



Möglichkeiten zur Reduzierung oder zum Ersatz von Tierversuchen, die in DIN-Normen vorgeschrieben sind

Katharina Zarnow und Horst Spielmann
ZEBET/BgVV, D-Berlin

Zusammenfassung

In DIN-Normen vorgeschriebene Tierversuche werden mit dem Ziel bewertet, sie durch tierversuchsfreie Methoden zu ersetzen. Durch das Inkrafttreten des Medizinproduktegesetzes in allen EU Mitgliedsstaaten im Jahre 1995 erhielten die in DIN-Normen festgeschriebenen Tierversuche zur Qualitäts- und Verträglichkeitsprüfung von Medizinprodukten eine neue, rechtlich abgesicherte Grundlage. Es wurden alle Normen erfaßt, in denen Tierversuche vorgeschrieben sind. In einem zweiten Schritt wurde geprüft, ob unter wissenschaftlichen und Verbraucherschutzaspekten diese Tierversuche durch tierversuchsfreie Methoden ersetzt werden können.

Die Tierversuche wurden bezüglich der Versuchsdurchführung, der Tierzahlen und Tierarten sowie des Leidens der Tiere erfaßt und bewertet. Nach dem 3R-Prinzip wurden Vorschläge erarbeitet, die Tierversuche so zu modifizieren, daß das Leiden der Versuchstiere und die Tierzahlen reduziert werden oder die Tests vollständig durch tierversuchsfreie Methoden ersetzt werden können.

Literaturrecherchen ergaben, daß es zwar zu jedem dieser Tierversuche vielversprechende Alternativmethoden gibt, daß aber nur einige so ausreichend validiert sind, daß sie die Tierversuche bereits heute ersetzen können. Unsere Überprüfung ergab außerdem, daß einige der in DIN-Normen enthaltenen Tierversuche nicht mehr dem heutigen Stand der Wissenschaft entsprechen, so daß sie unter Tierschutzaspekten sofort ersatzlos aus den Normen gestrichen werden müßten.

Als Konsequenz dieser Ergebnisse wurde der Handlungsbedarf für jede DIN-Norm ermittelt. Die vorgeschlagenen Maßnahmen beinhalten die ersatzlose Streichung von Tierversuchen, den Ersatz von Tierexperimenten durch validierte Alternativmethoden sowie die Durchführung von Validierungsstudien mit erfolgsversprechenden Alternativverfahren.

Summary: Reduction and replacement of animal tests required in standards for safety testing

Animal tests which have to be performed according to national (DIN) and international standards (EN and ISO) are evaluated according to the 3Rs principle of Russel and Burch in order to reduce suffering and numbers of test animals and also to completely replace them by non-animal methods. When on January 1, 1995, the EU Medical Devices Directive 93/42/EEC was accepted by all EU member states, animal tests that were essential parts of DIN, EN and ISO standards got a new legal status since for biocompatibility testing EU Directive 93/42/EEC is referring to these standards. In the present study all DIN standards were collected, in which animal testing is required, and they were then evaluated from the view points of both scientific state of the art and of consumer protection to decide if these animal tests can be replaced by non-animal methods.

Our search of the literature revealed not only that to each of the animal tests promising alternatives have been proposed but also that only a few of them have sufficiently been validated to date. Moreover, we found that several of the animal tests described in DIN standards are not any more representing the current state of the art in the biomedical sciences. Therefore, these animal tests should immediately be deleted from the standards.

Thus we are proposing to the DIN institute, the national agency for standards in Germany, immediate action which is required to update each of these DIN standards according to EU Directive 86/609/EEC for the protection of experimental animals. Our proposals are recommending to completely delete some of the animal tests from the standards, or to replace them by validated alternatives or to conduct formal validation studies with the most promising alternatives.

Keywords: standards, DIN, EN, ISO, alternatives to animal tests, 3Rs concept, EU Medical Devices Directive 93/42/EEC, EU Directive for Experimental Animals 86/609/EEC

1 Einleitung

1.1 Normen

Das Entwickeln, Produzieren und Inverkehrbringen chemischer Produkte ist durch Regelungen, Vorschriften und Gesetze festgelegt, um den Verbraucher umfassend zu schützen. Zu diesen Regelun-

gen zählen z.B. - bei medizinischen und pharmazeutischen Produkten - Arzneibuchvorschriften sowie die Normen des Deutschen Instituts für Normung e.V. (DIN-Normen), die für Produktgruppen die von Industrie und Behörden gemeinsam erarbeiteten technischen Anforderungen beschreiben. Das DIN ist eine selbst-

verwaltete Institution und die für Deutschland zuständige Normenorganisation. Für einzelne Fachgebiete sind neben selbständigen Arbeitsausschüssen und Kommissionen ca. 120 Normenausschüsse zuständig, denen neben Vertretern des DIN-Instituts Berater und Experten aus Industrie, Forschungsinstituten und Behörden ange-

hören. Des weiteren existieren europaweite und internationale Normen (EN- bzw. ISO-Normen), die vom Europäischen Komitee für Normung (CEN) bzw. von der *International Organisation for Standardisation* (ISO) erarbeitet und herausgegeben werden und mit denen die DIN-Normen harmonisiert werden. Auf DIN-Normen (bzw. auch auf EN- und ISO-Normen) wird u.a. in Gesetzen und Verordnungen Bezug genommen, sie sind vor allem für das Inverkehrbringen von Medizinprodukten bindend.

1.2 Medizinproduktegesetz (MPG)

Seit dem 1. Januar 1995 gilt in der Europäischen Union (EU) das Medizinproduktegesetz (MPG), das in seinen Prüfrichtlinien auf sogenannte „harmonisierte Normen“ verweist. In § 6 des MPG heißt es: „Das Einhalten der Bestimmungen dieses Gesetzes wird für die Medizinprodukte vermutet, die mit den harmonisierten Normen oder den ihnen gleichgestellten Monographien des Europäischen Arzneibuches übereinstimmen, die das jeweilige Medizinprodukt betreffen.“ (Medizinproduktegesetz, MPG, 1994.) Gemäß § 3 MPG gelten als Medizinprodukte „alle einzeln oder miteinander verbunden verwendeten Instrumente, Apparate, Vorrichtungen, Stoffe und Zubereitungen aus Stoffen oder andere Gegenstände einschließlich der für ein einwandfreies Funktionieren des Medizinproduktes eingesetzten Software, die vom Hersteller zur Anwendung für Menschen mittels ihrer Funktionen zum Zwecke der Erkennung, Verhütung, Überwachung, Behandlung oder Linderung von Krankheiten, der Erkennung, Überwachung, Behandlung, Linderung oder Kompensierung von Verletzungen oder Behinderungen, der Untersuchung, der Ersetzung oder der Veränderung des anatomischen Aufbaus oder eines physiologischen Vorgangs oder der Empfängnisregelung zu dienen bestimmt sind und deren bestimmungsgemäße Hauptwirkung im oder am menschlichen Körper weder durch pharmakologisch oder immunologisch wirkende Mittel noch durch Metabolismus erreicht wird, deren Wirkungsweise aber durch solche Mittel unterstützt werden kann. Dem neuen steht ein als neu aufbereitetes Medizinprodukt gleich.“ (Medizinproduktegesetz, MPG, 1994.)

Zusammengefaßt heißt dies: Vor dem Inverkehrbringen aller Medizinprodukte

müssen diese während der Entwicklung und Produktion zahlreiche Prüfungen und Kontrollschritte durchlaufen, die durch die im Medizinproduktegesetz angeführten harmonisierten Normen beschrieben werden und nach denen sich jeder Hersteller zu richten hat.

Bis Mitte des Jahres 1998 bestand eine Übergangsregelung, da noch nicht alle relevanten Normen harmonisiert werden konnten. Zudem wird bereits seit ca. 1990 intensiv an einer internationalen Standardrichtlinie zur Überprüfung und Bewertung von Medizinprodukten (*International Standard Organisation, ISO, 1992*) gearbeitet, die allerdings als übergeordnete „Horizontalnorm“ zu verstehen ist. Das bedeutet, daß in ihr nur allgemeine Richtlinien beschrieben werden, jedoch auf praktische Einzelfälle und -fragen nicht eingegangen wird. So muß als Konsequenz in Ergänzung zu diesem breitbasig angelegten Standard eine große Anzahl sogenannter „Vertikalnormen“ erarbeitet werden, um die praktischen, auf Einzelfälle bezogenen Normen festzuschreiben. Bis diese - vermutlich mehrere hundert - Vertikalnormen entwickelt und akzeptiert worden sind, wird als Übergangsregelung auf bereits vorhandene nationale und internationale Richtlinien zurückgegriffen. Hier sind u.a. DIN-Normen und Arzneibuchvorschriften zu erwähnen, auf die in DIN-Normen Bezug genommen wird.

1.3 Weitere Verwaltungsvorschriften, in denen Normen mit Tierversuchen enthalten sind

Um eine Zulassung nach dem Arzneimittelgesetz (AMG) zu erfahren, müssen Arzneimittel den für sie geltenden Regeln des Deutschen Arzneibuches (DAB, 1991) entsprechen, in dem anerkannte pharmazeutische Regeln über die Qualität, Prüfung, Lagerung, Abgabe und Bezeichnung von Arzneimitteln zusammengestellt sind. In mehreren DIN-Normen wird auf Prüfmethode des DAB verwiesen, die Tierversuche beinhalten. Des weiteren beziehen sich DIN-Normen auf die Diagnostik-Methoden von Krankheiten, z.B. der Tuberkulose. Dafür werden Richtlinien zur Diagnostik bzw. zum Erregernachweis angegeben, deren Durchführung in bestimmten Gesetzen verlangt wird, z.B. im Bundesseuchengesetz und im Lebensmittel- und Bedarfsgegenstandesgesetz.

1.4 Ziel der vorliegenden Arbeit

Wir haben unter Tierschutzaspekten geprüft, ob es möglich ist, in nationalen und internationalen Normen, in denen Tierversuche be- oder vorgeschrieben sind, unter Beachtung der gesetzlichen Vorschriften und Richtlinien, die Tierversuche zu verbessern, zu reduzieren oder zu ersetzen. Nach der geänderten Rechtslage durch Inkrafttreten des MPG ergab sich die dringende Frage nach einer Erfassung aller Tierversuche, die in Normen aufgeführt sind und die sich auf die Prüfung von Medizinprodukten beziehen.

Dafür war einmal die vollständige Erfassung aller in Normen enthaltenen Tierversuche an Säugetieren wichtig, denn es gab bisher keine derartige Zusammenstellung. Da auf dem Gebiet der Normierung zunehmend international gearbeitet wird, war es schwierig, einen vollständigen Überblick über Tierversuche in internationalen Normen zu erhalten. Um die Aufgabenstellung zu begrenzen, wurden nur Versuche an Säugetieren erfaßt, d.h. Tests mit z.B. Fischen oder Kleinkrebsen wurden nicht berücksichtigt. Weiterhin wurden nur solche internationalen Normen erfaßt, die auch in Deutschland in Gesetzen oder Verordnungen enthalten sind. Die übergeordnete Norm für die Prüfung von Biomaterialien bzw. Medizinprodukten, ISO 10993, wurde nicht mit aufgenommen, da sie dem neuesten Stand der wissenschaftlichen Forschung entspricht und außerdem als „Horizontalnorm“ so allgemein gehalten ist, daß es sinnvoller schien, nur auf konkrete „Vertikalnormen“ einzugehen. Schließlich konnten nur Normen berücksichtigt werden, die bis Ende des Jahres 1995 in Kraft getreten waren. Konkret wurden folgende Arbeiten durchgeführt:

- 1) Erfassung aller Normen, in denen Tierversuche beschrieben werden.
- 2) Beschreibung der in diesen Normen verlangten Tierversuche.
- 3) Kritische Bewertung der beschriebenen Tierexperimente im Hinblick auf
 - ▶ zeitgemäße, d.h. dem Stand der Wissenschaft entsprechende Prüfmethode;
 - ▶ Identifizierung überflüssiger Tierversuche, für die bereits Ersatzmethoden entwickelt wurden;
 - ▶ Berücksichtigung von Tierschutzaspekten nach dem 3R-Prinzip bezüglich Tierart, Tierzahlen und dem Ausmaß des Leidens für die Versuchstiere.

2 Material und Methoden

2.1 Recherche nach DIN-Normen

Die Erstellung und Überarbeitung von DIN-, EN- und ISO-Normen findet in Deutschland in zwei kooperierenden Instituten statt: den DIN-Instituten in Pforzheim und in Berlin. Im DIN-Institut in Berlin hat auch der Beuth-Verlag seinen Sitz, der die einzelnen Normen sowie Normensammlungen herausgibt. Weiterhin ist dem Institut das Deutsche Informationszentrum für technische Regeln (DITR) angegliedert, in dessen Bibliothek alle gültigen und im Entwurf befindlichen DIN-, EN- und ISO-Normen für Recherchen zugänglich sind. Durch Registrierung und Ordnung aller Normen (Nummer, Titel, Gültigkeitsdatum, Inhaltsangabe) wird die gezielte Suche nach einzelnen Standards erleichtert. Zusätzlich werden zu jeder Norm Stichworte erstellt, um die Suche nach speziellen Normen zu vereinfachen.

Nach den für die vorliegende Arbeit relevanten Normen wurde in der Bibliothek des DITR über das hausinterne Computersuchprogramm nach Säugetierexperimenten recherchiert, die in DIN-Normen vorgeschrieben sind. Da jedoch das Stichwort „Tierversuch“ für Normen, die Tierversuche beschreiben, nicht vergeben wurde, konnte im DITR nicht direkt nach Tierexperimenten recherchiert werden. Deshalb mußten andere Kriterien für die Auswahl von Stichworten getroffen werden, wobei zwei Probleme zu berücksichtigen waren:

1) Um als DIN-Norm Gültigkeit zu erlangen, werden alle EN-Normen und ISO-Normen ins Deutsche übersetzt, so daß nur deutsche Suchbegriffe ausgewählt werden mußten.

2) Es wurden sehr allgemeine Stichworte wie z.B. „biologische Prüfung“ oder „Sicherheitsprüfung“ benutzt, die in einer großen Anzahl von Normen vorkommen, um möglichst alle relevanten Normen zu erfassen.

Nach Eingabe der Suchbegriffe in den Bibliothekscomputer des DITR wurden ca. 150 Normen mit Nummer und Titel gefunden. Da an dem für Besucher zugänglichen Computer kein Ausdruck möglich war, wurden die Nummern manuell notiert und die einzelnen Normen im Original in der Bibliothek eingesehen, und zwar nur im Hinblick auf Tierversuche an

Säugetieren. Auf diese Weise wurden 26 verschiedene Normen (DIN-, DIN-EN- und DIN-EN-ISO-Normen) gefunden, die z.T. nur als Entwürfe vorliegen.

2.2 Bewertung der Tierversuche, die in Normen gefunden wurden

Die in den einzelnen Normen beschriebenen Tierversuche wurden bezüglich der folgenden allgemein anerkannten Kriterien untersucht:

- 1) Tierart
- 2) Tierzahl pro Dosisgruppe und Versuch
- 3) Versuchsdauer
- 4) Versuchsbedingungen
- 5) Belastung der Tiere im und nach dem Versuch

Den einzelnen Normen wurden die jeweilige Versuchsbeschreibung sowie mögliche Alternativmethoden zugeordnet. Anschließend wurden die Normen, die das gleiche Tierexperiment beschreiben, zu Gruppen zusammengefaßt.

2.3 Suche nach tierversuchsfreien Testverfahren bzw. Alternativmethoden

Die einzelnen Tierversuche wurden nach dem Tierschutzgesetz daraufhin untersucht, daß „bei der Entscheidung, ob Tierversuche unerlässlich sind, insbesondere der jeweilige Stand der wissenschaftlichen Erkenntnis zugrunde zu legen und zu prüfen (ist), ob der verfolgte Zweck nicht durch andere Methoden oder Verfahren erreicht werden kann“. (Tierschutzgesetz, 1998.) Dazu wurde folgendes Vorgehen gewählt:

2.3.1 Literaturrecherchen

Über den Datenbanken-Host DIMDI (Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information) erfolgte bei ZEBET, der Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch, der Zugriff auf folgende nationale und internationale medizinische und toxikologische Datenbanken:

AIDSLINE, BGI-Pressedienst, BMG-Pressemitteilungen, BIOETHICSLINE, BIOSIS Previews, CAB HEALTH, CANCERLIT, EMBASE, EMBASE ALERT, ETHMED, HECLINET, IPA, ISTEP&B, MEDLINE, MEDLINE 64, RUSSMED ARTICLES, SCISEARCH, SOMED, SEDBASE, TOXLINE, TOXBIO, TOXCAS.

In diesen Datenbanken wurde mit verschiedenen Such- und Stichworten nach

Literatur mit unterschiedlichen Fragestellungen recherchiert. Es wurden Literaturangaben entweder zu einzelnen Testverfahren oder zu bekannten, bereits bestehenden oder sich in der Entwicklung befindlichen Alternativmethoden gesucht oder zu den in den Normen beschriebenen Produkten. Die erhaltenen Literaturquellen wurden im Original beschafft und auf die angegebene Fragestellung hin ausgewertet und kritisch bewertet. Der Stand der Literaturlauswahl beschränkt sich auf den Zeitraum bis Januar 1996.

2.3.2 Persönliche Gespräche mit Sachverständigen

Auf folgenden Wegen wurden Sachverständige zu den einzelnen Fragestellungen ausfindig gemacht: durch Anfrage bei den zuständigen Normenausschüssen sowie bei der ZEBET und auch durch Nachfrage bei Autoren relevanter Literatur. Diese gaben entweder im persönlichen Gespräch oder telefonisch Auskunft über die Bewertung der betreffenden Prüfvorschrift und/oder existierender oder in der Erprobung befindlicher Alternativmethoden. Insbesondere sind folgende Sachverständige zu nennen:

Prof. Ermel, Technische Fachhochschule Berlin

PD Dr. Große-Siestrup, Rudolf Virchow Klinikum, Berlin

Dr. Prager, Bayer AG, Leverkusen (a. D.)

Dr. Groth, GKSS Forschungszentrum, Berlin-Teltow

Dr. Breitsameter, DIN-Institut Berlin

Dr. Keller, DIN-Institut Pforzheim

Die Ergebnisse der Gespräche ergaben wichtige grundsätzliche Hinweise für die weitere Bearbeitung der Fragestellungen zu den einzelnen Normen und der Notwendigkeit der in ihnen enthaltenen Tierversuche. Bei neuen, d.h. ab 1995 gültigen Normen wurde keine vollständige Überarbeitung und Bewertung durchgeführt, da die darin enthaltenen Methoden weitgehend dem neuesten Stand der Wissenschaft entsprachen und Tierschutzaspekte ausdrücklich berücksichtigt wurden.

3 Ergebnisse der Erfassung der in DIN-Normen angegebenen Tierversuche

Nachfolgend sind die einzelnen Tierversuche, die in DIN-Normen verlangt werden, zusammengestellt. Alle Normen sowie die zugehörige Literatur sind Teil der



Promotion von Katharina Zarnow und bei ZEBET erhältlich. Es wurden acht unterschiedliche Normengruppen identifiziert, die die folgenden Tierversuche enthalten:

3.1 Prüfung auf Pyrogene am Kaninchen nach DAB 10, V 2.1.4; diese Prüfung wird in 14 Normen vorgeschrieben

3.1.1 Ziel des Pyrogenitätstests am Kaninchen

Der Pyrogenitätstest beschreibt eine Sicherheitsprüfung, die den Anwender bzw. Benutzer von Infusions- und Injektionslösungen vor Schäden schützen soll, die mit Pyrogenen auftreten können. Pyrogene sind fieberauslösende Stoffe, meist Endotoxine, die Bestandteile der Wand gramnegativer Bakterien (hauptsächlich Lipopolysaccharide) sind und die bei Einbringung in den Organismus nicht nur zu Fieber, sondern auch schwersten Schockzuständen bis hin zum Tod durch intravasale Gerinnung (DIC: *Disseminated Intravascular Coagulation*) führen können.

Zu den Pyrogenen gehört auch die relativ kleine Gruppe der nachfolgend als „Nicht-Endotoxin-Pyrogene“ benannten Stoffe, wie Weichmacher, Alkaloide, Steroide, Redoxfarbstoffe, kolloide Metalle, Antigen-Antikörperkomplexe und Zytokine.

3.1.2 Der Tierversuch

Bei der Pyrogenitätstestung am Kaninchen wird drei Kaninchen die zu prüfende Substanz bzw. das aus ihr gewonnene Eluat intravenös injiziert. Die Rektaltemperatur wird bei Fixation der Tiere über mindestens 4,5 Stunden registriert. Erfolgt eine Temperaturerhöhung pro Kaninchen von maximal 0,4°C, gilt die Prüfung als negativ. Bei einer Erhöhung über 0,9°C ist die Charge abzulehnen. Bei Werten, die dazwischen liegen, wird die Prüfung mit drei weiteren Tieren fortgesetzt - bis hin zu maximal vier Gruppen (= 12 Tiere). Liegt in der letzten Prüfung die Gesamttemperatur der 12 Tiere über 6,6°C (= 0,55°C pro Tier), gilt die Prüfung als endgültig nicht bestanden.

3.1.3 Aufstellung der DIN-Normen, die den Pyrogenitätstest erfordern (Nummer, Titel, Normausschuß (NA))

► DIN 13098 (1992): Einmalspritzen aus Kunststoff für medizinische Zwecke (NA Medizin)

► Teil 1: Einmalspritzen für allgemeine Anwendung

► Teil 2: Einmalspritzen für Druckinfusionsapparate

► DIN 13273-5 (1989): Drainagen, Sonden, Katheter (NA Medizin)

– Katheter für den medizinischen Bereich und Venenkatheter zur einmaligen Verwendung

► DIN 13281 (1989): Drainagen, Sonden, Katheter (NA Medizin)

► Teil 1: Drainagen für den medizinischen Bereich, Wund-Drainagen zur einmaligen Verwendung

► Teil 2: Drainagesysteme für den medizinischen Bereich, Starrwandige Saugbehälter (Redon) Typ S zur einmaligen Verwendung

► Teil 3: Drainagen für den medizinischen Bereich, Elastische Saugbehälter Typ E zur einmaligen Verwendung

► DIN 58360-1 (1989): Transfusion (NA Medizin)

– Transfusionsgeräte und Zubehör

► DIN 58361 (1980, 1985): Transfusion und Infusion (NA Medizin)

– Geräte für Transfusion und Infusion, Transfusionsbehältnisse und Zubehör

► Teil 4 & 5: Blutbeutel aus Kunststoffen

► Teil 6 & 7: Leerbeutel aus Kunststoffen

► DIN 58362 (1994), Teile 1-5: Infusion (NA Medizin)

– Infusionsgeräte und Zubehör

► DIN 58363-15 (1982): Transfusion und Infusion (NA Medizin, Kunststoffe, Verpackung)

– Geräte für Transfusion, Infusion und Injektion, Infusionsbehältnisse und Zubehör

– Infusionsbeutel und -flaschen aus Kunststoffen, Sicherheitstechnische Anforderung und Prüfung (im Entwurf von 92: Ersatz durch den LAL-Test)

► DIN 58367-1 (1986): Transfusion, Infusion, Injektion (NA Medizin)

– Gummiteile, Anforderung und Prüfung

► DIN EN ISO 8537 (1994): Sterile Insulin-Einmalspritzen mit oder ohne Kanüle (NA Medizin)

► DIN ISO 1135-3 (1987): Transfusion (NA Medizin).

Transfusionseinrichtungen für medizinische Zwecke, Blutentnahmeggeräte

Bei den folgenden 4 Normen (für alle: NA Medizin) wird auf nationale Richtlinien verwiesen, die die Pyrogenfreiheit des Produktes/ Werkstoffes gewährleisten:

► DIN ISO 8362 (1989, 1993): Injektionsbehältnisse für Injektabilia und Zubehör

► Teil 2: Stopfen für Injektionsflaschen

► Teil 5: Gefriertrocknungsstopfen für Injektionsflaschen

► DIN ISO 8536-2 (1993): Infusionsgeräte zur medizinischen Verwendung

– Stopfen für Infusionsflaschen

► DIN ISO 8871 (1994): Elastomere Teile für wäßrige parenterale Zubereitungen

► DIN ISO 11040 (1994, 1995): Vorgefüllte Spritzen

► Teil 2: Kolbenstopfen und Dichtscheiben für Dentalkarpulen zur Lokalanästhesie

► Teil 5: Kolbenstopfen und Kolbenstangen aus Kunststoff für Injektionspräparate

3.2 Prüfung auf anomale Toxizität (ATT in der Maus), dieser Tierversuch ist in 12 Normen vorgeschrieben

3.2.1 Ziel des ATT an der Maus

Mit dem ATT sollen toxische Verunreinigungen einer Substanz oder eines Produktes nachgewiesen werden, die anders nicht erkannt werden können.

3.2.2 Der Tierversuch

Die Durchführung des ATT wird in Normen und im DAB unterschiedlich vorgeschrieben.

3.2.2.1 Der in den Normen vorgeschriebene ATT

(Prüfung auf Verträglichkeit)

Die zu prüfende Substanz wird entweder verdünnt, oder es wird bei festen Materialien ein Eluat hergestellt. Die erhaltene Flüssigkeit wird Mäusen entweder intravenös (wäßrige Lösung) oder intraperitoneal (ölige Lösung) injiziert. Hierbei entspricht die Dosis des zu injizierenden Eluats ungefähr 1/10 bis 1/20 des Körpergewichts der Mäuse (1 bis 2 ml/ 20 g Körpergewicht). Diese Menge wird innerhalb einer Minute appliziert. Die Mäuse werden anschließend für 7 bzw. 14 Tage beobachtet und ihr Verhalten wird mit einer Kontrollgruppe verglichen.

3.2.2.2 Der ATT im DAB (DAB 10, V.2.1.5, Prüfung auf anomale Toxizität)

Fünf gesunden Mäusen mit einer Körpermasse zwischen 17 g und 22 g wird die in der Monographie angegebene Menge der Substanz (in 0,5 ml Wasser für Injektionszwecke oder einer sterilen 0,9 %igen Lösung (m/V) von Natriumchlorid gelöst) innerhalb von 15 bis 30 Sekunden intravenös injiziert. Die Substanz ist unbedenk-

lich, wenn keine Maus innerhalb von 24 Stunden stirbt. Falls mehr als ein Tier stirbt, darf die Substanz nicht eingesetzt werden. Die Prüfung wird wiederholt, wenn eines der Tiere stirbt. Bei der Wiederholungsprüfung ist die Substanz unbedenklich, wenn alle Tiere der zweiten Prüfung nach 24 Stunden keine Auffälligkeiten zeigen.

3.2.2.3 Unterschiede in der Durchführung des ATT bzw. bei der Prüfung auf Pyrogene in Normen und DAB

Auf den ATT wird - für den Bereich der Medizinprodukte - in drei Monographien des DAB auf dem Gebiet VI.2.2.2, Behältnisse für Blut und Blutprodukte, verwiesen:

- 1) Sterile Kunststoffbehältnisse
- 2) Sterile PVC-Behältnisse
- 3) Sterile PVC-Behältnisse mit Stabilisatorlösung

Bei allen anderen Behältnistypen wird im Gegensatz zu den angeführten DIN-Normen nur die Prüfung auf Pyrogene verlangt:

- 1) Transfusionsbestecke für Blut und Blutprodukte
- 2) Kunststoffbehältnisse für wäßrige Lösungen zur intravenösen Infusion
- 3) Sterile Einmalspritzen aus Kunststoff

3.2.3 Aufstellung der DIN-Normen, die den ATT erfordern (Nummer, Produkt, Dosis, Tierzahl)

► DIN 58360-1 (1989): Transfusionsgeräte und Zubehör:

1 ml pro 20 g Körpergewicht i.v.; 20 Mäuse

► DIN 13098-1+2 (1992): Einmalspritzen aus Kunststoff für medizinische Zwecke:

1 ml pro 20 g Körpergewicht i.v.; 20 Mäuse

► DIN 58361 (1985): Geräte für Transfusion und Infusion; Transfusionsgeräte und Zubehör:

(Blut- und Leerbeutel): Prüflüssigkeiten für wäßrige und ölige Extrakte; 50 ml pro kg Körpergewicht i.v. bzw. i.p.; 40 Mäuse

► DIN 58362 (1994): Infusionsgeräte und Zubehör:

1 ml pro 20 g Körpergewicht i.v.; 20 Mäuse

► DIN 58363-15 (1982): Infusionsbeutel und -flaschen aus Kunststoffen:

Prüflüssigkeiten für wäßrige und ölige Extrakte; 50 ml pro kg Körpergewicht i.v. bzw. i.p.; 40 Mäuse

► DIN 58367-1 (1986): Gummiteile:

2 ml pro 20 g Körpergewicht i.v.; 20 Mäuse

► DIN EN 8537 (1994): Sterile Insulin-Einmalspritzen:

Um nationalen Anforderungen in bezug auf Pyrogenität und anomale Toxizität zu genügen, wird eine Prüflüssigkeit angegeben.

► DIN ISO 1135-3 (1987): Blutentnahmegeräte:

Es wird eine Prüfung auf systemische Toxizität (entspricht anomaler Toxizität, s. USP) auf der Basis nationaler und internationaler Vorschriften verlangt.

Bei folgenden vier Normen wird auf nationale Anforderungen verwiesen, die Prüfungen auf pyrogene und toxische Eigenschaften beschreiben. Die Vorschriften der Arzneibücher sind obligatorisch für die Hersteller:

► DIN ISO 8362 (1989, 1993): (Gefrier-

trocknungs-) Stopfen für Injektionsflaschen

► DIN ISO 8536-2 (1993): Stopfen für Infusionsflaschen

► DIN ISO 8871 (1990, 1994): Elastomere Teile für wäßrige parenterale Zubereitungen

► DIN ISO 11040 (1994, 1995): Kolbenstopfen und Dichtscheiben für Dentalkarpulen zur Lokalanästhesie; Kolbenstopfen und -stangen aus Kunststoff für Injektionspräparate

3.3 Botulismus-Diagnostik, dieser Tierversuch wird in einer Norm (DIN 10102, 1988) vorgeschrieben

3.3.1 Ziel der Botulismusdiagnostik und Rechtsgrundlagen

Botulismus ist eine lebensgefährliche, durch das anaerobe, grampositive Bakterium *Clostridium botulinum* hervorgerufene Krankheit, bei der die Lähmung der gesamten Muskulatur schließlich zum Tod durch Erstickung führt. Auslöser dieser Lähmungen ist das von *Clostridium botulinum* stammende Toxin, daß die Acetylcholin ausschüttung an der motorischen Endplatte hemmt. Das flüchtige und meist durch verdorbene Lebensmittel (Fleisch- und Wurstwaren, Konserven) aufgenommene Toxin gilt als das für den Menschen stärkste Gift mit einer letalen Konzentration von 1 mg.

Botulismus gehört in Deutschland zu den meldepflichtigen Krankheiten. Die Nachweismethode des hochgefährlichen Toxins wird in folgenden Vorschriften beschrieben:

In der DIN 10102 des Normausschusses Lebensmittel und Landwirtschaft und in der

gleichlautenden, vom Bundesamt für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) veröffentlichten „amtlichen Sammlung zur Probennahme und Untersuchung von Lebensmitteln“ etc. laut § 35 des LMBG wird zum Nachweis des Botulinumtoxins in Lebensmitteln der Mäuseletalitätstest vorgeschrieben.

3.3.2 Der Tierversuch (Mäuseletalitätstest)

Verschiedene Zubereitungen von Extrakten der als vergiftet vermuteten Substanzen (z.B. Lebensmittel) werden Mäusen nach einem genauen Injektionsschema entweder subkutan oder intraperitoneal injiziert; es werden 54 Tiere verbraucht. Der Mäuseletalitätstest ist sehr sensitiv und spezifisch, und es können auch kleinste Toxinmengen mit ihm erkannt werden. Deshalb und weil der Test weitere Vorteile bietet (relativ preisgünstig, da nur Mäuse verwendet werden, einfach in der Durchführung, praktisch in jedem Laboratorium anzuwenden), ist er als Routineverfahren weltweit etabliert.

3.3.3 DIN-Norm, in der der Botulismustest beschrieben wird

In der DIN 10102 (1988) wird der Mäuseletalitätstest wie oben beschrieben.

3.4 Tuberkulose-Diagnostik, dieser Tierversuch wird in der Norm (DIN 58943, 1989) vorgeschrieben

3.4.1 Ziel der Tuberkulosedagnostik und Rechtsgrundlagen

Die Tuberkulose ist eine Infektionskrankheit, die durch Tröpfcheninfektion des Erregers *Mycobacterium tuberculosis* (M. tub.) verbreitet wird und in Deutschland aufgrund des Seuchengesetzes der Meldepflicht unterliegt. Nach der Entdeckung der Antituberkulostatika spielt sie seit 40 Jahren in den Industrieländern keine wichtige Rolle mehr. Jedoch nimmt die Tuberkulose seit einigen Jahren an Bedeutung wieder zu. Die WHO schätzt, daß 1991 8 Millionen neue Tuberkulosefälle mit 2,7 Millionen Todesfällen auftraten. Hauptsächlich betroffen sind Immunsupprimierte (z.B. HIV-1-Positive), Personen mit konsumierenden Erkrankungen und schlechter Abwehrlage (Alkoholiker, Obdachlose, Drogensüchtige).

Die steigenden Zahlen erfordern eine Verbesserung der Tuberkulosedagnostik, um eine rasche Therapie einzuleiten und

die unnötige Isolierung und Behandlung Nicht-Infizierter zu vermeiden.

3.4.2 Die heute übliche Tuberkulose-diagnostik

Der Erreger der Tuberkulose, *Mycobacterium tuberculosis*, ist ein säurefestes Stäbchen, das durch gebräuchliche Methoden (die alle einzeln in der DIN 58943 angeführt werden) nachweisbar ist, nämlich die Mikroskopie (entweder Ziehl-Neelsen-Färbung oder Fluoreszenzmikroskopie - DIN 58943-32) und die Kultur. Zur Kultur werden entweder feste Eiernährböden (z.B. nach Löwenstein-Jensen - DIN 58943-7) oder flüssige Medien (DIN 58943-9) verwendet. Bei den flüssigen Nährböden wurde in den letzten Jahren ein System entwickelt, in dem die Stoffwechselaktivität von *M.tuberculosis* bestimmt wird und das unter dem Namen BACTEC 460 von der Firma Becton Dickinson vertrieben wird. Es gehört auch in Deutschland zur Routinediagnostik (in DIN 58943-8 nicht explizit beschrieben, aber als zulässig erwähnt).

3.4.2.1 Bewertung der üblichen Methoden der Tuberkulosedagnostik

3.4.2.1.1 Mikroskopie

Die Anfertigung und mikroskopische Beurteilung eines Ausstrichpräparates ist schnell durchführbar und aus dem mikrobiologischen Labor nicht wegzudenken. Die entscheidenden Nachteile sind die geringe Sensitivität (je nach Quelle 30%-75%) und die Schwierigkeit der Identifizierung unterschiedlicher Mycobakterienstämme.

3.4.2.1.2 Kultureller Nachweis

Kulturen gelten als „goldener Standard“, da sie eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität aufweisen. Ihr großer Nachteil ist der Zeitaufwand, denn bei festen Nährböden sind für den Nachweis der langsam wachsenden Mycobakterien zwischen zwei und acht Wochen erforderlich. Mit dem BACTEC System beträgt die Zeitspanne bis zum Nachweis immer noch zwei Wochen. Da beim BACTEC System radioaktiver Abfall anfällt, bieten sich als nicht-radioaktive Systeme das MB-Check AFB System von Becton Dickinson bzw. das biphasische Septi-Check AFB System von Roche an.

3.4.2.1.3 Tierversuch

Der Tierversuch an zwei Meerschweinchen, der Bestandteil der DIN 58943 (Teil

31) sowie der Verfahrensrichtlinie zur Isolierung und Identifizierung von Mycobacteriaceae der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, DGHM, ist, dauert 6 bis 8 Wochen. Er darf eingesetzt werden, wenn a) das Untersuchungsgut nicht oder nur schwer wiedergewinnbar ist oder b) trotz negativer Kulturergebnisse die klinischen Erscheinungen für das Vorliegen einer Tuberkulose sprechen.

3.4.3 DIN-Norm, in der die Tuberkulose-diagnostik beschrieben wird:

Übergeordnete Norm DIN 58943 (1989)

Tierversuch:

Der Tierversuch an zwei Meerschweinchen ist Bestandteil der DIN 58943 (Teil 31).

Färbemethoden und Kulturen:

1) Mikroskopie (entweder Ziehl-Neelsen-Färbung oder Fluoreszenzmikroskopie - DIN 58943-32).

2) Kultur: entweder feste Eiernährböden (z.B. nach Löwenstein-Jensen - DIN 58943-7) oder flüssige Medien (DIN 58943-9).

3) BACTEC, in DIN 58943-8 wird das Testsystem zwar nicht erwähnt, aber das methodische Prinzip.

3.5 Inhalationstoxikologische Prüfungen von Baustoffen

Dieser Tierversuch wird in zwei Normen vorgeschrieben. Die DIN-Normen 4102 und 53436 Teil 3 enthalten Sicherheitsrichtlinien zur Prüfung von Bau- bzw. Werkstoffen. Zu diesen Richtlinien gehört jeweils ein inhalationstoxikologischer Test, mit dem die Ungiftigkeit der getesteten Stoffe anhand eines sehr belastenden Tierversuchs nachgewiesen werden soll. Da die Normen aufeinander Bezug nehmen und es sich um prinzipiell ähnliche Versuche (trotz leichter Unterschiede in der Versuchsdurchführung) handelt, werden beide Normen zusammen beschrieben.

3.5.1 DIN 4102 (1994)

3.5.1.1 Ziel des Inhalationstests

Mit den angegebenen Prüfrichtlinien soll zum einen die Nichtbrennbarkeit der Baustoffe, zum anderen die Nichtgiftigkeit der während der thermischen Zersetzung entstehenden Rauchgase festgestellt werden.

3.5.1.2 Der Tierversuch

Es werden 12 Proben aus dem zu untersuchenden Baustoff hergestellt. Nach dem in der DIN 53436 Teil 2 beschriebenen

„Verfahren zur thermischen Zersetzung“ werden die Proben in einem Ofen zwei Versuchstemperaturen (300 und 400°C) ausgesetzt. Die entstehenden Rauchgase werden in eine Inhalationskammer geleitet, in die mindestens 5 weibliche Ratten in Einzelkäfigen eingebracht werden (Ganzkörperexpositionssystem). Die Versuchsdauer beträgt 60 Minuten. Während dieser Zeit und der zwei Wochen dauernden Nachbeobachtungsperiode sind biologische Untersuchungen gemäß DIN 53436 Teil 3 durchzuführen (z.B. Gewichtsbestimmung; Blutparameterbestimmung; Beobachtung auf Tremor, Krämpfe, Dyspnoe sowie Veränderungen an Schleimhäuten, Atmung, Kreislauf, Nervensystem etc.). Die Versuche sind bei jeder Temperaturstufe mindestens einmal zu wiederholen, d.h. rechnerisch werden im Maximalfall - bei 12 Proben und zwei Temperaturstufen - 48 Prüfungen verlangt.

3.5.1.3 Norm, in der der Inhalationsversuch verlangt wird

In der DIN 4102 Teil 1 „Brandverhalten von Baustoffen und Bauteilen; Begriffe, Anforderungen und Prüfungen“ (Mai 1981; Normausschuß Bauwesen) wird eine inhalationstoxikologische Prüfung verlangt, die in den „Mitteilungen des Deutschen Instituts für Bauwesen“ in den „Zulassungsgrundsätzen für den Nachweis der Nichtbrennbarkeit von Baustoffen (Baustoffklasse A nach DIN 4102 Teil 1)“ beschrieben wird.

Das Prüfverfahren entspricht dem vom Normenausschuß Materialprüfung (NMP) erarbeiteten Vorschlag für das Prüfverfahren gemäß Dokument NMP 853 Nr. 1-85 vom Januar 1985 in der Fassung vom 21. Juni 1993.

3.5.2 DIN 53436-3 (1989)

3.5.2.1 Ziel des Inhalationstests

In der DIN 53436-3 werden zwei Verfahren zur inhalationstoxikologischen Untersuchung von Werkstoffen angegeben: Verfahren A, zur Bestimmung der relativen akuten Inhalationstoxizität (RAIT) und Verfahren B, zur Bestimmung der relativen akuten Inhalationstoxizität LC_{50} .

Zweck der Verfahren ist es, die akute Inhalationstoxizität thermischer Zersetzungsprodukte im Tierexperiment zu bewerten. Die Untersuchungen können in verschiedenen Untersuchungsabschnitten (Verfahren A und B) durchgeführt werden.

Das Verfahren A dient der vergleichenden Bewertung der relativen akuten Inhalationstoxizität RAIT von Stoffen, wobei entweder die Masse oder das Volumen der Probe und die Luftmenge nach DIN 53436 Teil 2 gleichgehalten werden. Die Versuche werden bei mehreren Temperaturen, z.B. 300, 400, 500, 600°C durchgeführt, um die Abhängigkeit der Toxizität von der Versuchstemperatur zu charakterisieren.

Das Verfahren B dient der Bestimmung der relativen akuten Inhalationstoxizität LC_{50} bei einer Temperatur. Es ermöglicht u.a. quantitative Aussagen auf der Basis von Konzentrations-Wirkungsbeziehungen. Dieses Verfahren wird vorzugsweise bei der kritischen Versuchstemperatur durchgeführt.

3.5.2.2 Der Tierversuch

Proben aus dem zu untersuchenden Werkstoff (Probenanzahl ungenannt) werden durch das in der DIN 53436 Teil 2 beschriebene „Verfahren zur thermischen Zersetzung“ verschiedenen Versuchstemperaturen (abhängig vom Verfahren) in einem Ofen ausgesetzt. Die entstehenden Rauchgase werden in eine Inhalationskammer geleitet, in der sich mindestens 5 männliche und 5 weibliche junge, erwachsene Ratten befinden.

Es werden zwei Expositionssysteme beschrieben, das Kopf/Nasen-Expositionssystem und das Ganzkörper-Expositionssystem, bei dem die Sauerstoffkonzentration des Inhalationsgemisches mindestens 12% betragen muß.

Verfahren A: Die Tiere werden den kontinuierlich erzeugten Zersetzungsprodukten im Gemisch mit Luft ausgesetzt (konstante und reproduzierbare Konzentration). Es wird innerhalb der Versuchsreihe nur die Temperatur variiert.

Verfahren B: Es werden Versuche mit abgestuften Konzentrationen (Verhältnis Frischluft/ thermische Zersetzungsprodukte) bei der kritischen Versuchstemperatur (durch Verfahren A abgeschätzt) durchgeführt, um eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung zu ermitteln. Während der 30-minütigen Versuchsdauer und der zweiwöchigen Nachbeobachtungszeit werden die biologischen und analytischen Untersuchungen durchgeführt (z.B. Gewichtsbestimmung; Blutparameterbestimmung; Beobachtung auf Tremor, Krämpfe, Dyspnoe sowie Veränderungen an Schleimhäuten, Atmung, Kreislauf, Nervensystem etc.).

Bei nicht eindeutigen Versuchsergebnissen muß der Versuch wiederholt werden!

3.5.2.3 Normen, in denen der Inhalationsversuch vorgeschrieben ist

► DIN 4102 (1994): Nachweis von Nichtbrennbarkeit und Nichtgiftigkeit von Baustoffen und deren thermischer Zersetzungsprodukte

► DIN 53436-3 (1989); Verfahren A, zur Bestimmung der relativen akuten Inhalationstoxizität (RAIT) und Verfahren B, zur Bestimmung der relativen akuten Inhalationstoxizität LC_{50} .

3.6 Prüfrichtlinien für Dentalprodukte; diese Tierversuche werden in zwei Normen (DIN EN ISO 7405 (1995) und DIN V 13930 (1990)) vorgeschrieben

3.6.1 Ziel der Norm

In dieser Norm werden Methoden beschrieben, mit denen die biologische Verträglichkeit aller Materialien geprüft werden kann, die in der Zahnmedizin verwendet werden.

3.6.2 Die Tierversuche

Die Prüfvorschriften zur biologischen Sicherheit in den Dentalnormen sind sehr umfangreich. Allgemein ist zu beachten, daß die meisten Materialien, die zum Zahnersatz eingesetzt werden, primär ungiftig sind, so daß auf Tierversuche verzichtet werden kann. Außerdem können toxikologische Daten vom Hersteller des Materials bezogen werden. Solche Daten werden im Rahmen des Chemikaliengesetzes für jeden neuen und auch für jeden alten Stoff aus Arbeits- und Gesundheitschutzgründen bereits vor der Vermarktung erarbeitet. Diese Informationen liegen üblicherweise vor, bevor Materialien erstmals in der Zahnheilkunde eingesetzt werden.

Falls vor dem Einsatz eines Materials in der Zahnheilkunde zusätzlich Tierversuche durchgeführt werden sollen, müssen diese stichhaltig begründet werden. Eine routinemäßige Prüfung im Tierversuch ist daher die Ausnahme. Deshalb wird hier auf die ausführliche Auflistung der im Einzelfall vorgeschlagenen biologischen Prüfungen verzichtet, zu denen Zellkulturen und auch Tierversuche gehören. Die entsprechenden Informationen können über das DIN-Institut oder ZEBET bezogen werden.

3.6.3 Dentalnormen, in denen Tierversuche beschrieben werden

► DIN EN ISO 7405 (1995): Im Jahre 1995 wurde eine der DIN EN ISO 10993 („Biologische Prüfung von Medizinprodukten“) entsprechende Horizontal-Norm für Dentalprodukte erstellt, die inzwischen als DIN EN ISO 7405 „Präklinische Beurteilung der Gewebeverträglichkeit von Medizinprodukten in der Zahnheilkunde“ vorliegt.

► DIN V 13930 (1990): Die DIN EN ISO 7405 nimmt in der Hinsicht eine besondere Rolle ein, daß sie zwischen zwei weiteren Normen steht. Zum einen heißt es in der generellen Norm für Biomaterialien und Medizinprodukte ISO 10993: „Im folgenden schließt der Begriff „Medizinprodukt“ stets zahnmedizinische Produkte ein.“ (Punkt 3.1, Anmerkung 2.) Zum anderen existiert auf nationaler Ebene bereits seit 1990 eine Vornorm zur „biologischen Prüfung von Dentalwerkstoffen“.

3.7 Biokompatibilitätsprüfung von Trachealtuben; dieser Tierversuch wird in einer Norm (DIN 5361-1 (1988)) vorgeschrieben

3.7.1 Ziel der Norm

Dieser Test beschreibt die Verträglichkeitsprüfung von Trachealtubenmaterial.

3.7.2 Der Tierversuch

In der DIN ISO 5361-1 des Normausschusses Rettungsdienst und Krankenhaus werden die allgemeinen Anforderungen für Trachealtuben bestimmt. Dazu gehört der im normativen Anhang A beschriebene, nach den Vorschriften der US-Pharmacopoeia (USP) auszuführende intramuskuläre Implantationstest an zwei Kaninchen.

3.7.3 Norm, in der die Biokompatibilitätsprüfung von Trachealtuben vorgeschrieben wird

► DIN ISO 5361-1 (1988) des Normausschusses Rettungsdienst.

3.8 Inhalationstoxikologische Prüfung von Schwefelhexafluorid

Dieser Tierversuch wird in einer Norm (DIN IEC 376 / VDE 0373 Teil 1 (1980)) vorgeschrieben (NA Elektrotechnik)

3.8.1 Ziel der Norm

Schwefelhexafluorid (SF_6) ist ein farbloses, geruchloses, reaktionsträges und un-

giftiges Gas, das als Schutzgas in der Elektroindustrie eingesetzt wird. Zu seinen Prüfungsanforderungen gehören laut DIN IEC 376 / VDE 0373 Teil 1 neben physikalisch-chemischen Prüfungen in einem Inhalationsversuch die Prüfung auf toxische Verunreinigungen, die früher in Abhängigkeit vom Herstellungsverfahren in SF₆ in unterschiedlicher Menge vorhanden sein konnten.

3.8.2 Der Tierversuch

Die Prüfung auf toxische Verunreinigungen (Prüfung auf Toxizität, Hauptabschnitt 8) wird in einem inhalationstoxikologischen Tierversuch mit mindestens 5 weiblichen Mäusen durchgeführt.

3.8.3 Normen, in denen die inhalationstoxikologische Prüfung von Schwefelhexafluorid vorgeschrieben wird

► DIN IEC 376 / VDE 0373 Teil 1 vom April 1980, erarbeitet vom Normausschuß Elektrotechnik.

4 Kritische Bewertung der in Normen enthaltenen Tierversuche und Vorschläge für ihren Ersatz durch Alternativmethoden bzw. den Verzicht auf ihre Durchführung

Nachfolgend werden Alternativmethoden zu den einzelnen Tierversuchen kritisch bewertet und diskutiert. Es wird bewertet, ob und inwieweit ein in DIN-Normen vorgeschriebener Tierversuch verbessert, ersetzt oder gestrichen werden kann.

4.1 Ersatz der Prüfung auf Pyrogene am Kaninchen durch den LAL-Test bzw. durch den *in vitro* Test zur Erfassung von Pyrogenen in einem humanen Vollblutmodell

4.1.1 Der LAL-Test (Limulus Test)

Laut DAB ist die Prüfung auf Endotoxine im LAL-Test für die Reinheitsprüfung von Parenteralia (intravenös zuzuführende Arzneimittel) ausreichend, denn in Abschnitt V.2.19, DAB 10 (Monographie Parenteralia; Prüfung auf Reinheit) heißt es: „Die Prüfung auf Bakterien-Endotoxine kann die Prüfung auf Pyrogene ersetzen, wenn dies in einer Monographie des Arzneibuchs vorgeschrieben oder von der zuständigen Bundesoberbehörde zugelassen ist.“ (Deutsches Arzneibuch, DAB, 1991.) Bis-

lang existiert nur eine Monographie im Abschnitt Parenteralia, und zwar für „Wasser für Injektionszwecke“. Hier wird der LAL-Test verlangt.

Bei neuzuzulassenden Produkten oder schon zugelassenen, die noch Chargenkontrollen durchlaufen müssen, muß eine produktbezogene Validierung erfolgen, d.h. die Überprüfung von ein bzw. drei Chargen sowohl im Kaninchen- als auch im LAL-Test. Genaue Angaben finden sich in der Richtlinie des Bundesanzeigers 2, 06.01.93, S. 67 („Bekanntmachung zur Möglichkeit des Ersatzes der Prüfung auf Pyrogene durch die Prüfung auf Bakterien-Endotoxine nach DAB 10“.) Die für die Zulassung zuständige Bundesoberbehörde ist in diesem Fall das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM).

In den angeführten DIN-Normen geht es nicht um die Überprüfung von Parenteralia, sondern von Medizinprodukten. Es besteht ein wesentlicher Unterschied in der Zielsetzung der einzelnen Produkte. Das ist natürlich für die Anwendungsmöglichkeiten des LAL-Tests wichtig.

Schlußfolgerung

Experten stellten auf dem 17.ECVAM-Workshop „*Alternatives to animal testing of medical devices*“ im November 1995 fest, daß der LAL-Test (Prüfung auf Endotoxine) zur Überprüfung der meisten Medizinprodukte ausreichend ist und daß auf den Pyrogenitätstest am Kaninchen verzichtet werden kann (Svendsen et al., 1996). Zu diesen Experten gehörten Mitglieder großer Medizinproduktehersteller, die auf langjährige Erfahrung mit beiden Prüfmethoden zurückblicken.

4.1.2 Das humane Vollblutmodell zur Erfassung von Pyrogenen

Wie oben ausgeführt, ist der LAL-Test zur Bestimmung von Verunreinigungen durch bakterielle Endotoxine ausreichend. Zur spezifischen Erfassung der meisten für den Menschen relevanten Pyrogene haben Hartung und Wendel ein Modell entwickelt, bei dem in humanem Vollblut endogene Pyrogene freigesetzt werden (Hartung und Wendel, 1995, 1996). Dieses Modell, das international vielfache Anerkennung gefunden hat, ist attraktiv im Hinblick auf den Verzicht auf den Tierversuch zur Pyrogenprüfung und auf den LAL-Test, und zwar aus folgenden Gründen:

- 1) Es wird eine Vielzahl von potentiellen Pyrogenen neben Endotoxinen erfaßt.
- 2) Es werden humane Zellen verwendet, die in ihrer natürlichen Umgebung vorliegen und so die tatsächliche körpereigene Primärreaktion auf Pyrogene (Bildung von endogenen Pyrogenen) simulieren.
- 3) Das Modell ist sehr sensitiv; es werden bis zu Pikogramm-Mengen an Pyrogenen erfaßt.
- 4) Es ist kostengünstig: die Kosten für den Tierversuch werden bei weitem unterschritten und ähneln denen des LAL-Tests.
- 5) Es eröffnet Möglichkeiten für Forschungszwecke. So können z.B. pharmakologische, fiebersenkende Wirkungen *ex vivo* als auch *in vitro* untersucht werden.

Es hat sich gezeigt, daß das Humanblutmodell in der Lage ist, Verunreinigungen von Produkten mit Pyrogenen mit großer Sicherheit zu erfassen (Hartung und Wendel, 1996). Es ist deshalb nach einer experimentellen Validierung wahrscheinlich in der Lage, den Tierversuch vollständig zu ersetzen und kann sowohl als Ersatz- als auch als Ergänzungsmethode zum LAL-Test angesehen werden. Zur Zeit entsteht in Kooperation mit der Firma ANAWA, München, ein Prüfsystem nach den Standards der GLP zur gezielten Sicherheitsprüfung von Medizinprodukten. Für dieses System wird eine Validierungsstudie geplant.

Schlußfolgerung

Die Prüfung auf Pyrogene am Kaninchen ist weltweit anerkannt und wird seit über 40 Jahren praktiziert. Dennoch ist der Test nicht eindeutig standardisierbar, da z.B. die Grenzwerte für die Temperaturerhöhung in den einzelnen Pharmakopöen sehr unterschiedlich festgelegt sind. Er ist zeit- und kostenaufwendig und nicht so sensitiv wie der LAL-Test (Deutsches Arzneibuch, DAB, 1991).

Der LAL-Test bietet demgegenüber viele Vorteile. Er ist schnell und einfach durchzuführen, hochspezifisch, zuverlässig und preiswert. Aus der Gruppe der Pyrogene erfaßt er jedoch nur die Endotoxine. Außerdem muß die Endolymph, mit der der Test durchgeführt wird, Pfeilschwanzkrebsen entnommen werden, die speziell gehalten werden müssen.

Das humane Vollblutmodell zur Erfassung von Pyrogenen scheint geeignet, die Lücke zwischen Tierversuch und LAL-Test zu schließen. Es ist spezifisch für den

Menschen, erfährt eine Vielzahl von Pyrogenen, ist zeit- und kostengünstig und läßt sich für Forschungszwecke verwenden. Allerdings muß diese Methode noch experimentell validiert werden.

Die Normausschüsse „Medizin“, „Medizin, Kunststoffe und Verpackung“ und „Feinmechanik und Optik“ sind aufgefordert, die Validierung des humanen Vollblutmodells voranzutreiben. Nach Abschluß der Validierung des humanen Vollblutmodells zur Erfassung von Pyrogenen muß neu überdacht werden, ob der LAL-Test in den angegebenen Normen und DIN-Vorschriften durch dieses System ersetzt bzw. ergänzt werden soll oder, ob produktabhängig, die Prüfung auf Endotoxine ausreichend bleibt. Nach dem heutigen Stand der Wissenschaft ist davon auszugehen, daß die humane Vollblut-Methode den Tierversuch vollständig ersetzen kann.

4.2 Abschaffung der Prüfung auf anomale Toxizität

Mit dem ATT wurde bisher ein belastender Tierversuch vorgeschrieben, der nach wissenschaftlicher Überprüfung und unter Tierschutzaspekten nicht mehr durchgeführt werden sollte. Kritisch anzumerken sind beim ATT vor allem, daß er durch moderne Produktionsbedingungen veraltet bzw. überflüssig ist, daß eine Spezifität fehlt und daß damit eine spezielle Aussagekraft fehlt. Der ATT weist außerdem eine erhebliche Variabilität in bezug auf Testdurchführung, Bewertung und Protokollierung auf, er bietet gegenüber alternativen Testmethoden keinen Vorteil, und er verursacht unnötige Kosten.

Der anomale Toxizitätstest (ATT) gilt nach Ansicht vieler Experten auf dem Gebiet der Testung von Medizinprodukten als obsolet. Auf dem 17. ECVAM-Workshop im November 1995 „*Alternatives to Animal Testing of Medical Devices*“ wurde festgestellt, daß der ATT überflüssig ist und wissenschaftlich nicht zu rechtfertigen (Svendsen et al., 1996).

Schlußfolgerung

Der ATT ist ein Tierversuch, der nach dem heutigen Stand der Wissenschaft als obsolet anzusehen ist und gegen das Tierschutzgesetz verstößt. Von den Experten des ECVAM-Workshops wird empfohlen, den ATT aus allen ihn vorschreibenden Richtlinien (Normen und DAB) ersatzlos zu streichen (Svendsen et al., 1996).

Die Normausschüsse „Medizin“ und „Medizin, Kunststoffe, Verpackung“ sowie die zuständigen Sachbearbeiter des DAB sind aufgefordert, den ATT aus den entsprechenden Normen bzw. Monographien des DAB ersatzlos zu streichen bzw. mit dem Ziel einer Streichung zu überarbeiten.

4.3 Alternativen zum Mäuseversuch in der Botulismudiagnostik

Die von Doellgast et al. (1993) entwickelte immunologische Methode (ELISA-ELCA-Test) ist die einzige konkrete Alternativmethode für die Lebensmitteluntersuchung, da das ELISA-ELCA-System eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität aufweist, die in Einzelfällen sogar die des Mäusetests übertrifft. Bei allen anderen Methoden schwanken dagegen die Nachweisgrenzen von 10^{-4} bis 10^3 MLD₅₀, und in keinem Versuch sind die Ergebnisse so konstant, daß sie an die Sensitivität und die Zuverlässigkeit des Mäusetests heranzureichen könnten. In einer Studie von Doellgast et al. (1994) in den USA zeigte das ELISA-ELCA-Testsystem an verschiedensten Lebensmitteln beim Nachweis von Botulismustoxin sehr gute Ergebnisse. Es ist noch zu prüfen, inwieweit diese Ergebnisse auch für deutsche bzw. europäische Verhältnisse repräsentativ für den Nachweis von Botulismus sind. Für die experimentelle Überprüfung und das Initiieren einer Validierungsstudie sind die zuständige Bundesoberbehörde, d. h. das BgVV, und der Normausschuß für Lebensmittel und Landwirtschaft zuständig. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß in den USA eine Validierungsstudie mit 25 Laboratorien durchgeführt wurde (s. unter 5.), deren Ergebnisse berücksichtigt werden sollten, bevor über eine zusätzliche Validierungsstudie in Europa entschieden wird.

Schlußfolgerungen

Die Studien von Doellgast et al. (1993, 1994) zeigen, daß es eine Alternativmethode zum Mäusetest gibt, die so weit ausgereift ist, daß sie den Letalitätstest vollständig ersetzen könnte, der zum Toxinnachweis aus Lebensmitteln gefordert wird.

Unter Berücksichtigung des Tierschutzgesetzes sind der Normausschuß Lebensmittel und Landwirtschaft und das BgVV aufgefordert zu prüfen, ob eine Validierung des ELISA-ELCA-Testsystems erforderlich ist. Dazu müssen die Ergebnis-

se der noch ausstehenden Validierungsstudie der USA berücksichtigt werden. Danach sollten der DIN 10102 und das Untersuchungsverfahren der amtlichen Sammlung nach § 35 LMBG mit dem Ziel geändert werden, den Mäuseletalitätstest durch das ELISA-ELCA-Testsystem zu ersetzen.

4.4 Ersatz des Tierversuchs in der Tuberkulosedagnostik

4.4.1 Die PCR (Polymerase Chain Reaction) Methode

Bei Anwendung der PCR-Methode in der Tuberkulosedagnostik wurden seit 1993 große methodische Verbesserungen erreicht (Yuen et al., 1993), sodaß die PCR-Methode bald zur Routinediagnostik eingesetzt werden kann. Mit der PCR-Methode liegen im Gegensatz zum diagnostischen Tierversuch am Meerschweinchen schon nach einigen Stunden Ergebnisse vor, die einen ersten Anhaltspunkt geben. Einige Autoren sehen den besonderen Wert der PCR-Diagnostik in ihrer hohen Spezifität beim Ausschluß einer Tuberkulose. Ein weiterer Vorteil der PCR-Diagnostik liegt in ihrer direkten Anwendungsmöglichkeit an Patientenproben, und zwar auch mit sehr kleinen Mengen oder solchen, die nicht oder nur sehr schwer zu gewinnen sind, wie z.B. Biopsiematerial, Cerebrospinalfluid, Pleuralpunkate etc. (Kox et al., 1994). Der PCR-Test soll nach Ansicht zahlreicher Autoren nicht die bestehende Diagnostik ersetzen, sondern diese erweitern und verbessern (Noordhoek et al., 1994; Wobeser und Krajden, 1996).

War bislang bei bestimmten Ausnahmefällen der Meerschweinchenversuch noch angezeigt, so kann man heute, anstelle dieser „Sicherheitsprüfung“ am Tier, auch eine Kombination aus PCR und Kulturverfahren durchführen, um mindestens gleichwertige Ergebnisse zu erlangen. Nach Vorliegen des PCR-Ergebnisses können schon nach wenigen Tagen erste therapeutische Maßnahmen eingeleitet werden, wenn die klinische Erscheinung eindeutig für das Vorliegen einer Tuberkulose spricht. Kulturen sollten jedoch immer zusätzlich angelegt werden.

Diese Bewertung zeigt, daß der Tierversuch zur Sicherung einer Diagnose bei einer Kombination von PCR und Kultur bzw. radiometrischen Verfahren nicht mehr erforderlich ist.

Schlußfolgerung

Aufgrund der verbesserten diagnostischen Möglichkeiten bei der Tuberkulosediagnostik wird gefordert, den Teil 31 der DIN 58943 sowie den entsprechenden Part der Verfahrensrichtlinien zur Isolierung und Identifizierung von Mycobacteriaceae der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) - Tuberkulosenachweis im Tierversuch - zu streichen und statt dessen eine standardisierte Versuchsanleitung mit der PCR-Methode zu entwickeln und aufzunehmen, die zusammen mit dem kulturellen Nachweis die zukünftige Routinediagnostik der Tuberkulose darstellen sollte.

Zu beachten ist jedoch, daß die Aussagekraft der PCR-Methode gegenüber dem Tierversuch noch nicht ausreichend validiert wurde.

4.5 Alternativmethoden zu inhalationstoxikologischen Tierversuchen

Es existieren drei Alternativmethoden zur inhalationstoxikologischen Prüfung, die die Tier- und Versuchszahlen bei diesen stark belastenden Tierversuchen erheblich einschränken können:

- 1) Ein *in vitro* Verfahren zur Abschätzung der Toxizität und Mutagenität der Rauch- und Verschwendungsdämpfe von Baustoffen, das auf dem Ames-Test basiert (Pieler und Figge, 1992).
- 2) Ein Berechnungsmodell, das die Bestimmung der LC₅₀ mit einem Minimum an Versuchstieren gestattet und international bereits akzeptiert wird (Pieler und Figge, 1992).
- 3) Ein Verfahren, bei dem entsprechend der *Acute Toxic Class* (ATC) Methode nur 3 Tiere pro Dosisgruppe eingesetzt werden (Schlede et al., 1995).

Diese Alternativverfahren wurden bereits den zuständigen Normungsgremien (bzw. den OECD-Ausschüssen) zur Bearbeitung vorgelegt. Zusätzlich hat Prof. Einbrodt mehrere „inoffizielle“ Reduzierungsmöglichkeiten zum Tierversuch erwähnt, die im Ermessen des Versuchsleiters liegen und zu einer erheblichen Verminderung des Tierverbrauchs führen können.

Schlußfolgerung

Da bereits Alternativmethoden entwickelt wurden, die zu einer erheblichen Reduktion der belastenden Tierversuche zur Bestimmung der Inhalationstoxizität von Baustoffen führen können, sollten diese aus Tierschutzgründen möglichst rasch in

die betreffenden Normen (DIN 4102 und DIN 53436 Teil 3) aufgenommen werden.

Der Normenausschuß Bauwesen wird deshalb aufgefordert, die bereits entwickelten Alternativmethoden auf ihre Einsatzmöglichkeit in der Praxis zu prüfen und sie nach experimenteller Validierung in die entsprechenden DIN-Normen anstelle der Inhalationsversuche aufzunehmen. Desgleichen sollen auch die „inoffiziellen“, durch Erfahrung gewonnenen Möglichkeiten zur Versuchsreduzierung in den Vorschriften so umgesetzt werden, daß auch unerfahrene Versuchsleiter im Zweifelsfall auf unnötige Versuche aufgrund der überarbeiteten Norm verzichten können.

4.6 Vergleich der Dentalnormen DIN V 13930 und DIN EN ISO 7405

Zur Prüfung von Dentalprodukten stehen zwei aus rechtlicher Sicht gleichwertige Normen zur Verfügung. Beide beschreiben sehr belastende Tierexperimente, unterscheiden sich jedoch im qualitativen Ausmaß, da in der DIN V 13930 ein zusätzlicher Versuch mit hohem Tierversuchsaufwand aufgeführt ist.

Es müßte erreicht werden, daß in Zukunft nur eine gültige Norm für die Prüfung zahnärztlicher Produkte maßgeblich ist. Unter Tierschutzaspekten sollten so wenig Versuche mit so wenig Tieren wie möglich durchgeführt werden und phylogenetisch niederrangige Tiere verwendet werden, sofern eine Auswahl zwischen zwei oder mehreren Arten möglich ist.

Vorschläge zur Überarbeitung der DIN EN ISO 7405

Infolge der eindeutigen Vorteile der DIN EN ISO 7405 (weniger Versuche, dadurch geringerer Tierversuch, neuerer wissenschaftlicher Stand, internationale Gültigkeit und keine Verwendung von Affen bzw. Primaten) und der Notwendigkeit einer Entscheidung für eine rechtsgültige Norm wird der Normausschuß Dental bzw. das entsprechende Gremium der *International Organisation for Standardisation* zu folgendem aufgefordert:

Es sollte eine Überprüfung der DIN EN ISO 7405 im Hinblick auf die Notwendigkeit der Durchführung der unspezifischen Implantationstests (intramuskuläre, subkutane und intraossäre Implantationen) durchgeführt und die Streichung der Versuche angestrebt werden mit dem Ziel ei-

ner deutlichen Verringerung der Tierzahlen. Es sollte außerdem mit einer Überarbeitung der DIN EN ISO 7405 begonnen werden mit dem Ziel, Affen- und evtl. auch Hunde-Versuche vollständig aus dieser Norm zu streichen und die Gruppengrößen im Hinblick auf eine Reduzierung der Tierzahlen zu überprüfen.

Anschließend sollten die Vertreter Deutschlands in den zuständigen internationalen Normenausschüssen eine entsprechende Überarbeitung der internationalen DIN EN ISO 7405 durchsetzen.

4.7 Alternativen zur Biokompatibilitätsprüfung von Trachealtuben

Der Implantationsversuch der DIN ISO 5361-1 ist ein Tierversuch, der abzulehnen ist, da er in bezug auf die Sicherheit des Menschen keine relevanten Ergebnisse liefert und als gänzlich unspezifischer Test einzustufen ist. Zum anderen existiert ein *in vitro* Verfahren, in dem das zu testende Material mit den eigentlichen Zielzellen (humane Trachealzellen) in Kontakt kommt und daher aussagekräftige Resultate erbringt, wie mehrere Studien belegen (Bordenave und Janvier, 1992; Bordenave und Bareille, 1993). Vor einem zukünftigen routinemäßigen Einsatz des Zellkulturverfahrens als Sicherheitsprüfung und der Aufnahme in die DIN ISO 5361-1 muß es als validierte Testmethode anerkannt sein. Im Sinne des Tierschutzes sollte so bald als möglich eine Validierungsstudie unter Aufsicht des Normausschusses Rettungsdienst und Krankenhaus durchgeführt werden. Bis dahin muß auf andere Alternativverfahren zurückgegriffen werden (z.B. Zytotoxizitätstest mit unspezifischen Zellkulturen), die - im Gegensatz zu dem vorgeschriebenen Tierversuch - Ergebnisse liefern, die zuverlässige Daten über Zytotoxizität und -kompatibilität liefern. Der Tierversuch sollte auf jeden Fall sofort aus der DIN ISO 5361-1 gestrichen werden.

Schlußfolgerung

Da der Tierversuch nicht unerlässlich ist, um Resultate für die Sicherheit des Menschen zu erzielen, wird gefordert, den Anhang A der DIN ISO 5361-1 zu streichen.

4.8 Inhalationstoxikologische Prüfung von Schwefelhexafluorid (SF₆)

Nach dem heutigen Stand der Wissenschaft ist die DIN IEC 376 / VDE 0373

Teil 1 veraltet, und zwar aus folgenden Gründen:

1) Zum einen müssen toxische Verunreinigungen eines bekannten und in allen seinen Eigenschaften erfaßten Gases - in diesem Falle SF₆ - nicht mehr im Tierversuch geprüft werden, da die Gaschromatographie bereits kleinste Mengen von Verunreinigungen sichtbar macht. Prüfungen auf Verunreinigungen werden im Chemikaliengesetz nicht verlangt, und bereits existierende Chemikalien (sogenannte „alte Stoffe“) müssen generell nicht mehr toxikologisch getestet werden.

2) Zum anderen sind toxische Verunreinigungen im Zeitalter von GLP- und GMP-Richtlinien mehr als unwahrscheinlich. Aus dem gleichen Grund wird in dieser Arbeit die Abschaffung der Prüfung auf anomale Toxizität (ATT) verlangt.

Tierversuche zur Testung von Verunreinigungen sind generell obsolet, d.h. dem heutigen Stand der Wissenschaft nicht mehr angemessen. Die Gefahr möglicher toxischer Verunreinigungen ist im Zeitalter von GLP- und GMP-Richtlinien so gut wie ausgeschlossen, und die Diagnostik ist so weit ausgereift, daß selbst geringste Verunreinigungen mit den heutigen technischen Mitteln erfaßt würden.

Schlußfolgerungen

Nach dem Chemikaliengesetz ist heute eine Prüfung von SF₆ allgemein nicht mehr nötig. Daher sollte zumindest der Hauptteil 8 (Prüfung auf Toxizität) der DIN IEC 376 / VDE 0373 Teil 1 gestrichen werden.

Deshalb wird der Normausschuß Elektrotechnik aufgefordert, die allgemeine Relevanz der DIN IEC 376 / VDE 0373 Teil 1 im Sinne des Chemikaliengesetzes zu überprüfen und bei Bestehenbleiben der Norm den Hauptteil 8 (Prüfung auf Toxizität) zu streichen und gegebenenfalls durch eine gaschromatographische Untersuchung zu ersetzen.

5 Konsequenzen zur Reduktion von Tierversuchen aufgrund der Bewertung für einzelne Normenausschüsse des DIN

Aufgrund der Bewertungen im vorangehenden Abschnitt ergeben sich für einzelne Normenausschüsse Konsequenzen, die diese unter Berücksichtigung des Fortschritts in den biomedizinischen Wissenschaften einerseits und von Verbraucher-

schutz- und Tierschutzaspekten andererseits möglichst bald umsetzen sollten. Im Einzelfall sind folgende Normenausschüsse zum Handeln aufgerufen:

5.1 Normausschuß Medizin

– **Pyrogenitätstest am Kaninchen:** Ersatz des Pyrogenitätstests durch den LAL-Test in folgenden Normen: DIN 13273-5; DIN 13281; DIN 13098; DIN 58360-1; DIN 58361; DIN 58362; DIN 58363; DIN 58367; DIN EN ISO 8537; DIN ISO 1135-3; DIN ISO 8362; DIN ISO 8536; DIN ISO 8871 und DIN ISO 11040.

Weiterhin sollte die Validierung des humanen Vollblutmodells als Alternative zum Pyrogenitätstest vorangetrieben werden mit dem Ziel, den LAL-Test durch das humane Vollblutmodell zu ersetzen.

– **Tuberkulosedagnostik:** Streichen des Tierversuchs aus den Verfahrensrichtlinien zur Tuberkulosedagnostik (Teil 31 der DIN 58943) und Aufnahme der PCR als Standardmethode in Kombination mit den üblichen Verfahren in die DIN 58943.

Gegebenenfalls muß vor Aufnahme der PCR in die Norm eine experimentelle Validierung durchgeführt werden.

– **Anomale Toxizität (ATT):** Ersatzlose Streichung des anomalen Toxizitätstests aus folgenden Normen: DIN 13098; DIN 58360-1; DIN 58361; DIN 58362; DIN 58363; DIN 58367; DIN EN ISO 8537; DIN ISO 1135-3; DIN ISO 8362; DIN ISO 8536; DIN ISO 8871 und DIN ISO 11040.

5.2 Normausschuß Feinmechanik und Optik

– **Pyrogenitätstest am Kaninchen:** Ersatz des Pyrogenitätstests durch den LAL-Test in der Norm DIN 130973-3.

Außerdem sollte die Validierung des humanen Vollblutmodells als Alternative zum Pyrogenitätstest vorangetrieben werden mit dem Ziel, den LAL-Test durch das humane Vollblutmodell zu ersetzen.

5.3 Normausschuß Medizin, Kunststoffe, Verpackung

– **Pyrogenitätstest am Kaninchen:** Ersatz des Pyrogenitätstests durch den LAL-Test in der Norm DIN 58363-15.

Außerdem sollte die Validierung des humanen Vollblutmodells als Alternative zum Pyrogenitätstest vorangetrieben werden mit dem Ziel, den LAL-Test durch das humane Vollblutmodell zu ersetzen.

– **Anomale Toxizität (ATT):** Ersatzlose Streichung des anomalen Toxizitätstests.

5.4 Normausschuß Lebensmittel und Landwirtschaft

– **Botulinum-Diagnostik:** Durchführung einer Validierung des ELISA-ELCA-Testsystems als Nachweismethode in der Botulinum-Diagnostik bzw. Berücksichtigung der noch ausstehenden Ergebnisse einer US-amerikanischen Validierungsstudie mit dem Ziel des Ersatzes des Mäuseletalitätstests in der DIN 10102 durch diese Methode.

5.5 Normausschuß Bauwesen und Normausschuß Materialprüfung

– **Inhalationstoxikologische Tierversuche zur Prüfung von Baustoffen:** Überprüfung der Alternativverfahren zu den inhalationstoxikologischen Tierversuchen zur Prüfung von Baustoffen: Berechnungsmodell, Ames-Test und ATC-Methode; gegebenenfalls Einleitung und Durchführung von Validierungsstudien mit dem Ziel der Integration in die Normen DIN 53436 und DIN 4102. Außerdem sollten die bereits in den Vorschriften enthaltenen Einsparungsmöglichkeiten stärker genutzt werden.

5.6 Normausschuß Dental sowie entsprechendes Gremium der ISO

– **Prüfvorschriften für Dentalprodukte:** Überarbeitung der DIN EN ISO 7405 (Prüfvorschriften für Dentalprodukte) im Hinblick auf:

- ▶ Abschaffung der unspezifischen Implantationstests,
- ▶ Streichung von Affen (Primaten) als zulässige Versuchstierart,
- ▶ Reduzierung der Größen der Behandlungsgruppen.

Internationale Harmonisierung der Normen DIN V 13930 und DIN EN ISO über eine rechtskräftige Norm mit dem Ziel, daß die DIN EN ISO 7405 als international geltende Norm anerkannt wird.

5.7 Normausschuß Rettungsdienst und Krankenhaus

– **Kaninchenimplantationstests zur Biokompatibilitätsprüfung von Trachealtuben:** Prüfung des beschriebenen *in vitro* Verfahrens und Durchführung einer Validierungsstudie mit dem Ziel der Streichung des Kaninchenimplantationstests zur Biokompatibilitätsprüfung von Trachealtuben aus der DIN 5361-1 und Ersatz durch eine tierversuchsfreie Methode.

5.8 Normausschuß Elektrotechnik – Inhalationstoxikologische Prüfung von Schwefelhexafluorid im Tierversuch:

Streichung des Teils 22 der DIN IEC 376/VDE 0373 Teil 1 (inhalationstoxikologische Prüfung von Schwefelhexafluorid im Tierversuch).

Gegebenenfalls Überprüfung der Notwendigkeit der gesamten Norm im Hinblick auf die veränderte heutige Rechtsgrundlage.

Danksagung

Wir möchten dem DIN-Institut in Berlin und dem ihm angegliederten Deutschen Informationszentrum für technische Regeln (DITR) für die Unterstützung bei der Recherche nach Tierversuchen danken, die in nationalen und internationalen Normen aufgeführt sind. Außerdem möchten wir folgenden Sachverständigen für ihre Unterstützung bei unserer Arbeit danken: Dr. Breitsameter, DIN-Institut Berlin, und Dr. Keller, DIN- Institut Pforzheim; Prof. Ermel, Technische Fachhochschule Berlin; PD Dr. Große-Siestrup, Rudolf Virchow Klinikum, Berlin; Dr. Groth, GKSS Forschungszentrum, Berlin-Teltow und Dr. Prager, Bayer AG Leverkusen.

6 Literatur

Bordenave, L. and Bareille, R. (1993). Human tracheal epithelial cells in culture: a suitable model for testing the cytocompatibility of materials for endotracheal use. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 4, 327-336.

Bordenave, L. and Janvier, G. (1992). An in vitro cytotoxicity study of a cuff of an endotracheal tube using human tracheal epithelial cells. In P. J. Doherty et al. (eds.), *Biomaterial-Tissue Interfaces. Advances in Biomaterials* 10, 1-6.

BSG (1995). Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung übertragbarer Krankheiten

beim Menschen. (Bundesseuchengesetz); Abschnitt 2, § 3; 1979 mit Änderungen bis einschließlich 1995.

DAB (1991). *Deutsches Arzneibuch*, 10. Ausgabe. Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, Frankfurt/Eschborn: Govi-Verlag GmbH.

Doellgast, G. J., Bottoms, J. D., Triscott, M. X. and Beard, G. A. (1994). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay - Enzyme-Linked Coagulation Assay for Detection of Antibodies of Clostridium botulinum Neurotoxins A, B and E and Solution-Phase Complexes. *Journal of Clinical Microbiology*, 851-853.

Doellgast, G. J., Brown, J. E., Triscott, M. X., Beard, G. A. and Bottoms, J. D. (1993). Sensitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Clostridium botulinum Neurotoxins A, B and E Using Signal Amplification via Enzyme-Linked Coagulation Assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 2402-2409.

Hartung, T. und Wendel, A. (1995). Die Erfassung von Pyrogenen in einem humanen Vollblutmodell. *ALTEX* 12, 70-75.

Hartung, T. and Wendel, A. (1996). Detection of Pyrogens Using Human Whole Blood. *In vitro Toxicology* 9, 353-359.

Kox, L. F., Rhienthong, D., Miranda, A. M., Udomsantisuk, N., Ellis, K., van Leeuwen, J., van Heusden, S., Kuijper, S. and Kolk, A. H. (1994). A more reliable PCR for detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical samples. *J Clin Microbiol* 32, 672-678.

MPG (1994). Gesetz über Medizinprodukte (Medizinproduktegesetz) vom 2.8.1994.

Pieler, J. und Figge, J. (1992). Abschätzung der chronischen Toxizität von Verschmelungsprodukten anhand ihrer mutagenen Aktivität im Ames test in einer Ergänzungsapparatur zu DIN 53436. *Wiss. Umwelt* 2, 203-207.

Noordhoek, G. T., Kolk, A. H., Bjune, G., Catty, D., Dale, J. W., Fine, P. E., Godfrey-Faussett, P., Cho, S. N., Shinnick, T. and Svenson, S. B. (1994). Sensitivity and specificity of PCR for detection of Mycobacterium tuberculosis: a blind comparison study among seven laboratories. *Journal of Clinical Microbiology* 32, 277-284.

Schlede, E. Mischke, U., Diener, W. and Kaiser, D. (1995). The International Validation Study of The Acute Toxic Class Method (Oral). *Arch Toxicol* 69, 659-670.

Svendsen, O., Garthoff, B., Spielmann, H., Hensten-Pettersen, A., Jensen, J. C., Kuijpers, M. R., Leimgruber, R., Liebsch, M., Müller-Lierheim, G. K., Rydhög, G., Sauer, U. G., Schmalz, G., Sim, B. and Stea, S. (1996). Alternatives to the Animal Testing of Medical Devices - The Report and recommendations of ECVAM Workshop 17. *ATLA* 24, 659-669.

Tierschutzgesetz (1998). Bekanntmachung der Neufassung des Tierschutzgesetzes. *Bundesgesetzblatt Teil I Nr.30 vom 29.5.1998*, 1105-1120.

Wobeser, W. L. and Krajden, S. (1996). Evaluation of Roche Amplicor PCR Assay for Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology* 34, 134-139.

Yuen, K. Y., Chan, K. S., Chan, C. M., Ho, B. S., Dai, L. K., Chau, P. Y. and Ng, M. H. (1993). Use of PCR in routine diagnosis of treated and untreated pulmonary tuberculosis. *Journal of Clinical Pathology* 46, 318-22.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Horst Spielmann
ZEBET im BgVV
Diedersdorfer Weg 1
D-12277 Berlin
Tel. +49-30-8412-2270
Fax +49-30-8412-2958
E-mail: zebet@bgvv.de

