

ERGATT/ECVAM* Workshop zur Akzeptierung validierter Alternativmethoden: AMDEN III

Horst Spielmann¹, Manfred Liebsch¹ und Christoph Reinhardt²

¹ZEBET/BgVV, D-Berlin, ²SAAT, CH-Bertschikon/Zürich

Zusammenfassung

Wegen der bisher fehlenden Akzeptierung validierter toxikologischer Alternativmethoden fand vom 26.-30. Januar 1998 in Amden/Schweiz nach 1990 und 1994 der dritte internationale ERGATT/ECVAM Validierungs-Workshop mit Wissenschaftlern aus Europa und den USA statt. Wissenschaftliche und politische Gründe für die Verzögerung wurden in den Bereichen Phototoxizität, Hautätzung und Hautpenetration erkannt, und es wurden Wege zur Beschleunigung der internationalen behördlichen Anerkennung vorgeschlagen. Die Kriterien für die unabhängige Evaluierung und Akzeptierung neuer Tests sollen von der OECD harmonisiert werden, und zwar sowohl für bereits existierende Methoden, die sich in der Praxis bewährt haben, als auch für neue, experimentell validierte Methoden. In vitro Tests für Phototoxizität und Hautpenetration stehen unmittelbar vor der Anerkennung durch die OECD und die EU. Für Ätzwirkungen an der Haut werden wahrscheinlich zwei in vitro Tests bei der OECD eingereicht. Die Teilnehmer am Amden III Validierungs-Workshop schlugen außerdem vor, daß in Zukunft für die Akzeptierung neuer Tierversuche und für Alternativmethoden dieselben Kriterien gelten sollten. Schließlich soll die OECD stark belastende toxikologische Tierversuche aus ihrem Katalog der Prüfmethode streichen, wenn weniger belastende, validierte Alternativmethoden zur Verfügung stehen. Nach Streichung obsoleter Methoden aus dem OECD-Verzeichnis gibt es keine Rechtfertigung mehr für ihre Durchführung. Es ist zu hoffen, daß die Empfehlungen des dritten Validierungs-Workshops in Amden endlich die Widerstände gegen die Akzeptierung von Alternativmethoden beseitigen, da sie von Europäern, Amerikanern und der OECD gemeinsam erarbeitet wurden.

Summary: ERGATT/ECVAM Workshop on Acceptance of Validated Alternative Methods: Amden III.

Since validated in vitro toxicity tests have so far not been accepted by regulators the third international ERGATT/ECVAM validation workshop was held from January 26-30, 1998, in Amden /Switzerland. Scientific and political reasons for a delay of the acceptance of alternative methods were identified in the areas of phototoxicity, skin penetration and skin corrosivity and strategies to promote the acceptance were suggested. The OECD will harmonise the formal of criteria for the regulatory acceptance of new experimentally validated tests and of established tests from industry for which in-house and literature data exist. In vitro tests for phototoxicity and skin penetration will be accepted shortly by the OECD. For skin corrosivity two in vitro tests will be put forward to the OECD later this year.

The Amden III workshop suggests that, the same acceptance criteria must be used for animal and in vitro tests. Finally, the OECD should remove tests that cause pain and distress to test animals from the official OECD list of official test guidelines if validated alternative methods exist. When obsolete animal tests are taken from the list of official OECD test guidelines, they will not any longer be accepted at the international level. Thus, the third Amden workshop has contributed new concepts for the regulatory acceptance of alternative toxicity tests which are supported by regulators in Europe, the USA and the OECD.

Keywords: validation workshop, in vitro toxicology, alternatives, ECVAM, ICCVAM, OECD, ERGATT, Amden III

1 Einleitung

In den Jahren 1990 und 1994 fanden jeweils im Januar in Amden (Schweiz) internationale Workshops zum Thema Validierung von Alternativmethoden zu toxikologischen Tierversuchen statt, auf denen die grundlegenden Konzepte für die experimentelle Validierung „definiert“ oder „festgelegt“ wurden, die heute welt-

weite Anerkennung gefunden haben (s. Tabellarische Übersicht; Balls et al., 1990 und 1995). Das kommt vor allem dadurch zum Ausdruck, daß die auf den beiden Workshops Amden I & II vorgeschlagenen Definitionen der Grundelemente jeder experimentellen Validierung toxikologischer Prüfmethode in den Jahren 1995 und 1996 in gleicher Weise vom EU-Validierungszentrum ECVAM in Ispra (Itali-

en), vom US Validierungszentrum ICCVAM im *Research Triangle Park* (USA) und von dem für die weltweite internationale Harmonisierung toxikologischer Prüfrichtlinien zuständigen *Test Guidelines Program* der OECD in Paris anerkannt wurden.

Auf dem ersten Amden Validierungs-Workshop, der gemeinsam von den in ERGATT zusammengeschlossenen Wissen-

schaftlern und dem amerikanischen Zentrum zur Entwicklung von Alternativmethoden CAAT an der *Johns Hopkins University* in Baltimore (USA) veranstaltet wurde, konnte Einvernehmen über die heute allgemein gültige Definition der Validierung erzielt werden. Danach wird in einer Validierungsstudie die Reproduzierbarkeit einer Methode geprüft und außerdem die Relevanz, welche die *in vitro* Methode für ein bestimmtes Gebiet der Toxikologie hat, z.B. Haut- und Augenreizung bzw. Embryotoxizität. Außerdem wurde 1990 in Amden definiert, daß die experimentelle Validierung folgende vier Elemente umfassen sollte: Testentwicklung - experimentelle Validierung des Tests in einem Ringversuch unter „blinden“ Bedingungen - unabhängige Evaluierung des Ringversuches („peer review“) und schließlich die nationale und internationale behördliche Akzeptierung des validierten Tests (s. Tabellarische Übersicht; Balls et. al., 1990).

Auf dem zweiten Validierungs-Workshop 1994 in Amden wurden aufgrund der inzwischen vor allem in Europa bei internationalen Validierungsstudien gesammelten Erfahrungen zusätzlich noch einige weitere, wichtige Elemente der experimentellen Validierung als unerlässlich erkannt, und zwar die Prävalidierung, die zur Standardisierung der Testmethode der formalen Validierung unter „blinden“ Bedingungen vorausgehen und sich auf einige erfahrene Laboratorien beschränken sollte (s. Tabellarische Übersicht; Balls et. al., 1995; Curren et al., 1995). Ein weiteres unerlässliches Element jeder Validierungsstudie ist nach dem Amden II Workshop ein biometrisch begründetes Prädiktionsmodell, mit dessen Hilfe aus den *in vitro* erhobenen Daten die *in vivo* zu erwartenden Effekte vorausgesagt werden können. Wünschenswert ist außerdem, daß mit der *in vitro* Methode ein toxischer Mechanismus erfaßt wird, welcher der Reaktion *in vivo* beim Menschen oder im Versuchstier entspricht. Die Entwicklung sog. „mechanistischer“ *in vitro* Tests ist natürlich dadurch begrenzt, daß nur in wenigen Fällen bei toxischen Reaktionen der zugrunde liegende Mechanismus bekannt ist, wie bei der Genotoxizität oder bei lokalen Reizwirkungen an der Haut.

Die bei den Workshops Amden I und II definierten Elemente, die jede experimen-

telle Validierung umfassen sollten, haben nicht nur die allgemeine Zustimmung von Wissenschaftlern in Industrie, Behörden und Forschungsinstituten gefunden, sondern sie wurden auch bei den ersten jetzt erfolgreich abgeschlossenen Validierungsstudien berücksichtigt, wie z.B. bei der Validierung von *in vitro* Phototoxizitätstests (Spielmann et al., 1997; 1998). Da trotz aller Anstrengungen zur Validierung erfolgversprechender toxikologischer *in vitro* Tests bis Ende 1997 von internationalen Behörden noch kein einziger *in vitro* Test akzeptiert worden war, und da auf nationaler Ebene erhebliche Unterschiede bei der Akzeptierung von *in vitro* Tests festzustellen waren, haben die Mitglieder der ERGATT Ende 1997 vorgeschlagen, im Januar 1998 auf einem dritten Validierungs-Workshop in Amden mit den wichtigsten internationalen Behörden die Gründe für die Verzögerung der behördlichen Akzeptierung zu diskutieren. Michael Balls, der Leiter des EU Validierungszentrums ECVAM hat dem Vorschlag zugestimmt und Christoph Reinhardt (SAAT) mit der Organisation des ERGATT/ECVAM Workshops betraut, da er bereits 1990 und 1994 für die beiden erfolgreichen Validierungs-Workshops in Amden verantwortlich war.

2 Themenstellung und Teilnehmer

Auf dem Validierungs-Workshop wurden anhand konkreter Probleme die bisher unbefriedigenden Erfolge bei der behördlichen Akzeptierung toxikologischer *in vitro* Methoden diskutiert. Die Validierung von *in vitro* Tests zur Prüfung auf phototoxische Eigenschaften sowie auf korrosive bzw. ätzende Eigenschaften an der Haut wurden als Beispiele für experimentell erfolgreiche Validierungsstudien diskutiert. Weiterhin wurde erörtert, warum nach der Akzeptierung von drei Alternativmethoden zur „klassischen“ LD₅₀ durch die OECD es auch weiterhin der OECD nicht möglich sein wird, die Durchführung der „klassischen“ LD₅₀ zu verbieten, und ob es Möglichkeiten gibt, diesen Mißstand zu beenden. Außerdem wurden die Unterschiede diskutiert, die es bei der Akzeptierung von *in vitro* Tests zur Prüfung auf Penetration durch die Haut in Europa und den USA gibt und die dazu führten, daß eine Akzeptierung der *in vitro* Methode durch die OECD in den Jahren 1996/97

noch nicht möglich war. Schließlich erörterten die Teilnehmer des Workshops aus aktuellem Anlaß, wie es zu verhindern ist, daß auch weiterhin neue toxikologische Tierversuche ohne eine der Validierung entsprechende experimentelle Prüfung sowohl national als auch international auf Ebene der OECD akzeptiert werden.

Der Workshop wurde gemeinsam von Michael Balls (ECVAM) und Horst Spielmann (Chairman von ERGATT) geleitet. Die 16 Teilnehmer des Amden III Validierungs-Workshops repräsentierten folgende Institutionen: fünf ERGATT Mitglieder: Michael Balls (ECVAM), Bas Blaauboer (NL), Bob Combes (GB), Christoph Reinhardt (CH), Horst Spielmann (ZEBET); vier US-Amerikaner: Bill Stokes (ICCVAM & NTP), Neil Wilcox (ICCVAM & FDA), Leon Bruner (Procter & Gamble), Rodger Curren (IIVS); ein Vertreter der OECD: Herman Koëter, ein Vertreter der DG III der EU: Lee Bansil, zwei Biostatistiker: Graeme Archer (ECVAM), Hermann-Georg Holzhütter (Humboldt Universität, D-Berlin), sowie drei in der experimentellen Validierung erfahrene Wissenschaftler: Julia Fentem (ECVAM), Manfred Liebsch (ZEBET) und Gerhard Thomas (Novartis, CH).

3 Akzeptierung validierter *in vitro* Phototoxizitätstests

Unter Federführung von ZEBET und in enger Kooperation mit dem europäischen Verband der Kosmetikindustrie COLIPA und ECVAM bzw. der DG XI der EU wurden seit 1991 mehrere erfolgreiche Validierungsstudien von *in vitro* Phototoxizitätstests durchgeführt (Spielmann et al., 1994; 1997, 1998). Als Ergebnis konnte 1996 dem *Scientific Committee on Cosmetology* der EU und 1997 ECVAM der experimentell nach den Kriterien der Validierungs-Workshops Amden I und II validierte *in vitro* Phototoxizitätstest mit der 3T3 Mäusefibroblastenzelllinie vorgelegt werden (3T3 NRU PT Test). ESAC, der Wissenschaftliche Beirat von ECVAM, hat im Oktober 1997 diesen *in vitro* Phototoxizitätstest als wissenschaftlich validiert und damit als „valide“ akzeptiert. Anschließend hat auch die für toxikologische Testmethoden in der EU zuständige DG XI der EU den 3T3 NRU PT Test als erfolgreich validierten Test akzeptiert. Daraufhin wurde ZEBET mit der Erarbeitung



eines Entwurfes für eine OECD Prüfrichtlinie zur Prüfung auf phototoxische Eigenschaften betraut. Sobald ECVAM, COLIPA und die DG XI der EU den Entwurf der OECD Prüfrichtlinie akzeptieren, soll er im Frühjahr 1998 beim zuständigen Gremium der EU eingereicht werden. Falls die OECD die Prüfrichtlinie ebenfalls akzeptiert, wäre der 3T3 NRU PT Test der erste experimentell validierte *in vitro* Toxizitätstest, der von einem internationalen Gremium akzeptiert wird. Auf diesem speziellen Gebiet der Toxikologie ist dann nur der *in vitro* Test von der OECD akzeptiert, und gleichzeitig hat die OECD bisher noch keinen Tierversuch für die Phototoxizitätsprüfung akzeptiert. In dieser Beziehung ist die Phototoxizität sicher als Sonderfall zu betrachten.

Für den Bereich der Kosmetika hat das für die sicherheitstoxikologische Bewertung von Kosmetika in der EU zuständige SCC 1996 nach Vorlage der Ergebnisse der Validierung des 3T3 NRU PT Tests verlangt, daß ECVAM bzw. COLIPA in diesem Test zusätzlich noch 10 UV-Filterstoffe, die in Sonnenschutzmitteln eingesetzt werden, auf ihre phototoxischen Eigenschaften überprüfen. Alle 10 vom SCC vorgeschlagenen UV-Filterstoffe werden beim Menschen seit Jahren angewendet und haben dabei keine Hinweise auf phototoxische Eigenschaften gezeigt. Diese spezielle experimentelle Prüfung der UV-Filterstoffe im 3T3 NRU PT Test wurde 1996/97 wiederum von ZEBET koordiniert und in vier Laboratorien der Kosmetikindustrie in Europa und den USA zusammen mit 10 phototoxischen Stoffen unter „blinden“ Bedingungen durchgeführt. In der Ende 1997 abgeschlossenen Studie zeigten sich im 3T3 NRU PT Test den vier Laboratorien bei den 10 nicht phototoxischen Prüfsubstanzen keine Hinweise auf phototoxische Eigenschaften, während 10 bekannte phototoxische Stoffe richtig eingestuft wurden. ECVAM und COLIPA werden die Ergebnisse dieser zusätzlichen Studie wiederum dem ESAC zur Bewertung vorlegen. Nach Akzeptierung durch ESAC wird der 3T3 NRU PT Test dann der für die Zulassung von Kosmetikinhaltsstoffen zuständigen DG III der EU und auch dem SCC vorgelegt. Es ist dann noch im Jahre 1998 mit einer Akzeptierung des 3T3 NRU PT Test als valide *in vitro* Methode für die Prüfung auf phototoxische Eigen-

Tabellarische Übersicht über die Empfehlungen der drei Validierungs-Workshops in Amden/Schweiz

Amden I, 1990, Veranstalter CAAT und ERGATT (Balls et al., 1990)
1. Prinzip der experimentellen Validierung toxikologischer Prüfmethode definiert: Reproduzierbarkeit und Relevanz einer Testmethode
2. Ablaufschema der experimentellen Validierung toxikologischer Prüfmethode definiert: Testentwicklung <ul style="list-style-type: none"> ▶ experimentelle Prüfung der Reproduzierbarkeit in einem Ringversuch ▶ experimentelle Erarbeitung einer ausreichenden Datenbasis ▶ unabhängige Evaluierung ▶ behördliche Akzeptierung
Amden II, 1994, Veranstalter ECVAM und ERGATT (Balls et al., 1995)
1. Notwendigkeit der Phase der Prävalidierung erstmals formuliert, die der formalen Validierung vorangehen sollte
2. Notwendigkeit der strikten Einhaltung von Prüfprotokollen (SOP) formuliert
3. Notwendigkeit eines biometrisch definierten Prädiktionsmodells als essentieller Teil des Prüfprotokolls erstmals definiert, das in der Prävalidierung überprüft werden sollte
4. Notwendigkeit der Unabhängigkeit der wesentlichen Entscheidungsgremien in einer Validierungsstudie von den Sponsoren bekräftigt: <ul style="list-style-type: none"> ▶ Management ▶ Auswahl der Prüfsubstanzen ▶ Versendung der kodierten Prüfsubstanzen ▶ biometrische Auswertung ▶ wissenschaftliche Bewertung ▶ Bewertung bezüglich der Anwendung in der behördlichen Praxis
Amden III, 1998, Veranstalter ECVAM und ERGATT
1. Streichung stark belastender toxikologischer Tierversuche, für die validierte Alternativmethoden zur Verfügung stehen, aus internationalen Richtlinien, z.B. OECD
2. Internationale Harmonisierung der Kriterien für die behördliche Akzeptierung neuer toxikologischer <i>in vitro</i> Methoden durch die OECD primär sollte die Bewertung flexibel unter Berücksichtigung des Einzelfalles erfolgen und nicht nach einem starren Bewertungsschema
3. Anwendung gleicher Kriterien bei der behördlichen Akzeptierung von toxikologischen Tierversuchen und <i>in vitro</i> Methoden, d.h. Reproduzierbarkeit und Relevanz für die Zielspezies (meist der Mensch) sind nachzuweisen
4. Anwendung der gleichen Kriterien für die behördliche Akzeptierung bei <ul style="list-style-type: none"> ▶ neuen experimentell validierten Tests und ▶ in der Praxis etablierten Tests, für die ausreichende Daten vorliegen, so daß eine experimentelle Validierung nicht erforderlich ist

schaften von Inhaltsstoffen von Kosmetika zu rechnen.

4 Akzeptierung von *in vitro* Methoden zur Prüfung auf ätzende Wirkungen an der Haut

ECVAM hat eine Validierungsstudie mit drei *in vitro* Methoden zur Prüfung auf ätzende Wirkungen an der Haut Ende 1997 abgeschlossen. Es handelt sich um den in England entwickelten TER Test, bei dem der elektrische Widerstand der Haut gemessen wird, den physiko-chemischen,

kommerziell entwickelten CORROSI-TEX™ Test sowie zwei Tests, bei denen mit biotechnologisch hergestellten menschlichen Hautäquivalenten gearbeitet wird, nämlich SKIN² und EPISKIN™. Unter diesen Tests haben sich nach Meinung der zuständigen ECVAM Expertengruppe der TER Test und EPISKIN™ in einem Ringversuch unter „blinden“ Bedingungen als „valide“ herausgestellt.

Diese beiden *in vitro* Tests zur Prüfung auf Ätzwirkungen an der Haut sollen daher im Frühjahr 1998 von ESAC evaluiert und dann nach Erarbeitung einer Prüf-

richtlinie der DG XI der EU und der OECD als valide *in vitro* Methoden zur Klassifizierung von Stoffen mit Ätzwirkung an der Haut eingesetzt werden. Da SKIN² und EPISKIN nicht mehr auf dem Markt erhältlich sind, wurde das Modell EPIDERM mit erfolgversprechenden Ergebnissen an 24 Stoffen der 60 Teststoffe der ECVAM Studie in 3 Laboratorien prävalidiert.

Am Workshop einigte man sich insbesondere darauf, daß bei der Prüfung auf eine erfolgreiche Validierung die richtige biologische Antwort der *in vitro* Methode ausschlaggebend sein müsse. Erst in einem nachfolgenden Schritt folgt dann die Einordnung in ein Klassifizierungssystem. Dies scheint nicht nur bei der Prüfung auf die ätzende Wirkung an der Haut ein Hauptproblem zu sein, sondern auch bei den Prüfungen auf Augen- und Hautreizungen. Die Harmonisierung der national und international unterschiedlichen Klassifizierungssysteme wurde deshalb als vordringlich für eine raschere Akzeptanz der *in vitro* Methoden empfunden.

5 Harmonisierung der Kriterien für die Akzeptierung von *in vitro* Methoden am Beispiel der Prüfung der Penetration von Fremdstoffen durch die Haut

Wir haben in der vorigen Ausgabe von ALTEX (4/97) darüber berichtet, daß die Mitgliedstaaten der EU einer OECD Prüfrichtlinie zur Prüfung auf Penetration von Fremdstoffen durch die Haut mit Hilfe von *in vitro* Methoden, bei denen vor allem menschliche Haut aus Operationsmaterial eingesetzt wird, zugestimmt haben. Diese Prüfung ist zur Risikoabschätzung vor allem bei Kosmetika und Pflanzenschutzmitteln wichtig. Aufgrund der von Mitgliedsfirmen des europäischen Verbandes der Hersteller von Kosmetika COLIPA vorgelegten Daten von etwa 30 Stoffen waren die europäischen Experten in Industrie und Behörden bereit, auf eine formale Validierung zu verzichten. Die Vertreter der USA und Kanadas und unter ihnen vor allem die Vertreter der Behörden, die für die Zulassung von Pflanzenschutzmitteln zuständig sind, haben dagegen Bedenken gegen den Verzicht auf eine ausführliche experimentelle Validierung vorgebracht. Maßgeblich für die positive Haltung der Europäer, auf eine Validierungsstudie zu

verzichten, waren die langjährigen positiven Erfahrungen der Kosmetik- und Pflanzenschutzmittel-Hersteller in Europa mit den *in vitro* Methoden, die bisher in ausreichender Weise die Risikoabschätzung für den Verbraucher- und Arbeitsschutz gewährleistet haben.

Die Diskussion in Amden ergab, daß die Vertreter der USA, d.h. von ICCVAM, die bereits vorliegenden Daten aus der Industrie nach genau denselben Kriterien bewerten wollten, wie die Ergebnisse von Validierungsstudien. Dazu legten die Vertreter der USA ein Dokument mit den ICCVAM Kriterien vor, die bei der Akzeptierung neuer toxikologischer Tests zu erfüllen sind. Die Kriterien entsprechen denen, die auch im Amden II Validierungs-Workshop und in den Dokumenten von ECVAM und OECD zur Akzeptierung validierter *in vitro* Tests festgeschrieben sind.

Wichtig war in der Diskussion die Feststellung, daß bei *in vitro* Tests, die sich bereits in der Praxis seit Jahren bewährt haben, die Datenlage bezüglich der Reproduzierbarkeit, der Auswahl der Testchemikalien und der Erarbeitung eines biostatistisch begründeten Prädiktionsmodells anders zu beurteilen ist, als die Ergebnisse von zukünftigen gut geplanten Validierungsstudien, die unter blinden Bedingungen durchgeführt werden. Die OECD und auch ECVAM und die Teilnehmer aus Europa favorisierten deshalb anstelle eines starren Schemas für die Akzeptierung neuer toxikologischer Testmethoden, wie die Liste der ICCVAM Kriterien, eine Entscheidung von Fall zu Fall unter Berücksichtigung der OECD Kriterien für die experimentelle Validierung.

Als Kompromiß einigten sich die Teilnehmer des Workshops Amden III darauf, daß die OECD eine Liste mit Kriterien erarbeitet, die bei der Evaluierung neuer toxikologischer Tests von den jeweiligen Gutachtern beurteilt werden müssen. Das kann in begründeten Fällen den Verzicht auf die langwierige experimentelle Validierung bedeuten, wie es die Europäer für die *in vitro* Methoden zur Prüfung auf Hautpenetration vorschlugen. Diese Kriterien sollen in Zukunft von der OECD auch dann angewendet werden, wenn bereits von der OECD akzeptierte toxikologische Versuche überarbeitet werden (s. Tabellarische Übersicht).

6 Internationaler Verzicht auf obsoletere toxikologische Tierversuche am Beispiel der akuten oralen Toxizitätsprüfung: Verzicht/Verbot der Durchführung der „klassischen“ LD₅₀

Die OECD hat seit 1992 bei der Prüfung auf akute orale Toxizität insgesamt drei Ersatzmethoden für die „klassische“ LD₅₀ (OECD No. 401) akzeptiert. Darüber hat ALTEX vielfach berichtet. Es handelt sich um die FDP-Methode (*Fixed Dose Procedure*, OECD No. 420), die in England entwickelt wurde, die ATC-Methode (*Acute Toxic Class Method*), die in Deutschland entwickelt wurde, und die UDP-Methode (*Up and Down Procedure*), die in den USA vor allem bei der Firma Procter und Gamble entwickelt wurde.

So erfreulich diese Entwicklung auf den ersten Blick erscheint, um so unerfreulicher ist die Tatsache, daß die OECD als internationale Institution nicht über die Machtmittel verfügt, durchzusetzen, daß nur noch die drei Ersatzmethoden verwendet werden, bei denen das Leiden der Tiere und die Zahl der Tiere, die eingesetzt werden müssen, erheblich geringer sind als bei der „klassischen“ LD₅₀ Methode. Solange die „klassische“ LD₅₀ im offiziellen Verzeichnis der OECD Prüfmethode aufgeführt ist, müssen nämlich alle OECD Mitgliedstaaten die Daten akzeptieren, die mit dieser Methode erarbeitet wurden.

Im Rahmen der Prüfung von Chemikalien haben die EU Mitgliedstaaten deshalb eindeutig für eine Streichung der „klassischen“ LD₅₀ aus dem Katalog der OECD Methoden votiert. Vorbehalte gegen eine Streichung bestanden international noch im Bereich der Prüfung von Pflanzenschutzmitteln. Deutschland hat daher auf dem OECD „Pesticide Forum“ am 9. Februar 1998 vorgeschlagen, die Methode der „klassischen“ LD₅₀ aus dem Katalog der OECD Prüfrichtlinien auch bei den Pflanzenschutzmitteln zu streichen. Das hat es bisher noch nicht gegeben. Die Teilnehmer des Validierungs-Workshops Amden III haben daher uneingeschränkt dem Vorschlag der OECD zugestimmt, daß es in Zukunft möglich sein soll, aus Tierschutzgründen obsoletere toxikologische Prüfmethode aus dem Katalog der OECD Prüfmethode zu streichen, insbesondere zugunsten

von *in vitro* Methoden und weniger belastenden Tierversuchen (s. Tabellarische Übersicht).

7 OECD will in Zukunft gleiche Kriterien bei der Akzeptierung toxikologischer Tierversuche und *in vitro* Tests anwenden

Es hat sich in den letzten 5 Jahren die unbefriedigende Situation nicht geändert, daß international von der OECD neue Tierversuche insbesondere auf dem Gebiet der Umwelttoxikologie akzeptiert werden, ohne daß sie nach denselben strengen Kriterien experimentell validiert werden, wie es bei der Einführung neuer *in vitro* Tests verlangt wird.

Die Teilnehmer des Amden III Validierungs-Workshops haben uneingeschränkt den Vorschlag von Herman Koëter (OECD) unterstützt, daß neue Tierversuche von der OECD nur akzeptiert werden dürfen, wenn sie dieselben Kriterien bezüglich der Reproduzierbarkeit und Relevanz erfüllen, die für neue Alternativmethoden durch die experimentelle Validierung nachzuweisen sind. Es zeichnete sich wiederum der Kompromiß ab, daß die OECD eine Liste von Kriterien für die Akzeptierung neuer Prüfmethode aufstellt, die in gleicher Weise vor der Akzeptierung neuer *in vitro* Tests als auch von neuen Tierversuchen erfüllt werden müssen (s. Tabellarische Übersicht).

Literatur

- Balls, M., Blaauboer, B., Brusik, D., Frazier, J., Lamb, D., Pemberton, M., Reinhardt, C., Roberfroid, M., Rosenkranz, H., Schmid, B., Spielmann, H., Stamatii, A. L. and Walum, E. (1990). Report and recommendations of the CAAT/ERGATT workshop on the validation of toxicity test procedures. *ATLA* 18, 313-337.
- Balls, M., Blaauboer, B. J., Fentem, J. H., Bruner, L., Combes, R. D., Ekwil, B., Fielder, R. J., Guillouzo, A., Lewis, K. W., Lovell, D. P., Reinhardt, C. A., Repetto, G., Sladowski, D., Spielmann, H. and Zucco, F. (1995). Practical aspects of the validation of toxicity test procedures. The report and recommendations of ECVAM Workshop 5. *ATLA* 23, 129-147.
- Curren, R., Southe, J. A., Spielmann, H., Liebsch, M., Fentem, J. H. and Balls, M. (1995). The role of prevalidation in the development, validation and acceptance of alternative methods. *ATLA* 23, 211-217.
- OECD (1996). *Final report of the OECD workshop on harmonisation of validation and acceptance criteria of alternative toxicological test methods*. Paris: OECD Publications Office.
- Spielmann, H., Balls, M., Brand, M., Döring, B., Holzhütter, H. G., Kalweit, S., Klecak, G., L'Eplattenier, H., Liebsch, M., Lovell, W. W., Maurer, T., Moldenhauer, F., Moore, L., Pape, W. J. W., Pfannenbecker, U., Potthast, J., De Silva, O., Steiling, W. and Willshaw, A. (1994). First Results of the EC/COLIPA project on *in vitro* phototoxicity testing: first results obtained with the Balb/c 3T3 cell phototoxicity assay. *Toxicol. in Vitro* 8, 793-796.
- Spielmann, H., Balls, M., Pechovitch, G., Dupuis, J., De Silva, O., Pape, W. J. W., Holzhütter, H. G. (1997). Validation study of *in vitro* photoirritation tests in a joint EU/COLIPA project: preliminary report of the management team. In M. Balls and B. van Zutphen (eds.), *Developments in Animal and Veterinary Sciences: Proceedings of the 2nd World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences* (1135-1143). Amsterdam: Elsevier Science.
- Spielmann, H., Balls, M., Dupuis, J., Pape, W. J. W., Pechovitch, G., de Silva, O., Holzhütter, H. G., Clothier, R., Desolle, P., Gerberick, F., Liebsch, M., Lovell, W. W., Maurer, T., Pfannenbecker, U., Potthast, J. M., Csato, M., Sladowski, D., Steiling, W. and Brantom, P. (1998). The international EU/COLIPA *in vitro* phototoxicity validation study: results of phase II (blind trial), part 1: the 3T3 NRU phototoxicity test. *Toxicol. in Vitro*, in press.

Korrespondenzadresse

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

* Abkürzungsverzeichnis:

3T3 NRU PT: 3T3 Neutral Red Uptake Phototoxicity Test; ATC-Method: Acute Toxic Class Method; CAAT: Center for Alternatives to Animal Testing; COLIPA: The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association; DG XI: Directorate Général XI; ECVAM: European Centre for the Validation of Alternative Methods; ERGATT: European Research Group for Alternatives to Toxicity Testing; ESAC: ECVAM Scientific Advisory Committee; FDA: US Food and Drug Administration; FDP-Method: Fixed Dose Procedure; ICCVAM: Intergovernmental Coordinating Center for the Validation of Alternative Methods; IIVS: Institute of In Vitro Sciences; NTP: US National Toxicology Program; OECD: Organisation for Economic Co-Operation and Development; SAAT: Swiss Alternatives to Animal Testing; SCC: Scientific Committee on Cosmetology; TER: Trans-epidermal Resistance; UDP-Method: Up and Down Procedure; ZEBET: Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch