] HULL R.M. Guideline limit volumes for dosing animals in the preclinical stage of safety evaluation. *Human and Environmental Toxicology*. 1995, 14 pp. 305–307
- [12] DERELANKO M.J., HOLLINGER M.A. *CRC Handbook of Toxicology*. CRC Press, NY, Second Edition, 2001, pp. 98.
- [13] DIEHL K.-H., HULL R., MORTON D., PFISTER R., RABEMAMPIANINA Y., SMITH D. VIDAL, J.-M, VAN DE VORSTENBOSCH. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J. Appl. Toxicol.* 2001, 21 pp. 15–23
- [14] MORTON D. et al. Effects of infusion rates in rats receiving repeated large volumes of intravenous saline solution. *Lab. Anim. Sci.* 1997, 47 pp. 656–659
- [15] RICHMOND J.D. Dose limit volumes: The United Kingdom view — past and present. Presented at the Humane Society of the United States — Refinement in Toxicology Testing: Dosing Data: Volume and Frequency, March 14, 1999, New Orleans, LA
- [16] MORTON D.B. et al. Refining procedures for the administration of substances. Report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Lab. Anim.* 2001, 35 pp. 1–41
- [17] Laboratory Animal Science Association (LASA) Good Practice Guidelines: Administration of Substances (Rat, Mouse, Guinea Pig, Rabbit) – Series 1/Issue 1 – October 1998
- [18] NEBENDAHL K. Routes of Administration. In: *The Laboratory Rat: A Volume in Handbook of Experimental Animals*, (KRINKE G.J., ed.). Elsevier Ltd, 2000, pp. 463–83

- [19] GAINES DAS R., NORTH D. Implications of experimental technique for analysis and interpretation of data from animal experiments: outliers and variability resulting from failure of intraperitoneal injection procedures. Lab Anim. (NY). 2007, 41 (3) pp. 312–320
- [20] CORIA-AVILA GA, GAVRILA AM, BA1, SHANN MÉNARD S, ISMAIL N, PFAUS JG. Cecum location in rats and the implications for intraperitoneal injections. Lab. Anim. 2007, 36 (7) pp. 25–30
- [21] OECD. (1981 - 2013): http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788