

Photosensibilisierungstest	SOP/18
----------------------------	---------------

Version: 01

Diese SOP ist im Zusammenhang mit folgenden SOPs zu lesen:
 Änderungen gegenüber der letzten Fassung: keine

farbiger Stempel des QMK

1 Zweck und Ziel

In dieser SOP wird ein Test beschrieben, durch den die photosensibilisierende Potenz einer Substanz abgeschätzt werden kann.

2 Geltungsbereich

Von einer Reihe von Stoffen ist bekannt, daß sie enteral oder lokal appliziert die Empfindlichkeit der Haut für die UV-Sonnenstrahlung verändern. Dieser Einfluß wird Photosensibilisierung genannt. Zwei Mechanismen sind dabei zu unterscheiden:

- die Photoallergie als eine Reaktion gegen das durch Sonnenstrahlung entstehende Allergen.
- die Phototoxizität als veränderte Reaktion gegen den toxischen Einfluß einer Substanz. Ein Sonderfall ist die Kontaktphototoxizität, die nur am Ort der Applikation beobachtet wird.

Da die Photoallergie nicht dosisabhängig ist, ist ihre Bedeutung für die Photosensibilisierung wichtig. Verantwortlich für die Photoallergien der Haut ist nahezu ausschließlich die UV-A-Strahlung (langwelliges Licht > 320 nm), die sich durch entsprechende Strahler unter Laborbedingungen anwenden läßt.

Im Rahmen einer klinischen Prüfung wird die zu prüfende Substanz mit einem Testpflaster auf die Haut gebracht und in definierten Zeitabständen bestrahlt. Die Reaktion der behandelten und bestrahlten Haut wird mit der Reaktion unbehandelter, aber bestrahlter und mit der Reaktion behandelter und nicht bestrahlter Haut verglichen.

3 Beschreibung

3.1 Lichtquelle

Photoallergische Reaktionen lassen sich am ehesten durch solche UV-Strahlen auslösen, deren Wellenlänge dem Absorptionsspektrum des zu untersuchenden Stoffes entspricht. Damit treten photoallergische Reaktionen fast ausschließlich im UV-A (> 320 nm)-Licht auf, unter UV-B (< 320 nm) sind sie sehr selten.

Soll nur der UV-A-Bereich angewandt werden, wird die Lichtquelle 'UVA SUN 5000' der Firma Prof. Mutzhaas, München, benutzt.

Sollen beide Wellenbereiche untersucht werden, wird als Lichtquelle analog der DIN 670 501 die Glühbirne 'Ultravitalux' der Firma Osram verwandt. Die Fassungen sind unter ein Brett in schwenkbaren Fassungen montiert. Mit einer Blende wird die Haut so abgedeckt, daß nur das zu bestrahlende Areal frei ist.

Der Abstand zwischen Haut und Strahlenquelle wird festgelegt entsprechend den lokalen Bedingungen. Er sollte bei ca. 60 cm liegen und während der Bestrahlungsserie nicht variiert werden. Die Intensität wird über die Dauer der Bestrahlung verändert.

Die Strahlendosis wird in Joule/cm² angegeben (das entspricht dem Produkt aus der Bestrahlungsstärke in Watt/cm² und der Zeit in Sekunden).

Am Gerät wird nur die Dauer der Bestrahlung variiert. Es wird die Zeit in Sekunden errechnet nach der Formel

$$\text{Bestrahlungszeit (sec)} = \frac{\text{Strahlendosis} \left(\frac{\text{Joule}}{\text{cm}^2} \right)}{\text{Bestrahlungsstärke} \left(\frac{\text{mWatt}}{\text{cm}_2} \right)} * 1000 \left(\frac{\text{mWatt}}{\text{Watt}} \right)$$

(Bei dem Vergleich mit Angaben in J/m² ist darauf zu achten, daß 10000 cm² einem m² entsprechen.)

3.2 Kontrolle des Bestrahlungsgerätes

Bei allen UV-Lichtquellen schwankt die Intensität der Strahlung je nach Bedingungen (Betriebsdauer, Betriebstemperatur, Umgebungstemperatur, Einbrenndauer etc.). Eine verlässliche Angabe über die Intensität ist nur möglich, wenn die Intensität der Strahlenquelle regelmäßig gemessen wird.

Die Intensität der Strahlung wird mit dem Meßgerät 'Centra' der Firma Osram mit Sonden für UV-A und UV-B Strahlung in Watt/cm² gemessen. Bei größeren Bestrahlungsflächen ist die Gleichmäßigkeit der Intensität zu überprüfen. Sie soll nach DIN 670501 in einer Fläche von 30 x 40 cm das Verhältnis 1:1.2 nicht überschreiten.

Für die Messung muß die Strahlenquelle solange in Betrieb sein, bis die Strahlungsenergie konstant ist (Einbrennen). Gegebenenfalls muß die Lampe 20 h vor Betriebsbeginn eingeschaltet werden.

3.3 Strahlendosis

Wichtiger als die absolute Intensität der Bestrahlung ist die Empfindlichkeit der Haut gegenüber dem UV-Licht. Dabei spielt das UV-B-Licht wegen seiner erythemerzeugenden Wirkung die größere Rolle.

Die Intensität der Bestrahlung wird im Prüfplan festgelegt.

Um die individuelle Empfindlichkeit der Haut zu berücksichtigen, wird die minimale Erythemdosis (MED) festgestellt. Dazu wird in Abständen von 25% je ein Feld bestrahlt, beginnend mit 0.3 mJ/cm². Die weitere Bestrahlung erfolgt ausgehend von diesem Wert.

Für UV-B-Strahlung liegt die MED bei ca. 0.06 mJ/cm².

Von diesem Wert kann man ausgehen und im Abstand von zwei Tagen in Schritten von 25% Dosissteigerung fortfahren.

Mit der UV-A-Lampe werden 5 - 10 Joule/cm² eingestrahlt.

Die Bestrahlung sollte aus einer Entfernung von 65 cm erfolgen. Die Intensität muß vor Beginn einer Bestrahlungsserie nachgemessen werden (s.o.).

3.4 Ablauf

3.4.1 Test auf eine bestehende Photoallergie

Es soll geprüft werden, ob bei dem Patienten/Probanden eine Photoallergie gegen die Prüfsubstanz vorliegt.

Am Tag 0 wird die Testsubstanz mit zwei Epicutanpflastern auf die Haut am Rücken zwischen Wirbelsäule und Schulterblatt einmal links und einmal rechts aufgebracht. Unter dem linken Pflaster wird ein weiteres Pflaster ohne Prüfsubstanz angebracht.

Am Tag 1 werden die Testpflaster entfernt, die Reaktion abgelesen und die Testfelder links der Wirbelsäule wie unter 3.3 beschrieben bestrahlt.

Die Umgebung der Testfelder wird sorgfältig abgedeckt. Der Proband darf den Rücken bis Testende (4. Tag) nicht der Sonne aussetzen.

Am 2. Tag werden die Testreaktionen aller Felder abgelesen.

Am 3. und 4. Tag wird wie am 2. Tag vorgegangen.

3.4.2 Test auf photoallergisierende Eigenschaften der Prüfsubstanz an einem Testkollektiv

Es soll untersucht werden, wieviele Personen eines unselektierten Testkollektives auf die Prüfsubstanz mit einer Photoallergie reagieren.

Es werden 50 Probanden beiderlei Geschlechts zwischen 18 und 40 Jahren behandelt.

Während der **Induktionsphase** wird die Prüfsubstanz fünfmal hintereinander auf zwei Testfeldern am Rücken appliziert. Ein drittes Feld wird nur mit einem Epicutanpflaster versehen (Die Pflasteranordnung ist 3.4.1 zu entnehmen). Nach 24 h werden ein Substanzfeld und das 'Leerfeld' bestrahlt.

Der Zeitplan wird im Prüfplan beschrieben.

Am ersten Tag der **Challengephase** (10 Tage nach Ende der Induktionsphase) wird wie am ersten Tag der Induktionsphase appliziert und bestrahlt. Die Hautreaktion wird danach mehrfach abgelesen, die genauen Zeiten werden im Prüfplan angegeben.

3.5 Beurteilung der Testergebnisse

Ph	?+	zweifelhafte Reaktion
Ph	+	schwache Reaktion
Ph	++	starke Reaktion
Ph	+++	sehr starke Reaktion

Ph	-	negative Reaktion
Ph	T	phototoxische Reaktion
Ph	NT	kein Phototest durchgeführt

Beurteilt wird die Hautreaktion am Ort der Applikation mit Bestrahlung gegenüber der Hautreaktion am Ort der Applikation ohne Bestrahlung und dem Ort mit Bestrahlung ohne Applikation. Es ist darauf zu achten, daß nur allergische Reaktionen gewertet werden und physikalische Irritationen unbewertet bleiben.

3.6 Testort, Testpflaster und Applikation

Zum Aufbringen der Pflaster wird der Rücken gewählt. Das Pflaster wird zwischen Wirbelsäule und Schulterblatt geklebt.

Es werden 'Leukotest' Epikutan-Testpflaster der Firma Beiersdorf AG, Hamburg, verwendet.

Die Prüfsubstanz wird auf das Vlies des Pflasters gebracht und unter leicht kreisenden Bewegungen die Salbe in die Haut gerieben und das Pflaster fixiert.

4 Dokumentation

Berechnung der Bestrahlungszeit

Meßprotokolle über die Strahlungsintensität

Aufzeichnungen im CRF aus Induktions- und Challengephase und des Testergebnisses

5 Zeitbedarf

6 Mitgeltende Unterlagen

Empfehlungen der International Contact Dermatitis Research Group

Bandmann H.J., Fregert S., Epicutantest, Einführung in die Praxis, 2. Auflage, Springer Verlag Berlin, 1982

DIN 670 501

MedGV

Geräteanweisungen für die eingesetzten Bestrahlungs- und Meßgeräte

Gebrauchsanweisung 'Leukotest' Epikutan-Testpflaster der Firma Beiersdorf AG

Prüfplan

7 Zuständigkeiten

Applikation erfolgt durch den Prüfarzt unter Mithilfe des Assistenzpersonals. Beurteilen und Dokumentation der Testergebnisse durch den Prüfarzt

Kenntnis epicutaner Testreaktionen

Kenntnis der Chemie und Pharmakologie der Prüfsubstanz, insbesondere von UV-Absorptionsspektren

8 Anlagen

Das Original der SOP ist beim QM-Koordinator archiviert unter dem Dateinamen Y:\Aktiv\GHP\5.2VAL\GCP\16SOP\SOP18.docx. Die SOP wird im 2-Jahres-Intervall - wenn nicht vorher der Bedarf besteht - überprüft. Eingezogene Versionen der SOP sind für 10 Jahre zu archivieren. Änderungsvorschläge sind schriftlich an den Autor oder an den QM-Koordinator zu richten.

Diese SOP wurde heute in das Verzeichnis der Standard-Arbeitsanweisungen aufgenommen und ist damit gültig.

Freigabevermerk: Hamburg, den

(Autor)

(Geschäftsführer)

(QM-Koordinator)

Verteiler

Original: QM-Koordinator

Kopie: GF, weitere Abteilungen: