



# Bedeutung alternativer Methoden zum Tierversuch zur Bewertung der Biokompatibilität von Medizinprodukten

DI GABRIELE ETTENBERGER - OFI

- Akkreditierte Prüf-, Inspektions- & Zertifizierungsstelle sowie akkreditierter Anbieter von Eignungsprüfungen
- Notifizierte Stelle gemäß Europäischer Bauproduktenverordnung
- Unabhängiger Partner in der Qualitätssicherung
- Technology Translator – Technologie- und Wissenstransfer zu KMU
- Experte für angewandte Forschung, Entwicklung & Innovation
- Mitglied der ACR - Austrian Cooperative Research



*1946 gegründet*  
*Rund 120 Mitarbeiter\*innen*  
*Umsatz 2022 von EUR 14,8 Mio.*

# Unsere GESCHÄFTSFELDER



## BAUWERKSERNEUERUNG



**Bauwesen**



**Baustoffe**

## WERKSTOFFANWENDUNGEN



**Verpackung, Recycling  
& Gefahrguttransport**



**Wasseraufbereitung, Armaturen  
& Rohrleitungstechnik**



**Bauprodukte**



**Sporttechnologie**



**Pharma, Medizinprodukte  
& Hygiene**



**Technische Kunststoffbauteile,  
Klebungen & Beschichtungen**

- Biokompatibilität
- Regulatorische Hintergründe
- Teststrategien
- Forschungsprojekt AutoMTP



Quelle: OF, Lego

Die Biokompatibilität bezieht sich auf die Fähigkeit eines medizinischen Produkts, in Kontakt mit biologischem Gewebe zu treten, **ohne schädliche Auswirkungen auf den Organismus** hervorzurufen.

Ein biokompatibles Medizinprodukt sollte so gestaltet und hergestellt sein, dass es gut mit biologischem Gewebe interagiert, **ohne unerwünschte Reaktionen** wie Entzündungen, Immunreaktionen oder Toxizität auszulösen.



Quelle: pixabay



Die Biokompatibilität wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst, einschließlich

- der chemischen Zusammensetzung des Materials
- seiner physikalischen Eigenschaften (wie Oberflächenrauheit und Struktur)
- der Art und Dauer des Kontakts mit dem Gewebe

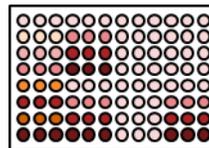


Quelle: OFI



Es ist wichtig, dass Medizinprodukte, insbesondere solche, die implantiert oder über längere Zeiträume verwendet werden, strenge biokompatible Standards erfüllen, um sicherzustellen, dass sie sicher und effektiv im menschlichen Körper eingesetzt werden können.

Dies wird durch umfassende Tests und Prüfungen während des Entwicklungsprozesses sichergestellt.



Richtlinie 2010/63/EU zum „Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere“ legt die Standards für den Schutz von Tieren fest, die für wissenschaftliche Zwecke verwendet werden.

Verordnung (EU) 2019/1010 zur Angleichung der Berichterstattungspflichten: (2) Die Mitgliedstaaten erfassen jedes Jahr statistische Daten über die Verwendung von Tieren in Verfahren und stellen diese öffentlich zur Verfügung.



Quelle: OFI, Lego

Die Medical Device Regulation (MDR) ist eine EU-Verordnung für Medizinprodukte und stellt Anforderungen an Hersteller von Medizinprodukten, aber auch an benannte Stellen, Händler, Importeure und Gesundheitseinrichtungen wie Krankenhäuser.

MDR: Biokompatibilität ist eine Anforderung, aber nicht näher definiert

Die „BIBEL“ der Biokompatibilitätsbewertung für Medizinprodukte ist ISO 10993



Die MDR spricht sich ganz klar für die 3 R Prinzipien (Replace – Reduce – Refine) aus:

- (73) Die Prinzipien der Vermeidung, Verminderung und Verbesserung im Bereich von Tierversuchen, die in der Richtlinie 2010/63/EU des Europäischen Parlaments und des Rates festgelegt sind, sollten eingehalten werden.
- Insbesondere sollte die unnötige doppelte Durchführung von Versuchen und Studien vermieden werden.

Die MDR definiert nicht nur verschiedene Medizinprodukte, sondern fordert gleichzeitig eine entsprechende Risikobewertung.

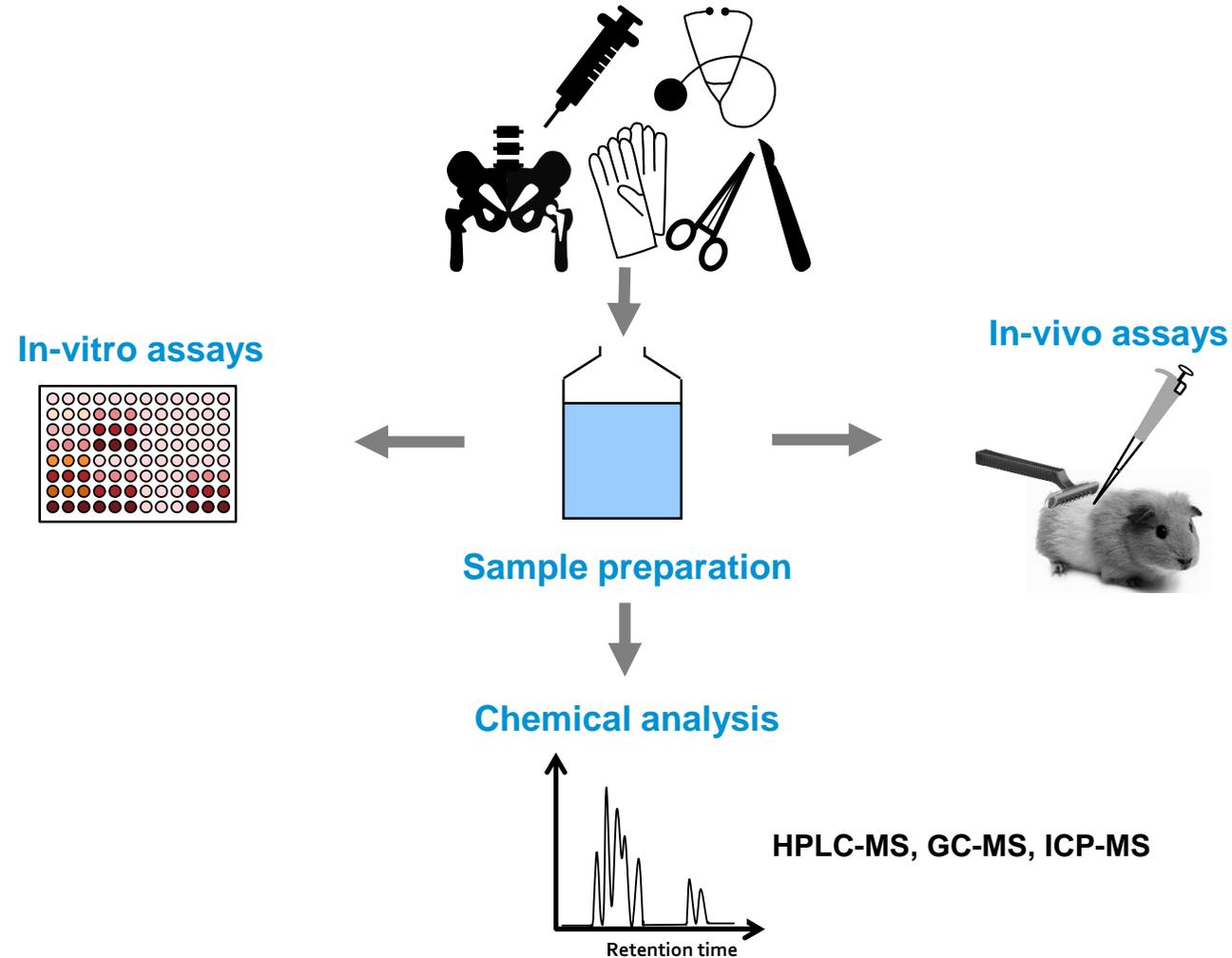
Da die MDR nur die Eignung der abgeleiteten Daten, nicht jedoch deren Herkunft und Methode spezifiziert, ist die ISO 10993 ein gemeinsames und weit verbreitetes Regulierungsinstrument für die Bewertung der Biokompatibilität von Medizinprodukten unter verschiedenen Ansätzen.

Die ISO 10993 ist ein Normenreihe.

Entwickelt und etabliert vom International Standards Organisation (ISO) 1995 um die biologische Verträglichkeit und Produktsicherheit von Medizinprodukten am Menschen sicherzustellen.

ISO 10993-1, B.3.2 Risk Control: „Es wird betont, dass die Durchführung von Tierversuchen zur Risikominderung erst dann in Betracht gezogen werden sollte, wenn alternative Vorgehensweisen (Überprüfung des Vorwissens, chemische oder physikalische Charakterisierung, in vitro Bewertungen oder alternative Mittel zur Schadensbegrenzung) ausgeschöpft sind.“

# Prüfstrategien Medizinprodukte: Biokompatibilität



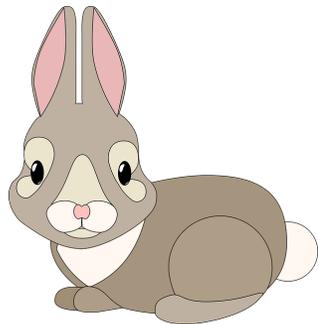
Quelle: OFI



# Prüfstrategie Medizinprodukte: Alt

Es geht immer um die Sicherheit für den Patienten.

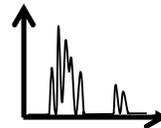
Gesundheitsgefährliche Substanzen im Produkt sollen durch Prüfstrategien rechtzeitig erkannt werden, bevor das Produkt mit dem Patienten in Kontakt kommt.



Feedback durch Untersuchung  
des Gesundheitszustandes des  
Tieres

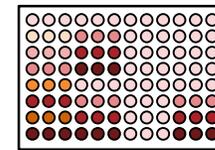
Quelle: OFI

## In-Chemico Studien



Identifizierung der einzelnen  
Substanzen  
Toxikologie mit Hilfe von  
Datenbanken

## In-vitro Studien



Feedback durch Endpunkte bei  
Hautmodelle und Zellkulturen  
(Viabilität, IL6, etc.)

## In-silico Studien



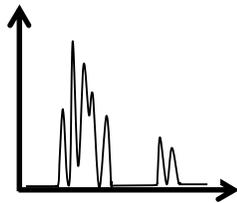
Datenbanken, SARS, QSAR,  
AOPs, AI, etc.: Vorhersagen  
Absorption, Verteilung,  
Stoffwechsel, Ausscheidung,  
biologische Aktivität, etc.

# Prüfstrategie Medizinprodukte: Neu

Es geht immer um die Sicherheit für den Patienten.

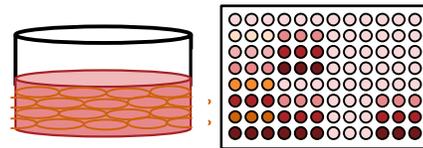
Gesundheitsgefährliche Substanzen im Produkt sollen durch Prüfstrategien rechtzeitig erkannt werden, bevor das Produkt mit dem Patienten in Kontakt kommt.

## In-Chemico Studien



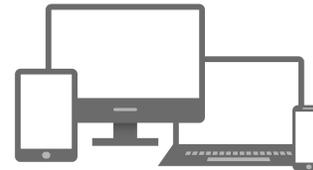
Identifizierung der einzelnen Substanzen  
Toxikologie mit Hilfe von Datenbanken

## In-vitro Studien



Feedback durch Endpunkte bei Hautmodelle und Zellkulturen (Viabilität, IL6, etc.)

## In-silico Studien



Datenbanken, SARS, QSAR, AOPs, AI, etc.: Vorhersagen Absorption, Verteilung, Stoffwechsel, Ausscheidung, biologische Aktivität, etc.

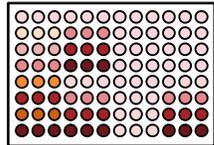


Feedback durch Untersuchung des Gesundheitszustandes des Tieres

Quelle: OFI

# Biologische Tests (in-vivo/ in-vitro) vs. Chemische Analysen

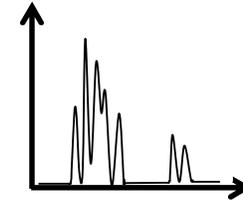
## In-vitro Assays



## In-vivo Assays



## Chemische Analyse



Information über einen definierten Endpunkt

Keine Information, welche Substanz den Effekt verursacht

Informationen über Substanzen  
(nicht 100% immer möglich)

Informationen über Endpunkte  
(nicht 100% immer möglich)

Quelle: OFI



Die ISO 10993-1 enthält eine Test-Matrix, die bei der Auswahl geeigneter Prüfverfahren für die Einführung eines neuen Medizinproduktes hilfreich ist.



Quelle: OFI

# Matrix



Medical device categorization by																		
Nature of body contact		Contact duration	Physical and chemical info	Cytotoxicity	Sensitization	Irritation	Pyrogenicity	Acute systemic toxicity	Sub-acute toxicity	Sub-chronic toxicity	Chronic toxicity	Implantation effects	Hemocompatibility	Genotoxicity	Carcinogenicity	Reproductive toxicity*		
category	contact	A, B, C																
Surface device	Intact skin	A	X	E	E	E												
		B	X	E	E	E												
		C	X	E	E	E												
	Mucosal membrane	A	X	E	E	E												
		B	X	E	E	E	E	E	E			E			E			
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E	E			E			
	Breached surface	A	X	E	E	E	E	E	E									
		B	X	E	E	E	E	E	E	E		E						
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E	E			E	E		
External communicating device	Blood path, indirect	A	X	E	E	E	E	E					E					
		B	X	E	E	E	E	E	E				E					
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E	E		E	E			
	Tissue, bone, dentin	A	X	E	E	E	E	E										
		B	X	E	E	E	E	E	E			E			E			
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E	E			E	E		
	Circulating blood	A	X	E	E	E	E	E						E	E			
		B	X	E	E	E	E	E	E				E	E	E			
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E	E		E	E	E		
Implant device	Tissue/ bone	A	X	E	E	E	E	E										
		B	X	E	E	E	E	E	E		E			E				
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E	E			E	E		
	blood	A	X	E	E	E	E	E					E	E	E			
		B	X	E	E	E	E	E	E				E	E	E			
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E	E		E	E	E		

**ISO 10993-1:2018**  
 Biological Evaluation of medical device - Part 1: Evaluation and testing within a risk management process

**Single, multiple or repeated contact time:**

- (A) contact is up to 24 h.
- (B) contact exceed 24 h but not exceed 30 d.
- (C) contact time exceeds 30 d

- ISO 10993-1:2018 Biological evaluation of medical devices Part 1: Evaluation and testing within a risk management process
- ISO 10993-2:2006 Biological evaluation of medical devices Part 2: Animal welfare requirements
- ISO 10993-3:2014 Biological evaluation of medical devices Part 3: Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity
- ISO 10993-4:2017 Biological evaluation of medical devices Part 4: Selection of tests for interactions with blood
- ISO 10993-5:2009 Biological evaluation of medical devices Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity.
- ISO 10993-6:2016 Biological evaluation of medical devices Part 6: Tests for local effects after implantation
- ISO 10993-7:2008 Biological evaluation of medical devices Part 7: Ethylene oxide sterilization residuals



- ISO 10993-8:2001 Biological evaluation of medical devices Part 8: Selection of reference materials (withdrawn)
- ISO 10993-9:2010 Biological evaluation of medical devices Part 9: Framework for identification and quantification of potential degradation products
- ISO 10993-10:2021 Biological evaluation of medical devices — Part 10: Tests for skin sensitization
- ISO 10993-11:2018 Biological evaluation of medical devices Part 11: Tests for systemic toxicity
- ISO 10993-12:2021 Biological evaluation of medical devices Part 12: Sample preparation and reference materials (available in English only)
- ISO 10993-13:2010 Biological evaluation of medical devices Part 13: Identification and quantification of degradation products from polymeric medical devices
- ISO 10993-14:2009 Biological evaluation of medical devices Part 14: Identification and quantification of degradation products from ceramics



- ISO 10993-15:2009 Biological evaluation of medical devices Part 15: Identification and quantification of degradation products from metals and alloys
- ISO 10993-16:2018 Biological evaluation of medical devices Part 16: Toxicokinetic study design for degradation products and leachables
- ISO 10993-17:2009 Biological evaluation of medical devices Part 17: Establishment of allowable limits for leachable substances
- ISO 10993-18:2020 Biological evaluation of medical devices Part 18: Chemical characterization of medical device materials within a risk management process
- ISO/TS 10993-19:2006 Biological evaluation of medical devices Part 19: Physico-chemical, morphological and topographical characterization of materials
- ISO/TS 10993-20:2006 Biological evaluation of medical devices Part 20: Principles and methods for immunotoxicology testing of medical devices
- ISO/TR 10993-22:2017 Biological evaluation of medical devices Part 22: Guidance on nanomaterials
- ISO 10993-23:2021 Biological evaluation of medical devices — Part 23: Tests for irritation



## EN ISO 10993-18: Biologische Beurteilung von Medizinprodukten – Teil 18: Chemische Charakterisierung von Werkstoffen

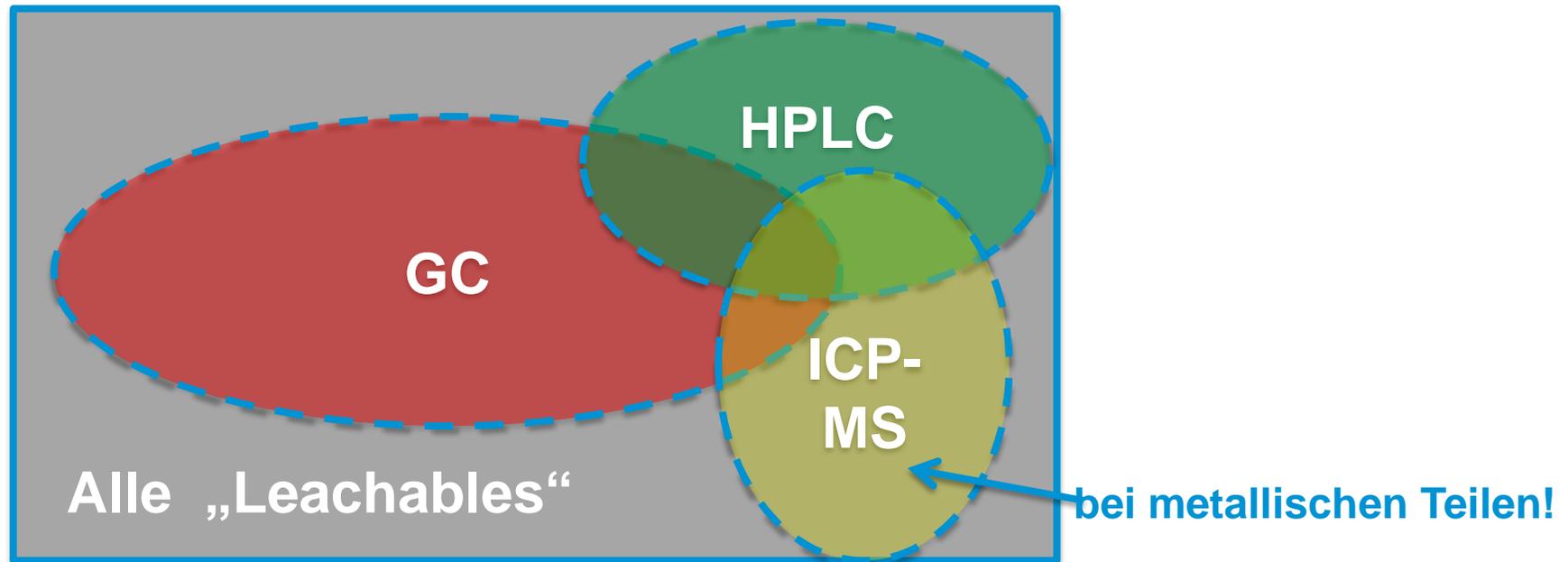
- Erschöpfende Extraktion, Simulierende Extraktion
- Polymeren: Chemische Struktur (MS, FTIR, NMR), Charakterisierung der Copolymere (IR/NMR), physikalische Kettenkonfigurationen (Taktizität, Vernetzungsgrad, Verzweigungen), Zusatzstoffe (HPLC), Oberflächen (FTIR), Monomerrückstände (GC, HPLC), Molekulargewicht (Viskometrie)



Quelle: OFI

- Metallen, Legierungen: Chemische Struktur (ICP), kristallographische Phasen (Röntgenbeugung), Verteilung der Elemente in den Phasen (EDX), Oberflächen (EDX), Mikro und Makrostruktur (Metallographie)
- Keramik: Chemische Zusammensetzung (ICP), Anionen (IC), Valenzen (Kolorimetrie), Phasen (Röntgenstrahldiffraktion), Mikrostruktur (Mikroskopie), Extrahierbarkeit (ICP)

Leider keine „Universal-Methode“  
Mehrere Analysenmethoden sind notwendig!



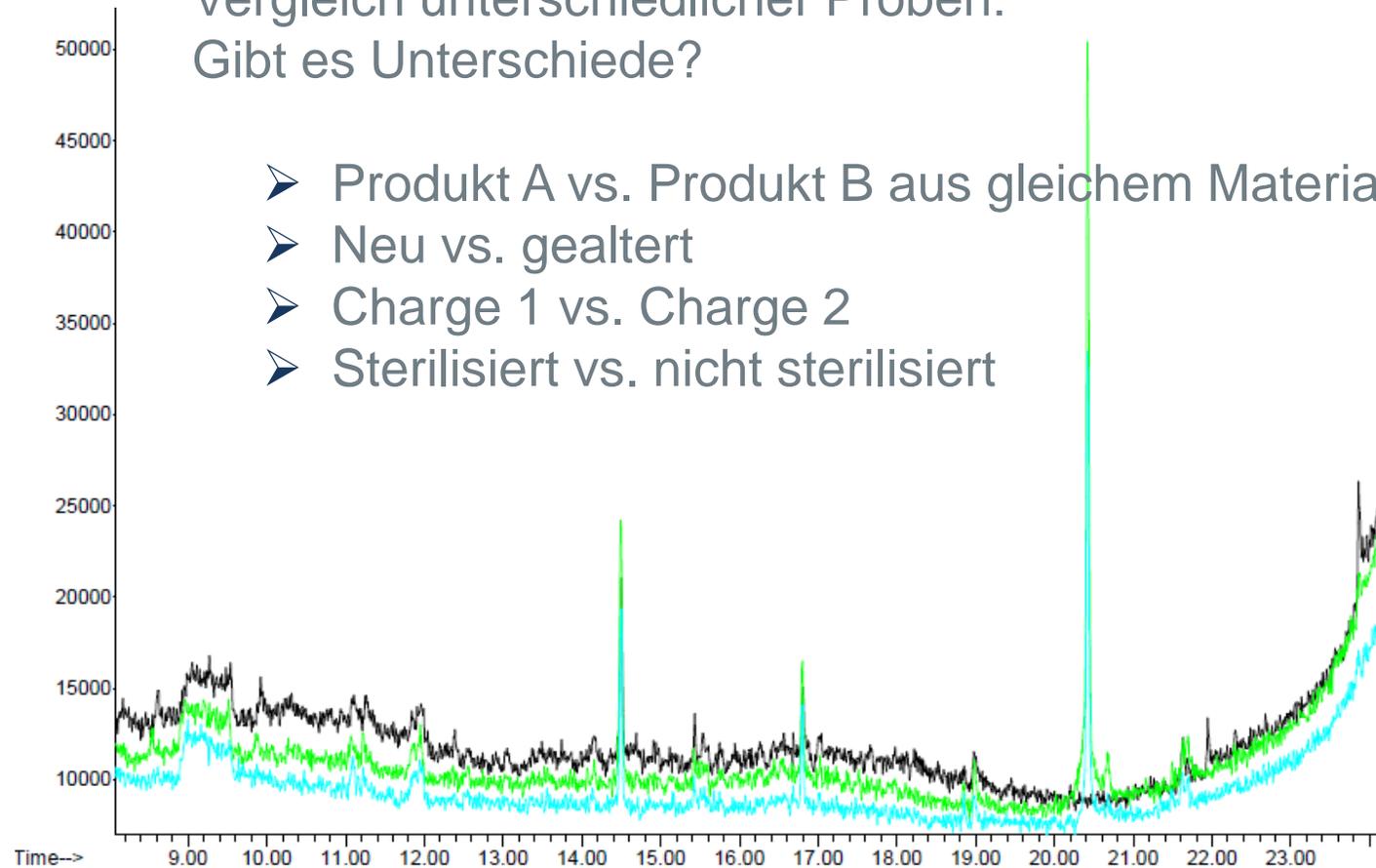
Quelle: OFI

Auch wenn nicht alle Substanzen erfasst werden können:

- Kombination: GC, HPLC, ICP-MS ist immer ausreichend!

Vergleich unterschiedlicher Proben:  
Gibt es Unterschiede?

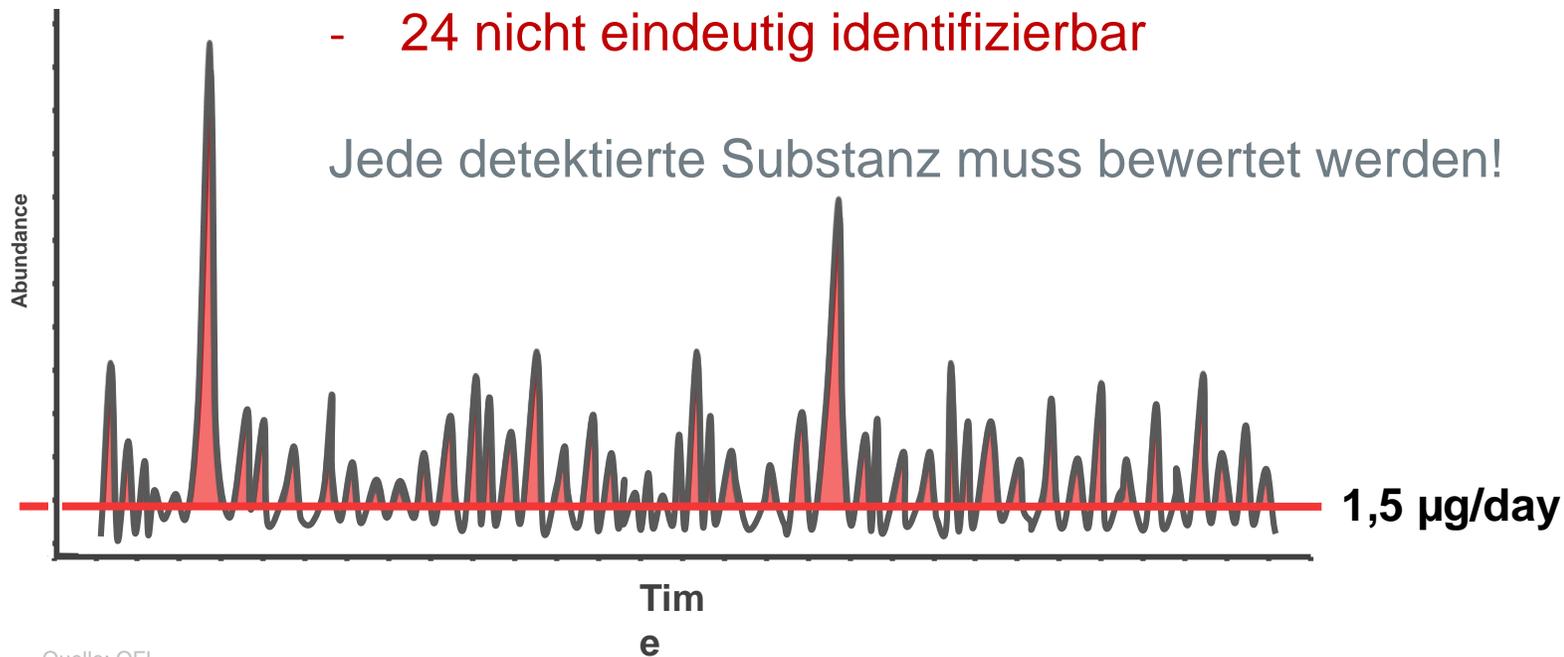
- Produkt A vs. Produkt B aus gleichem Material
- Neu vs. gealtert
- Charge 1 vs. Charge 2
- Sterilisiert vs. nicht sterilisiert



Für Risikobewertung: Identifizierung notwendig!

- 51 detektierte Peaks im GC Screening
- 24 nicht eindeutig identifizierbar

Jede detektierte Substanz muss bewertet werden!



Quelle: OFI

- TTC....Threshold of toxicological concern:
- Risikomanagement-Tool auf Basis von Statistik
- Bei nicht identifizierbaren Substanzen:
- Auch wenn man gar nichts über eine Substanz weiß:
- Unterhalb von 1,5 µg täglicher Aufnahme vernachlässigbares Risiko

Annahme: Worst Case → genotoxische/DNA-reaktive Substanz



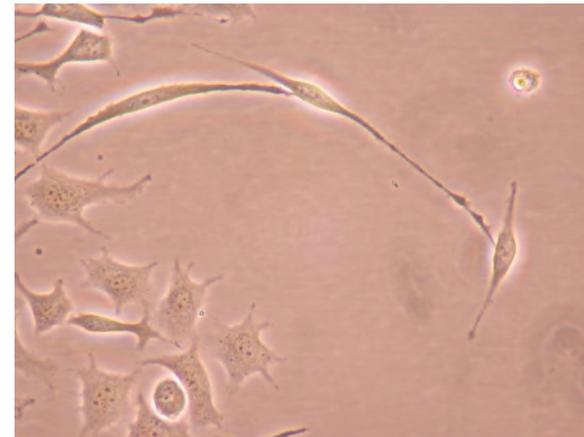
# Chemische Charakterisierung nach ISO 10993-18

TTC....Threshold of toxicological concern:  
Risikomanagement-Tool auf Basis von Statistik

Dauer Körperkontakt	1 Monat	>1 Monat-12 Monate	>1 Jahr-10 Jahre	> 10 Jahre
Tägliche Einnahme $\mu\text{g}/\text{d}$	120	20	10	1.5

Quelle: ICH HARMONISED GUIDELINE, M7(R1)

- EN ISO 10993-5: Biologische Beurteilung von Medizinprodukten – Teil 5: Prüfungen auf In-vitro-Zytotoxizität
- USP 87
- Zelllinie L929 Mausfibroblasten

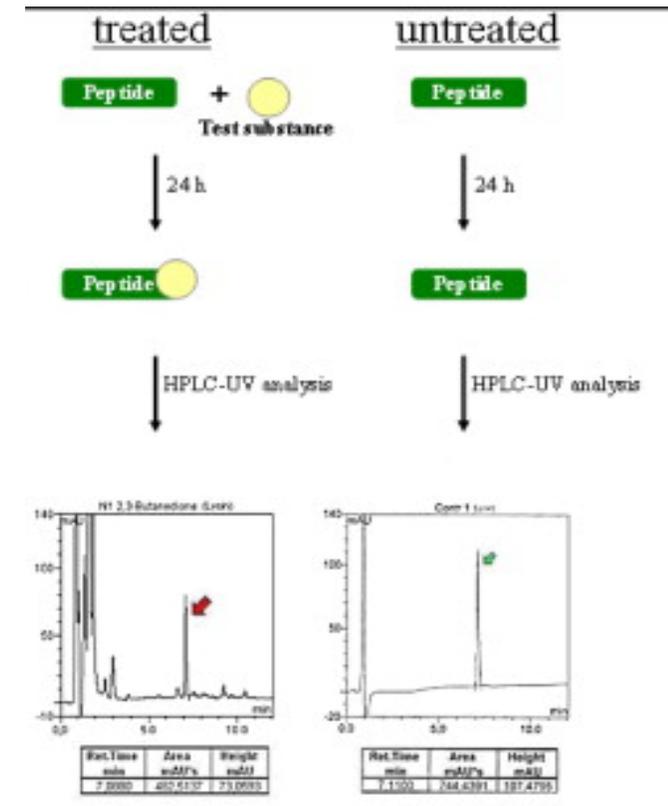


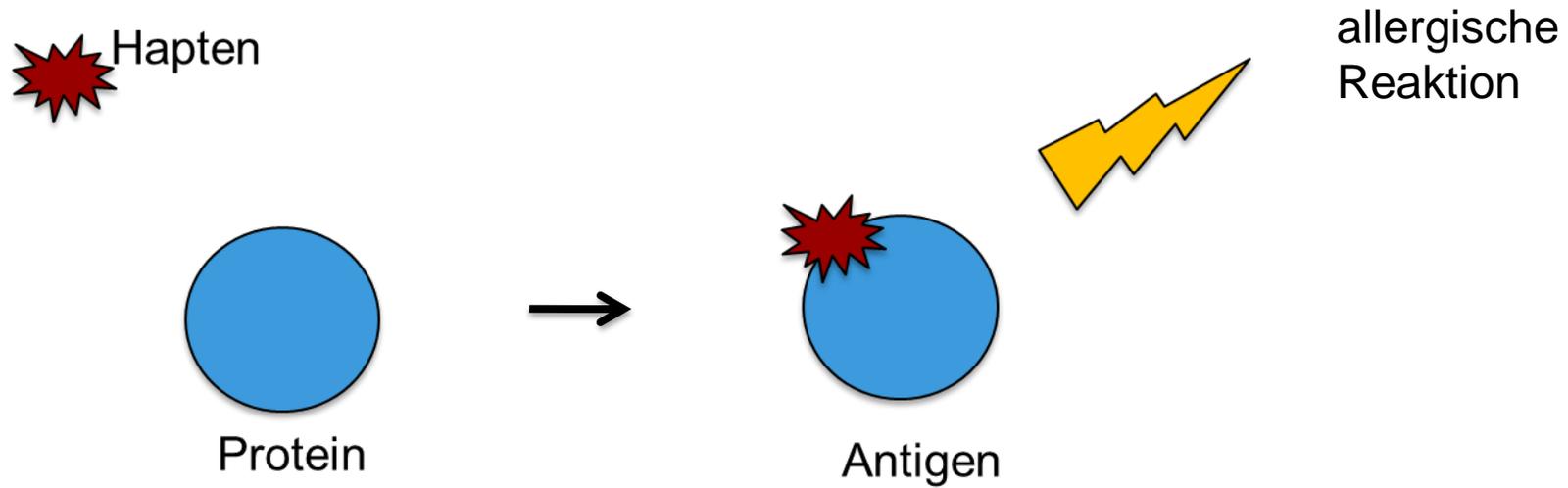
Quelle: OFI

- OECD-Richtlinie Nr. 442C sowie
- ISO 10993-10: in-vitro-Methoden im Anhang C

## Direct Peptide Reactivity Assay DPRA

- Allergene Wirkung der Haptene erst bei Bindung an Carrier Moleküle (Proteine)
- Kovalente Disulfid Bindung
- Methodik:
  - HPLC-UV/VIS
  - HPLC-MS/MSn



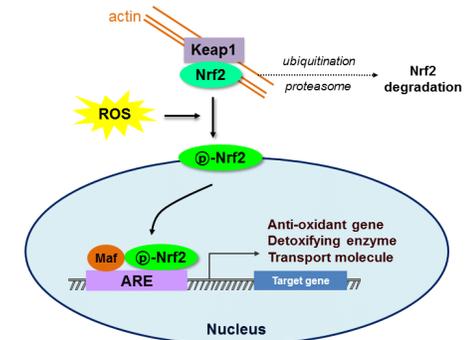


Quelle: OFI

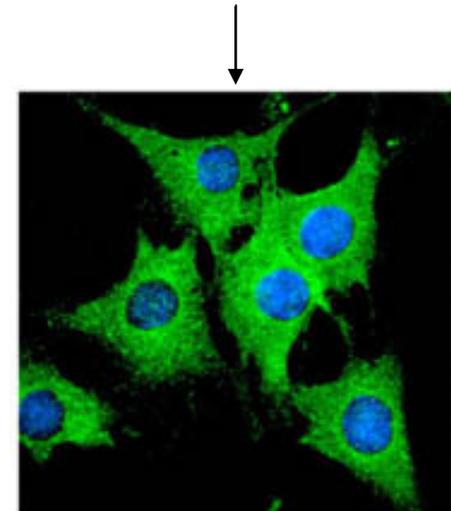
- OECD-Richtlinie Nr. 442D sowie
- ISO 10993-10: in-vitro-Methoden im Anhang C

## Antioxidant Response Element Screen - ARE

- Kovalente Bindung von Kontaktallergenen
- Keap1-Nrf2-Komplex dissoziiert
- Transkriptionfaktor Nrf2 bindet am ARE Promotor
- Expression eines Reportergens (z.B. Luciferase)

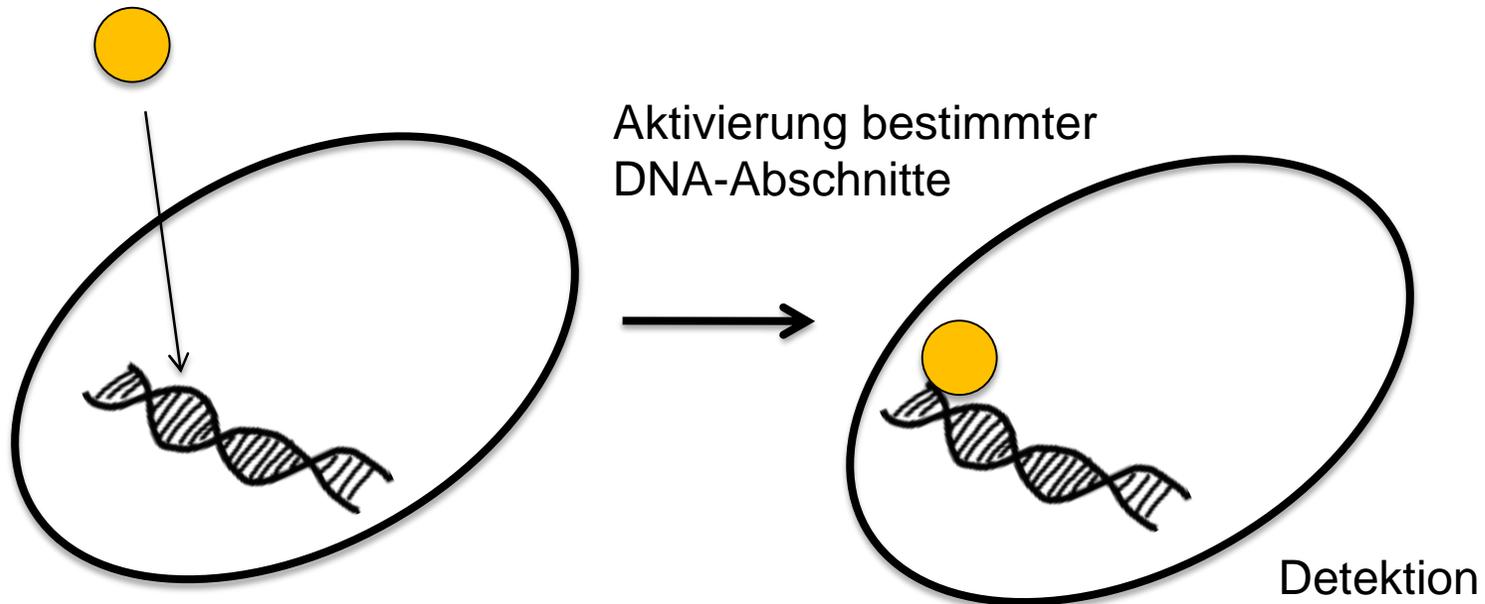


Quelle: Yoon Sin Oh, 2017

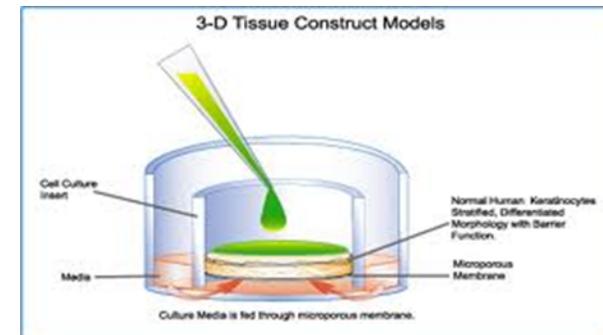


## Aktivierung des ARE Pathways (Antioxidant response element)

sensibilisierende  
Substanz



- ISO 10993-23:2021(en)
- Biological evaluation of medical devices — Part 23: Tests for irritation
- In-vitro Methoden jetzt im Hauptteil



Quelle: MatTek EpiDerm™

## AUTOMATED MASS TISSUE PRODUCTION' (AutoMTP):

- Das Projekt zielt auf die Produktion von In-vitro-3D-Geweben ab, indem die Vorteile anhand von zwei Anwendungsfällen in Zusammenarbeit mit Endbenutzern (G.ST & OFI) demonstriert werden.
- Verbesserung, Automatisierung und Digitalisierung des Produktionsprozesses bei der Kultivierung von 3D-Geweben

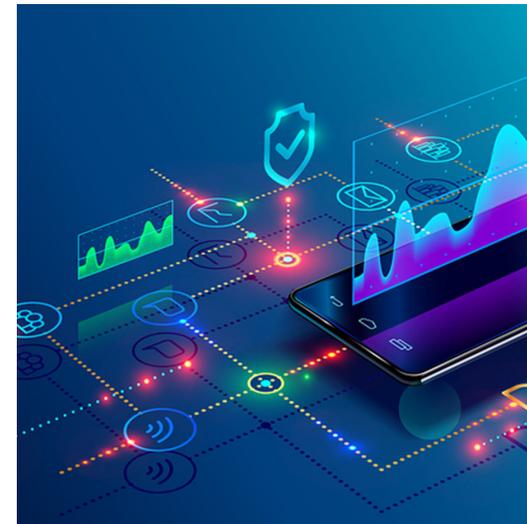


Foto: LifeTaq-Analytics GmbH

## AUTOMATED MASS TISSUE PRODUCTION' (AutoMTP): Projekt Konsortium

- LifeTaq-Analytics GmbH (consortium leader)
- BioSistemika d.o.o. (industry partner / software developer)
- G.ST Antivirals GmbH (industry partner / champion user)
- Österreichisches Forschungsinstitut für Chemie und Technik, OFI (research partner / champion user)

Herzlichen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!





DI Gabriele Ettenberger-Bornberg, BA  
Pharma, Medizinprodukte, Hygiene

t: +43 1 798 16 01 – 624  
gabriele.ettenberger@ofi.at

OFI

1030 Wien, Franz-Grill-Straße 5, Objekt 213

office@ofi.at | www.ofi.at