



ESAC-Stellungnahmen

(Der ESAC wurde von der Europäischen Kommission eingerichtet und setzt sich aus Vertretern der EU Mitgliedsstaaten, der Industrie, Wissenschaft, Tierschutzorganisationen und weiteren Dienstbereichen der Europäischen Kommission zusammen)

ECVAMs wissenschaftlicher Beirat (ESAC) hat während der letzten beiden Treffen mehreren Stellungnahmen zur Validität von *in vitro* Methoden zugestimmt. Diese werden in diesem und im nächsten *ALTEX* Heft zusammengefasst wiedergegeben. Die Originalstellungnahmen in englischer Sprache entnehmen Sie ECVAM News&Views in *ATLA*.

Stellungnahmen zu drei *in vitro* Methoden zur Prüfung der Embryotoxizität

Anmerkung zum Einsatz der wissenschaftlich validierten *in vitro* Methoden zur Prüfung der Embryotoxizität

Während seines 17. Treffens (16.-17. Oktober 2001) beurteilte ECVAMs wissenschaftlicher Beirat (ESAC) drei *in vitro* Methoden für die Prüfung der Embryo-toxizität als wissenschaftlich validiert. Somit sollten ihre Akzeptanz und Verwendung von den Behörden in Betracht gezogen werden.

Der ESAC bemerkte jedoch, dass diese Methoden zwar nicht als komplette Ersatzmethoden für die z.Zt. durchgeführten Tierversuche angesehen werden können, jedoch im Rahmen einer Prüfungsstrategie oder von Prüfungsstrategien erheblich zur Verminderung und/oder Verfeinerung der Tierversuche beitragen.

Der ESAC empfahl, einen ECVAM Workshop zu organisieren, um mit Experten, die über einschlägige und ergänzende Erfahrung verfügen, die Erarbeitung eines *Guidance Documents* zur Anwendbarkeit dieser drei Methoden zur Embryotoxizität im Rahmen der gesamten Prüfung der Reproduktionstoxizität zu diskutieren.

Gezeichnet: Michael Balls, *Head of Unit*; ECVAM; *Institute for Health & Consumer Protection*; *Joint Research Centre*; *European Commission*; Ispra, Italy; 3 June 2002.

Zusammenfassung der drei Stellungnahmen

Den drei Stellungnahmen wurde beim 17. Treffen des ESAC (16.-17. Oktober 2001, Ispra, Italien) einstimmig von den ESAC Mitgliedern zugestimmt. Michael Balls (*Head of Unit*; ECVAM) und Eva Hellsten (*Head of Unit E.2, Environmental Directorate General, European Commission*, Brussels, Belgium) unterzeichneten sie am 1. Mai 2002.

Folgende Mitglieder des ESAC waren beim 17. Treffen vom 16.-17. Oktober 2001 anwesend: Dr Bas Blaauboer (ERGATT); Dr Philip Botham (ECETOC); Professor José Castell (Spanien); Dr Bernward Garthoff (EFPIA); Professor André Guillouzo (Frankreich); Dr Coenraad Hendriksen (Niederlande); Dr Maggy Jennings (EUROGROUP for Animal Welfare); Professor Vera Rogiers (Belgien); Dr Odile de Silva (COLIPA); Professor Horst Spielmann (Deutschland); Professor Helmut Tritthart (Österreich); Dr Matti Viluksela (Finnland); Professor Erik Walum (Schweden); Mr Michael Balls (ECVAM - Chairman); Ms Susanna Louhimies (DG ENV); Ms Beatrice Lucaroni (DG RTD); Mr Lars Nørgaard (DG ENTR); Mr Juan Riego Sintes (ECB); Mr Enrico Sabbioni (ECVAM); Mr Andrew Worth (ECVAM-Sekretariat).

Stellungnahme zur wissenschaftlichen Validität eines *in vitro* Tests mit embryonalen Stammzellen (*embryonic stem cell test*; EST) zur Prüfung der Embryotoxizität

Bei der internationalen ECVAM Validierungsstudie von *in vitro* Methoden zur Prüfung der Embryotoxizität erwiesen sich die mit dem EST (Spielmann et al., 1997; Scholz et. al., 1998) im Blindversuch (Phase II; s.u.) erzielten Ergebnisse sowohl innerhalb eines Labors wie auch zwischen den vier beteiligten Labors als sehr gut reproduzierbar. Die Korrelation zwischen den *in vitro* und *in vivo* Daten war gut (Genauigkeit 78%), entsprechend den vorher definierten Performancekriterien. Es zeigte sich, dass der Test für die Prüfung von Chemikalien mit unterschiedlichem embryotoxischen Potential (nicht, schwach und stark embryotoxisch) einsetzbar ist. Für stark embryotoxische Chemikalien waren die Prädiktivität mit 100% als sehr gut und die Präzision mit 81% als gut einzustufen. Für nicht bzw. schwach embryotoxische Chemikalien erwiesen sich die Prädiktivität mit 72 bzw 70% und die Präzision mit 70% als ausreichend hoch ($\geq 65\%$).

Der ESAC stimmt deshalb der Schlussfolgerung der formalen Validierungsstudie zu, welche besagt, dass der EST ein wissenschaftlich validierter Test ist und für behördliche Zwecke in Betracht gezogen werden sollte.

Stellungnahme zur wissenschaftlichen Validität des *Micromass* (MM) Tests – ein *in vitro* Test zur Prüfung der Embryotoxizität

Bei der internationalen ECVAM Validierungsstudie von *in vitro* Methoden zur Prüfung der Embryotoxizität erwiesen sich die mit dem MM Test (Flint and Orton, 1983) im Blindversuch (Phase II; s.u.) erzielten Ergebnisse sowohl innerhalb eines Labors wie auch zwischen den vier beteiligten Labors als ausreichend reproduzierbar. Die Korrelation zwischen den *in vitro* und *in vivo* Daten war gut (Genauigkeit 70%), entsprechend den vorher definierten Performancekriterien. Es zeigte sich, dass der Test für die Prüfung von verschiedenen Chemikalien mit unterschiedlichem embryotoxischem Potential (nicht, schwach und stark embryotoxisch) einsetzbar ist. Für stark embryotoxische Chemikalien waren die Prädiktivität mit 100% als sehr gut und die Präzision mit 69% als ausreichend einzustufen. Für nicht embryotoxische Chemikalien erwiesen sich die Prädiktivität mit 57% und die Präzision für schwach embryotoxische Chemikalien mit 60% jedoch als nicht ausreichend (< 65%).

Der ESAC stimmt deshalb der Schlussfolgerung der formalen Validierungsstudie zu, welche besagt, dass der MM Test ein wissenschaftlich validierter Test ist, um stark embryotoxische Chemikalien zu identifizieren, und für behördliche Zwecke in Betracht gezogen werden sollte.

Stellungnahme zur wissenschaftlichen Validität des *Postimplantation Rat Whole-Embryo Culture* (WEC) Tests – ein *in vitro* Test zur Prüfung der Embryotoxizität

Bei der internationalen ECVAM Validierungsstudie von *in vitro* Methoden zur Prüfung der Embryotoxizität erwiesen sich die mit dem WEC Test (Brown & Fabro, 1981) im Blindversuch (Phase II; s.u.) erzielten Ergebnisse sowohl innerhalb eines Labors wie auch zwischen den vier beteiligten Labors als ausreichend reproduzierbar. Entsprechend den vorher definierten Performancekriterien, kann die Korrelation zwischen den *in vitro* und

in vivo Daten als gut (Genauigkeit 80%) bezeichnet werden, wenn die mit 3T3 Zellen erzielten Zytotoxizitätsergebnisse aus dem EST mit einbezogen werden (s.u. Prädiktionsmodell PM2). Es zeigte sich, dass der Test für die Prüfung von verschiedenen Chemikalien mit unterschiedlichem embryotoxischem Potential (nicht, schwach und stark embryotoxisch) einsetzbar ist. Für stark embryotoxische Chemikalien waren die Prädiktivität mit 100% als sehr gut und die Präzision mit 69% als ausreichend einzustufen. Für nicht embryotoxische Chemikalien erwiesen sich die Prädiktivität mit 70% und die Präzision für schwach embryotoxische Chemikalien mit 65% als ausreichend hoch (65%).

Der ESAC stimmt deshalb der Schlussfolgerung der formalen Validierungsstudie zu, welche besagt, dass der WEC Test ein wissenschaftlich validierter Test ist und für behördliche Zwecke in Betracht gezogen werden sollte.

Der ESAC wurde regelmässig über den Verlauf der Studie informiert, und die Zustimmung zu diesen Stellungnahmen basiert auf verschiedenen Dokumenten, insbesondere auf den Veröffentlichungen zur Prävalidierung und Entwicklung der Prädiktionsmodelle (Scholz et al., 1998; Scholz et al., 1999a und b; Genschow et al., 1999 und 2000) sowie auf dem Abschlussbericht der Validierungsstudie, in der unter Teilnahme mehrerer Labors und mit 20 kodierten Chemikalien die *Performance* der drei *in vitro* Methoden geprüft wurde (Genschow et al., 2002; Brown, 2002).

Die Validierungsstudie wurde entsprechend ECVAM's Grundlagen und Vorgaben zur Validierung (Balls et al, 1990; Balls et al., 1995; Curren et al., 1995) sowie den Kriterien und Richtlinien zur Validierung der OECD (OECD, 1996) und von ICCVAM (NIEHS, 1997) durchgeführt.

Allgemeine Informationen zur Validierungsstudie

A. Im Anschluss an die Ausschreibung vergab ECVAM im Dezember 1996 den Auftrag an ZEBET (BgVV, Deutschland), die Prävalidierung und Validierung von drei Embryotoxizitäts-

tests (EST, *Micromass* Test und WEC Test) zu planen und zu koordinieren. Phase I (1997) der Studie war als Prävalidierungsstudie angelegt, um die Testprotokolle zu optimieren und eine umfassende Datenbank mit *in vivo* und *in vitro* Daten von embryotoxischen Substanzen aufzubauen, die dann für die Prävalidierung und Validierung verwendet wurden. Die Phase II (1998-2000) umfasste eine formale Validierungsstudie, die unter Blindbedingungen mit 20 sorgfältig ausgewählten, kodierten und an die einzelnen Labors verschickten Chemikalien durchgeführt wurde. Die Ergebnisse wurden zur Auswertung an einen unabhängigen Statistiker geschickt. Die Auswertung der Ergebnisse und die Erstellung des Abschlussberichts wurde 1999 und 2000 durchgeführt. Der Abschlussbericht wurde am 10. März eingereicht und von ECVAM am 24. Mai 2000 akzeptiert.

B. Die Studie wurde von einem Management Team überwacht, welches Repräsentanten der ECVAM *Task Force „Developmental Toxicology“* umfasste und von Professor Horst Spielmann (ZEBET, BgVV) geleitet wurde. Folgende Labors nahmen an der Validierungsstudie teil:

EST: ZEBET (führendes Labor), ECVAM (Ispra, I), Novartis (Basel, CH) und Schering (Berlin, D).

MM Test: St. George's Hospital Medical School (SGHMS, University of London, UK, führendes Labor), National Institute of Public Health and the Environment (RIVM, Bilthoven, NL), KTL Finland (Kuopio, FIN) and Synthelabo Recherche (Gargenville, F).

WEC: National Institute of Public Health and the Environment (RIVM, Bilthoven, NL, führendes Labor) St. George's Hospital Medical School (SGHMS, University of London, UK), Novartis (Basel, CH) and Astra-Zeneca CTL (Macclesfield, UK).

C. Grundlagen der drei Embryotoxizitätstests:

EST

Beim EST werden zwei permanente Mauszelllinien eingesetzt, um die

Embryotoxizität von Chemikalien zu prüfen (Spielmann et al., 1997; Scholz et al., 1998; 1999a; 1999b; Genschow et al., 1999; 2000): 3T3 Fibroblasten und die embryonale Stammzelllinie D3. Die Hemmung der Differenzierung und des Wachstums werden mit den embryonalen Stammzellen bestimmt und mit der Hemmung des Wachstums der 3T3 Fibroblasten verglichen, die als Stellvertreter für adulte Zellen dienen. Drei Endpunkte (Spielmann et al., 1997; Scholz et al., 1998; 1999a; 1999b; Genschow et al., 1999; 2000) werden zur Klassifizierung des embryotoxischen Potentials von Chemikalien herangezogen: die 50%ige Hemmung des Wachstums der embryonalen Stammzellen ($IC_{50}D3$) und der 3T3 Fibroblasten ($IC_{50}3T3$) gegenüber den Kontrollen (Messung der Zytotoxizität im MTT Test), und die 50% Hemmung der Differenzierung der embryonalen Stammzellen in spontan kontrahierende Herzmuskelzellen.

Micromass (MM)

Beim MM Test werden nicht differenzierte Mesenchymzellaggregate aus den Extremitätenknospen von frühen Rattenembryonen in kleinen Volumina und bei hoher Dichte kultiviert. Es bilden sich zahlreiche kleine Herde mit differenzierenden Knorpelzellen innerhalb einer Masse von nicht differenzierten Zellen (Flint and Orton, 1983). Generell wird mit dem MM Test die Fähigkeit einer Chemikalie bestimmt, die Bildung dieser Knorpelzellherde zu hemmen. Zwei Endpunkte werden bestimmt (Flint and Orton, 1983): die Differenzierung der Zellen mit Hilfe der Alcain Blau Färbung zur Sichtbarmachung der Knorpelzellen und das Wachstum der MM Zellen mit der Neutralrotaufnahme (Scholz et al., 1998; Genschow et al., 1999, 2000, 2002). Nachdem die biostatistische Auswertung ergab, dass beide Endpunkte die gleiche Information liefern (Genschow et al., 2000), wurde in der Hauptphase der Validierungsstudie nur die 50% Hemmung (ID_{50}) der Differenzierung für die Bestimmung des embryoto-

toxischen Potential der Testchemikalien benutzt.

WEC Test

Für den WEC Test werden ganze Rattenembryonen *in vitro* kultiviert und einer Testchemikalie ausgesetzt. Nach einer Inkubation von 48 h werden mit Hilfe eines komplizierten Bewertungsschemas auftretende Missbildungen, Wachstumsverzögerungen oder der Tod des Embryo beurteilt (Brown and Fabro, 1981). Nachdem die biostatistische Auswertung während der Entwicklung des Prädiktionsmodell zeigte, dass das Bewertungsschema selbst in mit dem WEC Test vertrauten Labors nicht reproduzierbar war, wurden folgende Endpunkte für die Beurteilung des embryotoxischen Potentials der Testchemikalien angewandt (Genschow et al., 2000)

Prädiktionsmodell 1 (PM1):

- IC_{50} Missbildung (die Konzentration bei der 50% der Embryonen Missbildungen zeigen) und
- IC_{NOEC} TMS (die maximale Konzentration, die zu keinen morphologischen Defekten führt (*Total morphological score* = TMS)).

Prädiktionsmodell 2 (PM2):

- IC_{max} Missbildung (die niedrigste Konzentration bei der am meisten Missbildungen auftreten) und
- Der relative Abstand zwischen dem IC_{50} 3T3 (im Neutralrottest 50% Hemmung des Wachstums der 3T3 Zellen gegenüber der Kontrolle) und IC_{NOEC} TMS.

D. Prädiktionsmodelle der drei Embryotoxizitätstests:

EST und MM Test:

Das Prädiktionsmodell (PM) wurde mit den Substanzen der Prävalidierungsstudie entwickelt und mit sechs Testchemikalien aus der Vorphase zur Validierungsstudie überprüft (Spielmann et al., 1997; Scholz et al., 1998, 1999a, 1999b; Genschow et al., 1999; 2000). Danach wurde das PM benutzt, um mittels der *in vitro* Daten aus vier Labors das embryotoxische Potential der in der Hauptphase der Validierungsstudie einge-

setzten 14 Testchemikalien in die Klassen nicht, schwach, stark embryotoxisch einzuordnen (Genschow et al., 2002; Brown, 2002).

WEC Test

Zwei Prädiktionsmodelle (PM1 und PM2) wurden mit den sechs Testchemikalien aus der Vorphase zur Validierungsstudie entwickelt (Genschow et al., 2000). Da PM1 nur die Differenzierung und die Entwicklung der Embryonen berücksichtigt, jedoch nicht die Zytotoxizität, wurde ein 2. Prädiktionsmodell entwickelt, das die Zytotoxizitätsdaten (IC_{50} 3T3) aus dem für den EST durchgeführten Zytotoxizitätstest mit differenzierten Mäusefibroblastenzelllinien (3T3 Test) mit einbezieht. Danach wurden beide PM wie oben beschrieben für die Hauptphase der Validierung benutzt (Genschow et al., 2002; Brown, 2002).

E. Die mit den drei *in vitro* Tests erzielte Klassifizierung der Embryotoxizität wurde mit der *in vivo* Klassifizierung verglichen. Letztere wurde im Vorfeld von einer unabhängigen Stelle festgelegt (Brown, 2002). Tabelle 1 vergleicht die Kontingenzstatistik der drei Embryotoxizitätstests (Genschow et al., 2002).

F. Die folgenden Tabellen 2 und 3 zeigen den Aufbau der 3x3 Kontingenztafeln und die biostatistischen Performancekriterien:

Die Präzision für stark (bzw. schwach) embryotoxische Chemikalien definiert sich als der Anteil der im *in vitro* Test korrekt klassifizierten stark (bzw. schwach) embryotoxischen Chemikalien gegenüber den *in vivo* stark (schwach) embryotoxischen Chemikalien (Genschow et al., 1999). Die Präzision für nicht embryotoxische Chemikalien beschreibt den Anteil im Vergleich zu den *in vivo* nicht embryotoxischen Chemikalien. Die Prädiktivität für stark (schwach) embryotoxische Chemikalien drückt aus wie wahrscheinlich es ist, dass eine stark (schwach) embryotoxische Prädiktion im *in vitro* Test auch tatsächlich eine stark embryotoxische Chemikalie unter den vorgegebenen Anwendungsbedingungen korrekt identifiziert.



Tabelle 1: Kontingenzstatistik der drei *in vitro* Tests zur Beurteilung der Embryotoxizität

	EST	MM Test	WEC PM1	PM2
Prädiktivität für nicht embryotoxisch	72%	57%	56%	70%
Prädiktivität für schwach embryotoxisch	70%	71%	75%	76%
Prädiktivität für stark embryotoxisch	100%	100%	79%	100%
Präzision für nicht embryotoxisch	70%	80%	70%	80%
Präzision für schwach embryotoxisch	83%	60%	45%	65%
Präzision für stark embryotoxisch	81%	69%	94%	100%
Genauigkeit	78%	70%	68%	80%

Tabelle 2: 3x3 Kontingenztafel

<i>In vivo</i> Klassifizierung	Prädiktion		
	Klasse 1	Klasse 2	Klasse 3
Nicht embryotoxisch ¹	a	b	c
Schwach embryotoxisch ²	d	e	f
Stark embryotoxisch ³	g	h	i

¹Klasse 1; ²Klasse 2; ³Klasse 3
n = a+b+c+d+e+f+g+h+i

Tabelle 3: Statistik der 3x3 Kontingenztafel

Prädiktivität für nicht embryotoxische Chemikalien	$\left(\frac{a}{a+d+g}\right) \times 100$
Prädiktivität für schwach embryotoxische Chemikalien	$\left(\frac{e}{b+e+h}\right) \times 100$
Prädiktivität für stark embryotoxische Chemikalien	$\left(\frac{i}{c+f+i}\right) \times 100$
Präzision für nicht embryotoxische Chemikalien	$\left(\frac{a}{a+b+c}\right) \times 100$
Präzision für schwach embryotoxische Chemikalien	$\left(\frac{e}{d+e+f}\right) \times 100$
Präzision für stark embryotoxische Chemikalien	$\left(\frac{i}{g+h+i}\right) \times 100$
Genauigkeit	$\left(\frac{a}{a+b+c}\right) \times 100$

Tabelle 4: Beurteilungskriterien

	Performance (%)
zufällig	33
ausreichend	≥ 65
gut	≥ 75
sehr gut	≥ 85

Diese Bewertung berücksichtigt die den *in vivo* Daten anhaftende Variabilität (Genschow et al., 2002). Aus diesem Grund wurde ein Wert von 85% bei allen Performancekriterien (Genauigkeit, Prädiktivität, Präzision) als sehr gut eingestuft, während Werte unter 65% als nicht ausreichend betrachtet werden.

Somit zeigt die Prädiktivität für nicht embryotoxische Chemikalien an, inwieweit nicht embryotoxische Chemikalien auch als solche identifiziert werden. Die in 3x3 Kontingenztafeln für *in vitro* Toxikologie benutzten Definitionen (Prädiktivität, Präzision,) sind den Definitionen (Spezifität, Sensitivität) aus der 2x2 Kontingenztafel angepasst (Genschow et al., 2000)

G. Das Management Team (MT) dieser ECVAM Validierungsstudie verständigte sich auf folgende Kriterien zur Einstufung (Genschow et al., 2002). Da die Testchemikalien drei Embryotoxizitätsklassen zugeordnet sind (Genschow et al., 2000, 2002) kann davon ausgegangen werden, dass 33% der Chemikalien durch Zufall korrekt klassifiziert werden. Werden nur zwei Klassen für die Einstufung verwendet, kann *a priori* davon ausgegangen werden, dass mit 50% Wahrscheinlichkeit die korrekte Einstufung zufällig ist. Die folgende Tabelle 4 zeigt die vom MT festgesetzten Kriterien, um die *Performance* der einzelnen Tests zu beurteilen.

Literatur

Balls, M., Blaauboer, B., Brusik, D. et al. (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 et al. (1995). Practical aspects of the validation of toxicity test procedures. The report and recommendations ECVAM workshop 5. *ATLA* 23, 129-147

Brown, N. (2002). Selection of test chemicals for the ECVAM international validation study on *in vitro* embryotoxicity tests. *ATLA* 30, 177-198.

Brown, N. A. and Fabro, S. (1981). Quantitation of rat embryo development *in vitro*: a morphological scoring system. *Teratology* 24, 65-78.

Curren, R. D., Southee J. A., Spielmann, H. et al. (1995). The role of prevalidation in the development, validation and acceptance of alternative methods. The first report of the ECVAM task force

- on prevalidation. *ATLA* 23, 211-217.
- Flint, O. P. and Orton, T. C. (1983). An in vitro assay for teratogens with cultures of rat embryonic midbrain and limb cells. *Toxicology and Applied Pharmacology* 76, 383-395.
- Genschow, E., Scholz, G., Brown, N. A. et al. (1999). Die Entwicklung von Prädiktionsmodellen für drei in vitro Embryotoxizitätstests im Rahmen einer ECVAM Validierungsstudie. *ALTEX* 16, 73-83.
- Genschow, E., Scholz, G., Brown, N. A. et al. (2000). Development of prediction models for three in vitro embryotoxicity tests in an ECVAM Validation Study. *In Vitro and Molecular Toxicology* 13, 51-65.
- Genschow, G., Spielmann, H., Scholz et al. (2002). The ECVAM international validation study on in vitro embryotoxicity tests. Results of the definitive phase and evaluation of prediction models. *ATLA* 30, 151-176.
- NIEHS (1997). *Validation and Regulatory Acceptance of Toxicological Test Methods*. A Report of the Ad Hoc Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods, 105pp. Research Triangle Park, NC: NIEHS.
- OECD (1996). *Final Report of the OECD Workshop on Harmonisation of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods*, 60pp. Paris: OECD.
- Scholz, G., Pohl, I., Seiler, A. et al. (1998). Ergebnisse der ersten Phase des ECVAM-Projektes zur Prävalidierung und Validierung von drei in vitro Embryotoxizitätstests. *ALTEX* 15, 3-8.
- Scholz, G., Genschow, E., Pohl, I. et al. (1999). Prevalidation of the embryonic stem cell test (EST) – A new in vitro embryotoxicity test. *Toxicology in Vitro* 13, 675-681.
- Scholz, G., Pohl, I., Genschow, E. et al. (1999). Embryotoxicity screening using ES cells in vitro: correlation to in vivo teratogenicity. *Cells Tissues Organs* 165, 203-211.
- Spielmann, H., Pohl, I., Döring, B. et al. (1997). The embryonic stem cell test (EST), an in vitro embryotoxicity test using two permanent mouse cell lines: 3T3 fibroblasts and embryonic stem cells. *In Vitro Toxicology* 10, 119-127.

Personal

Dr. Raffaella Corvi ist seit dem 1. November 2001 bei ECVAM angestellt und wird auf dem Gebiet „Genomics and Proteomics“ und ihre Anwendbarkeit in der *in vitro* Toxikologie arbeiten.

Marlies Halder

E-mail: marlies.halder@jrc.it

Nachrichten

USA: Forscher unter strengerer Tierschutz-Aufsicht

Hochschulforscher in den USA sind es gewohnt, dass ihnen die Tierrechtler kritisch über die Schulter schauen, jetzt aber künden auch die Behörden strengere Aufsicht an. Ron Southwick berichtet in „*The Chronicle of Higher Education*“ vom 28. Juni 2002, dass nach Jahren einer relativ laxen Praxis, das *US-Dept. of Agriculture* (USDA), verantwortlich für die Umsetzung des Tierschutzgesetzes, seine Inspektionstätigkeit verstärkt. Seit dem Jahre 2000 kontrolliert es rund 30 Prozent mehr als zuvor. Selbst die *National Institutes of Health* (NIH), die wegen ihrer Untätigkeit lange die Zielscheibe von Tierschutz-Gruppen waren, zeigen nun mehr Interesse an

einer humanen Behandlung der Labor-tiere. Das USDA hat die *Johns Hopkins University* (Baltimore) und die *University of California* (San Francisco) im vergangenen Jahr wegen Mängeln kritisiert. Keine der beiden Universitäten wurde mit Bussen belegt. Hingegen haben die Behörden im Januar die *University of Connecticut* mit 129'000 Dollar gebüßt. Als erstes akademisches Institut musste die Universität zugeben, dass in ihren Mauern gegen das Tierschutzgesetz verstossen wurde. Die NIH untersuchen derzeit auch die Verhältnisse in den Tierlabors an der *University of North Carolina* (Chapel Hill) wegen möglicher Missbräuche. Ein

Tierrechtler hatte, als Laborangestellter getarnt, diverse Misshandlungen von Tieren aufgedeckt.

Aufgrund dieser Vorkommnisse an den verschiedenen Universitäten fordern die Anwälte der Tierrechtler nun eine strenge behördliche Aufsicht an allen Hochschulen.

Diese Bemühungen der staatlichen Instanzen kommen nicht zufällig gerade zum jetzigen Zeitpunkt, denn es ist bekannt, dass die Tierrechts-Aktivisten mit allen Mitteln nach Informationen bohren, um herauszubekommen, wie die Forscher mit den Tieren in den Experimenten umgehen. Eine Tierrechts-Gruppe hat gegen die NIH sogar Strafan-



zeige erhoben, weil sie Enthüllungen über ein Forschungsprojekt an der Veterinärmedizinischen Fakultät der *Ohio State University* zurückhielt. Der betroffene Wissenschaftler hat sein Projekt inzwischen aufgegeben, er sei frustriert, sagte er, über die Art der Proteste und über das Überwachungsregime.

Die strengen Aufsichtsmaßnahmen und der Ruf nach mehr Transparenz seitens der Tierschützer stossen bei den Lobbyisten der Biomediziner auf Ablehnung, denn für sie ist diese Situation völlig neu. Seit Bestehen des Tierschutzgesetzes, also seit nunmehr 36 Jahren, wurden allenfalls Züchter oder Zirkusleute wegen Übertretungen angeklagt. Die Forschungsinstitute hingegen liess man in Ruhe. Die NIH beispielsweise, erliess zwar Tierschutz-Richtlinien, aber sie führte keine unangemeldeten Kontrollen durch; sie kann bei Verstössen Forschungsgelder streichen, hat es aber kaum je getan.

Das USDA hat sich auch erst seit rela-

tiv kurzer Zeit zunehmend interessiert gezeigt, dass die behördlichen Standards durchgesetzt werden. Es hat mehr Fachleute eingestellt, um die Institute zu kontrollieren. Gegenwärtig beschäftigt es in diesem Bereich 99 Personen, im Jahr 2000 waren es erst 75. Sie müssen insgesamt 8700 Institute kontrollieren; die NIH ihrerseits verfügen über 9 Leute, um 1300 Forschungslabors zu beaufsichtigen.

Ungefähr 640 Institutionen werden in den USA von einer privaten Einrichtung, der „*Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care*“ zertifiziert. Ihre Labortier-Standards gelten allgemein als gut. Bei drei Vierteln werden kaum Ungereimtheiten geltend gemacht, bei den restlichen handelt es sich offenbar nur um unwesentliche Mängel, die leicht behoben werden können.

Die Forscher selber versichern, dass sie mit den Tieren wissenschaftlich korrekt umgehen und sie human behandeln. Laborinspektoren hingegen,

wie der Versuchstierkundler Richard C. Simmons (*University of Nevada*), machen wesentliche Defizite aus. Die meisten Wissenschaftler müssten den Wert ihrer Tierexperimente genauer analysieren, rügt er, und sich viel gründlicher überlegen, ob es wirklich keine versuchstierfreien Alternativen gäbe.

Die gerüffelten Universitäten haben bereits reagiert und Massnahmen ergriffen, um die Situation zu verbessern. Das Personal wird nun besser geschult, die inner-universitären Kontrollen verstärkt, in einem Fall sind auch bauliche Erweiterungen der Tiertrakts geplant. Andernorts denkt man an die Anstellung eines hauseigenen Tierschutzbeauftragten.

Doch die Tierrechtler sind mit dem Erreichten noch nicht zufrieden, sie wollen vor allem mehr Transparenz und setzen Behörden und Institutionen mit der Forderung nach grösstmöglicher Offenheit unter Druck. Alle Protokolle über Tierversuche sollen offengelegt werden, verlangen sie.

sg

USA: Charles River bringt *In Vitro* Pyrogentest (IPT) auf den Markt

Die *Charles River Laboratories* haben eine alternative *in vitro* Methode zum Pyrogen Test am Kaninchen auf den Markt gebracht. Er basiert auf dem erstmals in *ALTEX 12* (1995) von Hartung und Wendel publizierten Artikel: „Die Erfassung von Pyrogenen in einem humanen Vollblutmodell“.

Mit dem *In Vitro* Pyrogen Test (Endo-safe®-IPT) können Arzneimittel und Plasmaprodukte wirksam auf gram-negative und -positive Organismen und andere biologische Pyrogene geprüft werden. Im Gegensatz zum herkömmlichen Pyrogen-Test, welcher sich auf Tiermodelle stützt, vermag der IPT die menschliche Reaktion auf Pyrogene auf der viel relevanteren Basis des menschlichen Fiebers als auf Tierversuchsbasis vorherzusagen.

Beim IPT, einem ELISA-Test, wird frisches oder kryokonserviertes mensch-

Vergleich des Kaninchen-Tests mit dem Limulus-Test (LAL) und dem IPT (*In Vitro* Pyrogen Test)

		Kaninchen-Test	LAL	IPT
	Testprinzip	Fieber-Reaktion im Säugetier	Abwehrsystem eines Arthropoden	Fieber-Reaktion des Menschen
zu findende Pyrogene	Gram-negative	+	+	+
	Gram-positive	+	-	+
	Pilze	+	-	+
	Viren	+/-*	-	+
Anwendungsbereiche	Pharmazeutika+	+	+	
	Biologika	+	+/-**	+
	Medizinprodukte	+***	+/-***	+
	Zelltherapie	-	+/-	+
	Luftverschmutzung	+***	+/-***	+

* unterschiedliche Pyrogenreaktionen

** der Kaninchen-Test ist oft noch erforderlich

*** kann indirekt getestet werden, indem die Medizinprodukte oder Filter mit pyrogenfreiem Wasser oder pyrogenfreier Kochsalzlösung extrahiert werden

liches Vollblut eingesetzt. Die Immunzellen im Blut sind in der Lage, exogene Pyrogene zu erkennen und als Antwort Fieber induzierende Signalmoleküle freizusetzen, welche anschliessend gemessen werden können.

Der Kaninchen Pyrogen Test ist einigen Einschränkungen unterworfen. Dies schliesst Arten-Abweichungen mit einem Faktor von bis zu 10.000 sowie

das Fehlen von standardisierten Kontrollen ein. Im Vergleich zum IPT können mit dem Kaninchen Pyrogen Test gewisse Arzneimittel wie Zytokine, Antibiotika, einige Beruhigungsmittel/schmerzlindernde Mittel, Plasmaproteine und radiopharmazeutische Produkte nicht getestet werden. Er ist zudem nicht immer in der Lage, menschliche Pyrogene zu identifizieren.

In Europa haben sich akademische, industrielle und Regierungspartner zusammengeschlossen, um den Nutzen des IPT Tests als Alternativmethode zum Kaninchen Pyrogen Test zu untersuchen.

Die Tabelle (links) verdeutlicht die Überlegenheit der neuen Testmethode gegenüber dem Tierversuch und dem Limulus-Amöbozyten-Lysat-Test (LAL).

SUS

EU/USA: InterNICHE vergibt *Humane Education Award 2002* (Teil I)

InterNICHE (*International Network for Humane Education*) gibt die erfolgreichen Bewerber und Bewerberinnen des *Humane Education Award* (Teil I) bekannt.

Diese Auszeichnung wird, unterstützt durch die holländische Tierschutzorganisation *Proefdiervrij*, von InterNICHE an Ausbilder sowie allgemein an Personen aus Südost-Europa vergeben. Mit 20.000 Euro, aufgeteilt in den *Humane Education Award* Teil I und II, werden Projekte unterstützt, welche zu einer Verbesserung der Studenten-Ausbildung beitragen und zu einem Ersatz von belastenden Tierversuchen führen. Weitere Informationen zum *Humane Education Award* können im Internet unter <http://www.interniche.org/news.html> eingeholt werden.

Drei Bewerbungen wurden von der InterNICHE als finanzierungswürdig angesehen. Die Bewerber und Bewerberinnen sowie deren Projekte werden im Folgenden vorgestellt:

1. Der Physiologielehrer Dr. Gabriel Cotor (*University of Agronomy and*

Veterinary Medicine, Bucuresti, Romania) hat sich mit sieben anderen Ausbildern sowie mit Studenten zusammengeschlossen, um eine kostenlose Veterinärphysiologische CD-Rom in rumänischer Sprache herauszugeben. Ab Oktober 2002 können dadurch pro Jahr mehr als 1000 Frösche, Ratten, Mäuse und Kaninchen verschont werden. Für diese Ersatzmethode soll auch an anderen Fakultäten in Rumänien sowie mittels einer englischen Version im Ausland geworben werden.

2. Um verschiedene invasive Tierversuche, in welchen zur Zeit pro Jahr über 60 Ratten und Mäuse eingesetzt werden, zu ersetzen, will die Studentengruppe ORCA (*University of Belgrade, Faculty of Veterinary Medicine, Serbia*) mehrere *Sheffield BioScience* CD-Rom's erwerben. Dr. Milanka Jezdimirovic (*Department of Pharmacology and Toxicology*) unterstützt den Ersatz aller *in vivo* Experimente durch Alternativmethoden vollumfänglich.

3. Die Studentengruppe NeViDis soll in ihrer Arbeit mit Ausbildern dahingehend unterstützt werden, eine mehrsprachige CD-Rom zu entwickeln, auf welcher die drei Vivisektionen, welche an der Biologischen Fakultät der Universität Belgrad durchgeführt werden, festgehalten werden sollen. Die erwähnten Versuche sind für die Tiere besonders belastend. Die kostenlose CD-Rom, die in serbischer, kroatischer und englischer Sprache produziert werden soll, wird den Studenten ermöglichen, anstatt des Tierversuchs die Alternativmethode zu wählen, was unmittelbar zu einer Reduzierung der Anzahl Tierversuche führen wird.

InterNICHE ist überzeugt davon, dass diese Projekte aktiv dazu beitragen werden, belastende Tierversuche zu ersetzen. Bewerbungen für den *Humane Education Award* Teil II können bis am 10. September 2002 eingereicht werden.

InterNICHE

CH: Tierversuchsstatistik 2001 – keine Versuchstiere für Kosmetika

Gemäss Pressemitteilung des BVET (Bundesamt für Veterinärwesen) wurden im vergangenen Jahr 446'654 Versuchstiere verwendet – das sind 5,6% resp. 23'527 Tiere mehr als im Vorjahr. Hauptursache für die Zunahme sind die gen-

technisch veränderten Tiere (61'000 Tiere, + 3% gegenüber 2000). Es werden aber auch laufend neue Zuchtlinien hergestellt oder importiert. In den Jahren 1997 bis 2001 wurden in der Schweiz knapp 3000 verschiedene gentechnisch

veränderte Mauslinien gehalten sowie einzelne Ratten-, Kaninchen- und Fischlinien, davon gelten 1% der Linien als schwer belastend. Diese züchterischen Massnahmen sind weder melde- noch bewilligungspflichtig. Mangels gesetzli-

cher Bestimmungen hat sich die Praxis etabliert, dass die kantonale Behörde sofort beizuziehen ist, wenn in einem Betrieb eine belastete Linie hergestellt wurde. Dieser gesetzlose Zustand dürfte sich im Zusammenhang mit der Gen-Lex-Vorlage ändern: dann ist neu eine Bewilligungspflicht vorgesehen.

Als positiv wird gemeldet, dass die Belastung der Versuchstiere gesunken ist: Schweren Belastungen ausgesetzt waren 4,6% resp. 21'019 Tiere (2000: 5,3%), darunter 62 Primaten, 62 Hunde, 67 Kaninchen und 49 Schweine inkl. Minipigs. Die schwerbelastenden Versuche dienten grösstenteils der Qualitäts-

sicherung biologischer Produkte (v.a. Impfstoffe) sowie der Entwicklung und Prüfung neuer Medikamente.

Für Kosmetika wurden auch 2001 keine Tiere gebraucht. Rund drei Viertel der Versuchstiere wurden in der Industrie eingesetzt, ein Viertel an Hochschulen und Spitälern. Wie immer stellten Labornagetiere – Mäuse, Ratten, Hamster oder Meerschweinchen – den grössten Prozentsatz an Versuchstieren, nämlich 90%. Daneben wurden Fische, Kaninchen, verschiedene Haustierarten, Affen, Geflügel und Amphibien verwendet.

Von den 2246 gültigen kantonalen Tierversuchsbewilligungen wurden 7 Ge-

suche abgelehnt, bei 10 Bewilligungen forderte das BVET weitere Präzisionen oder beanstandete Teile der Versuche. Gegen verschiedene Personen wurden Strafverfahren eingeleitet, weil sie ohne ausreichende Bewilligung Tierversuche durchgeführt hatten.

Das Töten von Tieren zur Organ- oder Gewebeentnahme ist nicht bewilligungspflichtig, weil nicht belastend. Auch für Fütterungsuntersuchungen bei grossen Geflügelherden braucht es keine Bewilligung. Für diese beiden Gruppen wurden insgesamt 128'500 Tiere eingesetzt.

hg

D: Fischei-Test in der Abwasserabgabenverordnung verankert

Nach jahrelangem Ringen um eine Ersatzmethode für den Fischtest, welcher sowohl im Abwasserabgabengesetz* als auch in der Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer** vorgeschrieben ist, konnte nun ein bedeutender Durchbruch erzielt werden.

Gemäss Angaben des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (BMVEL) konnte der Ersatz des Fischtests durch den Fischei-Test (wir berichteten in *ALTEX* 19, 1/02) nunmehr in der Abwasserverordnung verankert werden. Nachdem der Bundesrat dem Verordnungsentwurf am

21. Juni 2002 zugestimmt hat, kann damit gerechnet werden, dass in Kürze die Veröffentlichung der Fünften Verordnung zur Änderung der Abwasserverordnung erfolgen wird. Danach gilt ein in der wasserrechtlichen Zulassung festgesetzter Wert für die Fischgiftigkeit nach dem Fischtest auch dann als eingehalten (neben dem herkömmlichen Fischtest), wenn ein nach dem Fischei-Test festgelegter Wert nicht überschritten wird. Beide Verfahren werden also offensichtlich als gleichwertig nebeneinandergestellt.

Ins Abwasserabgabengesetz hat der Fischei-Test noch keinen Eingang gefun-

den, doch sei die Bundesregierung bestrebt, bei Überarbeitungen weiterer Rechtsvorschriften auch dort entsprechende Regelungen vorzusehen, heisst es in einem Schreiben des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft vom 25.6.2002.

sus

* Abwasserabgabengesetz (AbwAG) der Bundesrepublik Deutschland in der Fassung der Bekanntmachung vom 3. November 1994 (BGBl. I S. 3371)

** Abwasserverordnung – AbwV, BGBl. I S. 86 v. 9. Februar 1999 zu § 7a des Wasserhaushaltsgesetzes (WHG, BGBl. I S. 1696, 12. November 1996)

D: ALTEX-Preis 2001 geht nach Saarbrücken

Der Stiftungsrat des Fonds für versuchstierfreie Forschung (FFVFF, Zürich), Herausgeber von *ALTEX*, hat beschlossen, den *ALTEX*-Preis 2001 an Christiane Gindorf zu verleihen.

Das Manuskript „Markertransport über biologische Barrieren *in vitro*: Vergleich von Zellkulturmodellen für die Dünndarmschleimhaut, die Blut-Hirn-Schranke und das Alveolarepithel der Lunge“ von Christiane Gindorf*, Anne Steimer*,

Claus-Michael Lehr**, Udo Bock*, Stefan Schmitz* und Eleonore Haltner* (*Across Barriers GmbH, D-Saarbrücken, **Institut für Biopharmazie und pharmazeutische Technologie der Universität des Saarlandes, D-Saarbrücken) erschien in *ALTEX* 18, 3, 155-164.

Mit dem *ALTEX*-Preis wird jährlich ein Manuskript ausgezeichnet, das ein besonders 3R-relevantes Thema anschaulich und auch für einen Nicht-

Spezialisten verständlich darstellt. Mit dem Preis (CHF 2'000,-) verbunden sind eine Einladung zur nächsten Tagung über Alternativmethoden in Linz (2003) sowie eine dreijährige Mitgliedschaft bei der MEGAT, der mitteleuropäischen Gesellschaft für Alternativmethoden zu Tierversuchen.

Die Zürcher *ALTEX*-Redaktion gratuliert Frau Gindorf und ihren Koautorinnen und Koautoren aufs Herzlichste.

fpg

D: Nationaler Workshop: Der Hund als zweite Spezies für die Sicherheitsprüfung bei der Zulassung von Pflanzenschutzmitteln

BgVV, Berlin, 12.6.2002

Über einige Jahre hinweg finanzierte die Mainzer Stiftung SET eine Literaturstudie beim BgVV, die zum Ziel hatte, die Rolle des Hundes in der Sicherheitsprüfung für Pflanzenschutzmittel zu hinterfragen. Zwei Publikationen gingen aus dieser Studie bisher hervor: Gerbracht, U. and Spielmann, H. (1998). The use of dogs as second species in regulatory testing of pesticides. I. Interspecies comparison. *Arch. Toxicol.* 72, 319-329 und Spielmann, H. and Gerbracht, U. (2001). The use of dogs as second species in regulatory testing of pesticides. II. Subacute, subchronic and chronic studies in the dog. *Arch. Toxicol.* 75, 1-21.

An einem Workshop, der das weitere Vorgehen mit den Ergebnissen dieser Studie klären sollte, nahmen Vertreter der Stiftung SET (Adalbert Schlitt, Brigitte Rusche, Bernward Garthoff, Gisbert Spöner, Franz P. Gruber und Horst Spielmann), vom Industrieverband Agrar (VA) (Katja Hempel, Karl-Heinz Leist, Bernhard Stahl), vom Deutschen Tierschutzbund (Ursula Sauer), vom BgVV, FB 7, Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel (Wolfgang

Lingk) und vom ZEBET im BgVV (Andrea Seiler) teil.

Aus der Sicht der zulassenden Behörde kann heutzutage auf den 2. Langzeitversuch am Hund in der Routinetoxikologie bei Pflanzenschutzmitteln verzichtet werden. Althergebrachte Versuche, die keine zusätzlichen Informationen bringen, müssten abgeschafft werden, so lautete die klare Aussage der Behörde.

Auch aus der Industrie kam die Aussage, dass 12 Monate Langzeitstudien gegenüber den 13 Wochenstudien keine signifikanten Verbesserungen in der Risikoabschätzung von Agrochemikalien ergeben. Diese Ergebnisse sollten jedoch weltweit zu einer Veränderung der Zulassungspraxis führen, nicht nur in Europa. Die Studie soll beim Weltkongress für Alternativmethoden im August 2002 in New Orleans vorgestellt und dort vor allem mit Vertretern amerikanischer und japanischer Zulassungsbehörden diskutiert werden.

Aus der Sicht des Tierschutzes wurde es als erfreulich angesehen, dass bestimmte Testmethoden, die nachweislich keine zusätzlichen Informationen liefern, ersatzlos gestrichen werden. Mit derartigen Maß-

nahmen würde aber nur an einem ohnehin unvollkommenen System „herumgebastelt“. Die eigentliche anzustrebende Lösung müsse sein, ein völlig neues Prüfverfahren zu entwickeln. Die Pflanzenschutzverordnung müsse so umgearbeitet werden, dass auf den Hund ganz verzichtet werden könne. Die Mindestforderung müsse sein, dass der Hund nur noch in 13 Wochenstudien verwendet werden dürfe. In einem dritten Teil der Studie müssten Human-Daten zur systemischen Kurzzeit- und Langzeit-Toxizität von Pflanzenschutzmitteln zusammengetragen und mit bereits erfassten Tierversuchsdaten verglichen werden.

Die Teilnehmer/innen des Workshops beschließen einstimmig, die Ergebnisse der Studie nicht nur international in New Orleans zu diskutieren, sondern auch national einen weiteren Vorstoß vorzubereiten: Das Bundesministerium für Umwelt soll aufgefordert werden, in einer Expertensitzung die Ergebnisse der Studie diskutieren zu lassen, mit dem Ziel, bei der OECD eine Änderung der OECD-Richtlinien 452 (*chronic toxicity studies*) und 453 (*combined chronic toxicity/carcinogenicity studies*) zu erwirken.

fpg

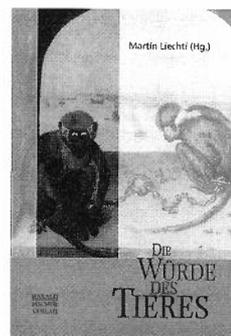
D/CH: Neu erschienen: Die Würde des Tieres

Eine Besprechung dieses Tagungsbandes wird im Literaturbericht von G. M. Teutsch in *ALTEX 4/2002* erfolgen. Hier geben wir den Begleittext des Verlags wieder:

Werden Menschen auf die Würde des Tieres angesprochen, so ist immer wieder festzustellen: Jede Einsicht wird sofort in ein gefühlsmäßiges Erleben projiziert, Denken und Fühlen sind hier eins.

Tiere sind emotionsbesetzte Objekte, aber einen einwandfrei definierten Würdebegriff gibt es für sie nicht, und so ist es auch Ausdruck der emotionalen Beteiligung, dass heftig umstritten ist, was im Umgang mit ihnen erlaubt und was verboten ist.

Das Symposium „Die Würde des Tieres“, das im März 2001 an der Uni-



Martin Liechti (Hrsg.), aus der Reihe Tierrechte – Menschenrechte; Bd. 7, kt., 400 Seiten, Harald Fischer Verlag, ISBN 3-89131-406-X, € 27,- / CHF 47,50

versität Basel stattfand und aus dem der vorliegende Band hervorging, widmete sich seinem Thema von einem interdisziplinären Ansatz aus. Neben Beiträgen, die von einer philosophischen, anthropologischen oder psychologischen Perspektive ausgehen, stehen Beiträge, die sich rechtlichen und gesetzgeberischen Aspekten der Behandlung von Tieren widmen, die ganz praxisbezogenen Fragen wie Tierversuche, Nutztierhaltung, Tierhaltung in Zoologischen Gärten, den Umgang mit Pferden oder Wildtieren – etwa bei der Walbeobachtung – oder auch den Einsatz von Tieren in der Werbung thematisieren.

Dabei erweist sich immer wieder: So klar bei der Behandlung konkreter Fall-

beispiele die Überzeugungen der Menschen sind, die in einer dem Alltagsverständnis gemäßen Achtung vor der Würde des Tieres ihren Niederschlag finden, so anspruchsvoll erweist sich die Aufgabe, die Tierwürde philosophisch zu begründen.

Zur Klärung des Begriffs der Tierwürde wollen die insgesamt 25 Beiträge dieses Bandes auf verschiedenen Argumentationsebenen und aus verschiedenen Handlungs- und Forschungszusammenhängen heraus einen Beitrag leisten.

Die Autorinnen und Autoren: Andrea Arz de Falco, Heike Baranzke, Andreas Brenner, Noëlle Delaquis, Ulrike Fiebrandt, Antoine F. Goetschel, Franz-Paul Gruber, Peter Krepper, Martin

Liechti, Sigrid Lüber, Erhard Olbrich, Pat Parelli, Francine Patterson, Georg Pfeleiderer, Klaus Peter Rippe, Alex Rübel, Horst Rumpf, Alexandra Schedel-Stupperich, Marianne Sommer, Andreas Steiger, Martin Walther, Steven Wise, Jean-Claude Wolf, Marlene Zähler, Jakob Zinsstag, Hansjörg Zürcher / Jürg Brechbühl.

Zu bestellen bei:
HARALD FISCHER VERLAG GmbH
 Postfach 1565
 D-91005 Erlangen
 Tel. +49-9131-205620
 Fax +49-9131-206028
 Email: info@haraldfisherverlag.de
 www.haraldfisherverlag.de

Ankündigung

D: Konzepte zum Tierschutzunterricht an Schulen

Workshop der Erna-Graff-Stiftung für Tierschutz und der ZEBET, BgVV, am 24. Oktober 2002

Leitung:

Dr. Barbara Grune
 Mitglied des Vorstandes der Erna-Graff-Stiftung, Mitarbeiterin der ZEBET

Koordination:

Dr. Jörg Luy
 Erna-Graff-Stiftung für Tierschutz
 Sieglindestraße 4, D-12159 Berlin
 Tel. +49-30-852-4953 Fax: -9743
 Erna-Graff-Stiftung@t-online.de

Veranstaltungsort:

Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch (ZEBET) im Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV)
 Diedersdorfer Weg 1
 D-12277 Berlin-Marienfelde

Themen

- Der gesellschaftliche Nutzen des Tierschutz-Unterrichts
- Die Finanzierung von Tierschutz-Unterricht

- Die ausdrückliche Aufnahme von Tierschutzstunden in die Lehrpläne und Lehrbücher
- Die Vielfalt weltanschaulicher Ausgangspositionen

Tierschutz-Unterrichtskonzepte

- Tierbefreier Österreichs
- Bundestierärztekammer Österreichs
- Schweizer Tierschutz, STS
- Das Tier und Wir / Schweiz
- People for the Ethical Treatment of Animals, PETA-Deutschland
- in-script
- Hessische Tierschutzbeauftragte
- Verein gegen tierquälerische Massentierhaltung, VgtM
- Bund gegen Missbrauch der Tiere, BMT

Vormittagsprogramm

9:00-11:00 Uhr
 Kurzvorstellung der verschiedenen Unterrichtskonzepte
 11:00-13:00 Uhr
 Diskussion der oben genannten Themen in Arbeitsgruppen

13:00-14:00 Uhr Mittag
 14:00-15:00 Uhr
 Vorstellung Arbeitsgruppenergebnisse und Verabschiedung einer Empfehlung
 15:00-15:30 Uhr Kaffeepause

Nachmittagsprogramm

15:30-16:30 Uhr
 2 Vorträge zur Idee und zum gesellschaftlichen Nutzen des Tierschutzunterrichts
 16:30-16:45 Uhr
 Präsentation der Vormittagsergebnisse gegenüber politischen Entscheidungsträgern und anderen Gästen
 im Anschluss:
 Präsentation von deutschsprachigem Tierschutzunterrichtsmaterial aus Deutschland, Österreich und der Schweiz v.a. für interessierte Pädagogen

Kurzvorträge (Vormittagsprogramm)

Dr. Erik Schmid:
 „Vethics – Veterinärmedizin und Ethik.“
 Das Tierschutzunterrichtskonzept der Bundeskammer der Tierärzte Österreichs.

Deborah Millett:

„Krax.ch – das Schulprojekt des Schweizer Tierschutz STS.“

Ernst Ulich:

„Der Tierschutzunterricht des VgtM – Erfahrungen aus 200 Unterrichtsstunden.“

Erica Kalika Blöchlinger:

„Eine Ethik des Mitgeföhls – das Tierschutzunterrichtskonzept von Das Tier und Wir.“

PETA: (Anfrage)

Hess. Tierschutzbeauftragte: (Anfrage)

Klett Verlag: (Anfrage)

N.N. (BMVEL bzw. in-script): (Anfrage)

Vorträge (Nachmittagsprogramm)

Charlotte Probst:

„Tierethik im Unterricht.“

N.N.

Ziele (Vormittagsprogramm)

- Erfahrungsaustausch zwischen laufenden Projekten in Österreich, Deutschland und der Schweiz
- Diskussion der Fragen staatlicher Einbeziehung und zukunftsfähiger Konzepte zum Tierschutzunterricht
- gemeinsame Abschlusserklärung, Publikation in *ALTEX*

Ziele (Nachmittagsprogramm)

- Präsentation der Vormittagsresultate gegenüber politischen Entscheidungsträgern und anderen Gästen
- Präsentation von deutschsprachigem Tierschutzunterrichtsmaterial

Teilnahme

Anmeldung erforderlich, kostenfrei, keine Tagungsgebühr o.ä.

Teilnehmer

Anbieter von Tierschutz-Unterricht(smaterial) und Tierschutz-interessierte Lehrer, alle Interessierten.

F: Reconstituted Human Epidermis and Corneal Epithelium as Alternative Methods to Animal Testing

1st International workshop on the use of human epidermal and epithelial tissue models reconstituted *in vitro* in chemically defined medium for toxicology and pharmacology and 10th Anniversary of SkinEthic Laboratories. Grand Aston Hotel, F-Nizza, October 25, 2002.

Scientific Program:

09:00 *Bart De Wever:*

Introduction: general overview of the workshop.

09:15 *Louis-Christian Clauss:*

Definition of the requirements for skin culture as a tool in pharmaceutical and healthcare development.

09:45 *Olivier Doucet :*

In vitro reconstituted human epidermis (REP) and epithelia (REC) for cosmetic safety and efficacy screening.

10:15 *Stuart Freeman:*

The application of the SkinEthic *in vitro* reconstituted human epidermis model in topical drug development.

11:15 *Pascal Courtellemont:*

The use of *in vitro* reconstituted

Human Corneal Epithelium

(HCE) in ocular risk assessment.

11:45 *Klausrudolf Schröder:*

The use of reconstructed epithelial models for the identification of irritating and protecting compounds.

13:45 *Frank Straube:*

Toxicological applications for *in vitro* reconstituted human skin models.

14:15 *Nathalie Alépée:*

Determination of the irritation potential of formulations using *in vitro* human epidermis: correlation of *in vivo* with *in vitro*.

14:45 *Freddy van Goethem:*

Pre-validation of a new *in vitro* human cornea model as alternative to the *in vivo* rabbit eye Draize test.

16:00 *Alain Coquette:*

In vitro reconstituted human epidermis: an alternative to predict *in vivo* skin absorption, metabolism and toxicological effects of chemicals.

16:30 Workshop Closing Remarks & Round Table Discussion.

17:30 10 Years SkinEthic Laboratories: Reception and Cocktails.

Workshop Address:

‘...Ideally located in the centre of Nice, facing the “Place Masséna” gardens with its fountains and close to the old city and casino, the Grand Hotel Aston Golden Tulip is the ideal place to combine leisure (beaches at 5 minutes) with business activities...’

Grand Aston Hotel

12, avenue Felix Faure

F-06000 Nice

Phone: +33-492-17 53 00

Fax: +33-492-80 40 01

Website: www.hotel-aston.com

Workshop Secretariat:

Myriam Prou, Marketing Assistant,

SkinEthic Laboratories

45, rue St. Philippe

F-06000 Nice

Phone: +33-493-97 77 27

Fax: +33-493-97 77 28

E-Mail: myrprou@skinethic.com

Website: www.skinethic.com

Meinungen und Kommentare

Susi Goll:

Tierschutz im Krebsgang. Zur schweizerischen Tierversuchsstatistik 2001

Was bereits der aktuelle Entwurf für ein neues Schweizer Tierschutzgesetz gezeigt hat, was sich an der Tierversuchsstatistik der vergangenen zwei Jahre als Tendenz ablesen liess, ist nun offenbar geworden: Tierschutz ist kein politisches Thema mehr, nicht einmal mehr ein papierenes.

Erstmals seit 1983 haben die Tierversuche im vergangenen Jahr wieder zugenommen und zwar um 5,6 Prozent gegenüber dem Vorjahr. Ob es sich dabei um eine Trendwende handle, wie sie in anderen europäischen Ländern (BRD, UK) bereits seit einigen Jahren zu beobachten ist, lasse sich (noch) nicht beurteilen, meint das Bundesamt für Veterinärwesen (BVET) in seinem Kommentar vorsichtig.

Jedenfalls befinden wir uns – und das schon seit längerer Zeit – in einer Phase der Stagnation. Liest man sich aus aktuellen Anlass wieder durch die Statistiken und Kommentare der letzten Jahre, so zeigt sich, dass die gravierendsten tierschützerischen Probleme dieselben geblieben sind, zum Beispiel:

- Es gibt kaum Anzeichen dafür, dass gesamthaft mehr Anstrengungen unternommen werden, die schweren Belastungen zu reduzieren; 2001 waren 4,6 Prozent der Tiere davon betroffen, 2000 5,3 Prozent, 1999 ebenfalls 5,3 Prozent. Allerdings üben einzelne Kantone auf diesem Gebiet Vorbildfunktion aus, aber der Wirkungsradius bleibt offenbar beschränkt.
- Ein Rückgang der Primatenversuche fand 2001 nicht statt. Es wurden in etwa gleich viel Tiere eingesetzt wie in den Vorjahren; 12,1 Prozent der Äffchen erlitten sogar schwere Belastungen – mehr als 2001 (11%).

- Primaten werden nach wie vor zu Versuchszwecken importiert, wenn auch nur aus anerkannten Zuchtbetrieben, wie versichert wird. Alle wurden somit in Gefangenschaft geboren. Und ihre Mütter, muss man fragen? Wohl kaum.
- Bei den gentechnisch veränderten Tieren wird weiterhin ein starker Anstieg beobachtet, nämlich um 61'000 Tiere oder 3,1 Prozent mehr. Im übrigen gilt immer noch, „dass die Zahl der durch Vermehrung bestehender gentechnisch veränderter Linien gezüchteten Tiere, weiterhin unberücksichtigt bleibt“. Das soll sich erst mit der Gen-Lex ändern, die „voraussichtlich Ende 2002 vom Parlament verabschiedet wird“.

Die schwarze Liste drückender Probleme liesse sich weiterschreiben.

Es hat sich, so muss man leider folgern, an der Einstellung der Wissenschaftler zum Tierversuch in Forschung und Industrie, trotz der heftigen öffentlichen Debatten, nur wenig verändert. Eine ethische Motivation, den Tierversuch zu reduzieren oder ganz auf Tiere zu verzichten, kennen offenbar nur ganz wenige. In der Arzneimittelforschung und in der Toxikologie werden Umstellungswillige durch den engen Handlungsspielraum auch noch entmutigt.

Eine nachhaltige Änderung kann nur durch die Anerkennung und Einführung neuer Alternativmethoden eingeleitet werden. Wie steht es somit um die Verwendung anerkannter Alternativen in der Schweiz? Eine kurze Umfrage bei Behörden und Firmen lässt hoffen. Man hat offenbar teilweise die neuesten Entwicklungen stets im Auge und wendet anerkannte Alternativen an. Nach Auskunft des BVET ist der LD₅₀ Test gemäss

OECD Richtlinie 401 im vergangenen Jahr noch durchgeführt worden. Ab November 2001 ist diese Richtlinie ungültig, der Versuch damit im Prinzip nicht mehr genehmigungsfähig. Ausnahmen werden allerdings gemacht, wenn aus einem Zielland (z.B. Indien) eine Anforderung vorliegt und der Test bei einer Versuchsverweigerung in diesem Zielland unter tierschutzwidrigen Umständen durchgeführt würde. In den Kantonen ist die Praxis sehr unterschiedlich. Im Kanton Basel Stadt ist man relativ streng. Gesuche zur Durchführung von Tierversuchen in den Bereichen Phototoxizitäts- und Hautreizungsprüfungen sowie für den LD₅₀ Test nach der OECD Prüfrichtlinie 401 würden zurückgewiesen, so die Bewilligungskommission von Basel-Stadt. Auch bei Novartis hat man dem Vernehmen nach rigoros umgestellt. Der Draize-Test hat in der Praxis vielfach ebenfalls ausgedient, obwohl er noch nicht aus den Richtlinien gestrichen worden ist. In Genf versichert man, dass anstelle des LD₅₀ stets gemäss OECD-Richtlinie 420 vorgegangen werde. Die Prüfung nach der Richtlinie 401 würde schon seit 15 Jahren nicht mehr praktiziert. Wegen Umlagerungen im industriellen Bereich würden Gesuche für Draize-Tests seit Jahren nicht mehr gestellt. Grosse Hoffnungen setzt man zur Zeit allgemein auf neue Alternativen bei den Prüfungen für Biologika, die derzeit noch ein düsteres Kapitel darstellen, weil viele Tierversuche mit Schweregrad 3 erforderlich sind. Bei RCC wird die von der OECD anerkannte Alternativmethode TER (*transcutaneous electrical resistance*) eingesetzt wo immer möglich. Der Ersatz zum Augenreiztest am Kaninchen könnte durchgeführt werden, so-



bald der BCOP-Test (*bovine corneal opacity and permeability assay*) von der OECD anerkannt wird. Vorbereitend hat man schon beim BVET eine Ausnahmegenehmigung zur Verwendung von Rinderaugen aus dem Schlachthof gestellt. Eine weitere bei RCC eingesetzte Alternativmethode ist der LAL-Test (*Limulus ameobocyte lysate test*) anstelle der Pyrogenitätsprüfung am Kaninchen.

ALTEX dient den zuständigen Gremien nach deren Aussagen als wichtiges

Informationsforum, Neuentwicklungen werden aufmerksam verfolgt.

Mit der Einführung neuer Alternativen würde dem Wirtschaftsfaktor „Tierversuch“ zusätzlich Boden entzogen. Das wäre dringend nötig, denn dass Tierversuche wirtschaftlich relevant sind, beweist die Statistik des Kantons Tessin, dort hat sich ein kantonales Auftragsinstitut im Jahr 2001 einen lukrativen Auftrag für die Wirksamkeitsprüfung von Hormonpräparaten hereingeholt.

Im Lehrbereich ist es immer noch unbefriedigend, dass an Gymnasien Tiere zu Unterrichtszwecken getötet werden dürfen. Wir hoffen, dass mit der Revision des Tierschutzgesetzes nun endlich auch das *Leben* der Tiere geschützt wird, also die Tiertötung ebenfalls einer Güterabwägung unterliegt.

Susi Goll
FFVFF

Hegarstr. 9
CH-8032 Zürich
sgollch@yahoo.de

Terminkalender

» 2. Tierversuchstagung des Schweizer Tierschutzes STS, „Handlungsbedarf bei Tierversuchen“, 4. September 2002, Hotel Arte, CH-Olten.

Schwerpunkte dieser Fachtagung werden sein: Lässt sich die Aussagekraft von Tierversuchen durch eine tiergerechte Haltung verbessern? Möglichkeiten zur qualitativen Verbesserung der Versuchstierhaltung und zur Linderung des Tierleidens; Bewilligungspraxis von Tierversuchsgesuchen; Forderungen zur Bewilligungspflicht aus Sicht von Behördenvertretern.

» Tierrrechtskongress Wien, 5.-8. September 2002.

Von 5.-8. September 2002 wird es erstmals einen großen Kongress der Tierrechtsbewegung in Österreich geben. Menschen aus verschiedensten Fachbereichen sollen zusammenkommen und die ihnen spezifischen Aspekte in die Diskussion einbringen. Auskünfte und Anmeldung bei: Vegane Gesellschaft Österreich, Gartengasse 19A/29, A-1050 Wien (Fax: +43-1-9712120, E-mail: info@tierrrechtskongress.at, www.tierrrechtskongress.at).

» FRAME Reduction Committee symposium: Reduction - Current Status and Future Prospects, London, 16-17 October 2002.

This two-day symposium is being organised by the FRAME Reduction

Committee to bring together experts and those interested in all aspects of reducing animal numbers in biomedical research and testing. The meeting will provide a forum for discussing current approaches to reducing the number of animals used in experiments without compromising scientific output. During the symposium the major achievements of the FRAME Reduction Committee will be presented and discussed and there will be presentations on how to reduce animal use. The venue is in central London.

Further information can be obtained from Miss Sylvia Vaughan, FRAME, Russell and Burch House, 96-98 North Sherwood Street, Nottingham, NG1 4EE. Tel: 0115 958 4740, fax: 0115 950 3570,

e-mail: sylvia@frame.org.uk.

To register for the symposium, please return the enclosed form as soon as possible with your remittance to Miss Sylvia Vaughan, FRAME, Russell and Burch House, 96-98 North Sherwood Street, Nottingham, NG1 4EE. (Registered charity number 259464)

» INVITOX 2002: 12th International Workshop on *In Vitro* Toxicology, Formia, Italy, 16-19 October 2002.

The number of participants is restricted to 150. A limited number of bursaries will be available for young scientists. The scientific program covers a number of topics, which are relevant in the field of *in vitro* toxicology and in each session the main lecture will be given

by experts coming from different countries. Key note lecture: Drugs of abuse and abuse of drugs in sportsmen: role of *in vitro* methods to study effects and mechanisms. Francesco Botré, Rome, Italy. Session 1: Biomarkers of exposure and damage: environmental pollutants, Willem Dhooge, Gent, Belgium; Session 2: Advanced models for toxicity studies on differentiating cells, Giulio Cossu, Rome, Italy; Session 3: Interindividual variability in pharmacogenetics, Angela Kashuba, North Carolina, USA; Session 4: Inflammation mechanisms and signal transduction in *in vitro* studies, Mario Monshouwer, Nerviano, Italy; Session 5: Proteomics and genomics and high-throughput screen, in *in vitro* toxicology, Jeff Waring, Illinois, USA; Session 6: Role of *in vitro* systems in food safety: traditional and novel food or food ingredients, Beatrice Pool-Zobel, Jena, Germany; Session 7: Human cells *in vitro*: sources, safety and ethical issues, Rudiger von Versen, Berlin, Germany; Session 8: Regulatory issues: National platforms, Vera Rogiers, Bruxelles, Belgium, Cosmetic testing, Lee Bansil, Staines, United Kingdom, Integrated testing strategy, Sjeng Horbach, The Netherlands. Beside the main lectures, oral presentations of about 15 min and poster sessions are scheduled. The oral presentations will be selected by the Scientific Committee from the submitted abstracts. Further details of the workshop are available by consulting the INVITOX 2002 website

(www.xs4all.nl/~shorbach/INVITOX) or at the e-mail address invitox@iss.it. Scientific Secretariat: Annalaura Stammati, Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, I-00161 Roma (Tel. +39-0649903158, Fax +39-0649387139, e-mail: invitox@iss.it); Organising Secretariat: Florindha, Via Balze die Pagnano, I-04023 Formia (Tel. +39 0771 700952, Fax +39 0771 310212, e-mail: foestiv@tiscalinet.it).

» **Konzepte zum Tierschutzunterricht an Schulen. Workshop der Erna-Graff-Stiftung für Tierschutz und der ZEBET, BgVV, Diederdsorfer Weg 1, D-12277 Berlin-Marienfelde, 24. Oktober 2002.**

Themen: Gesellschaftliche Nutzen des Tierschutz-Unterrichts, Finanzierung von Tierschutz-Unterricht, ausdrückliche Aufnahme von Tierschutzstunden in die Lehrpläne und Lehrbücher, Vielfalt weltanschaulicher Ausgangspositionen, Tierschutz-Unterrichtskonzepte (Tierbefreier Österreichs, Bundestierärztekammer Österreichs, Schweizer Tierschutz, STS, Das Tier und Wir / Schweiz, People for the Ethical Treatment of Animals, PETA-Deutschland – angefragt, in-script, Hessische Tierschutzbeauftragte – angefragt, Verein gegen tierquälerische Massentierhaltung, VgtM, Bund gegen Missbrauch der Tiere, BMT, BMVEL-angefragt). Anmeldung und Auskunft bei Dr. Barbara Grune (Leiterin) und Dr. Jörg Luy (Koordination), Erna-Graff-Stiftung für Tierschutz, Sieglindestraße 4, D-12159 Berlin (Tel. +30-852-4953 Fax: +30-852-9743, Erna-Graff-Stiftung@t-online.de).

» **1st International Workshop on the Use of Human Epidermal and Epithelial Tissue Models Reconstituted *in vitro* in Chemically Defined Medium for Toxicology and Pharmacology: Reconstituted Human Epidermis and Corneal Epithelium as Alternative Methods to Animal Testing. 10th Anniversary of SkinEthic Laboratories. Grand Aston Hotel, F-Nizza, October 25, 2002.**

Scientific programme see p. 155 in this issue and www.skinethic.com. Information: Myriam Prou, Marketing

Assistant, SkinEthic Laboratories, 45, rue St. Philippe, F-06000 Nice (Phone: +33-493-97 77 27; Fax: +33-493-97 77 28; E-Mail: myrprou@skinethic.com)

International Workshop on Replacement, Reduction and Refinement of the Use of Animals in the Quality Control of Vaccines. Sponsored by the European Commission and Organised in Collaboration with the EDQM, 7-8 November 2002, EDQM Premises, Strasbourg, France.

Who should attend? Authorities, regulators, licensing and control laboratories (OMCLs), vaccine manufacturers, managers from quality control and regulatory affairs. The number of participants in the workshop will be limited (a maximum of 50) to enable effective work. Registration fees: The registration fee for the workshop is € 150 and includes workshop materials, coffee, lunches and social dinner. Preliminary programme: November 7: Morning: Introduction into the Three Rs concept: Replacement, Reduction, Refinement. The European legislation on the use of experimental animals: current status and future developments. Refinement of animal testing. Introduction for the Sessions I & II: Refinement of animal testing. Session I: Refinement of experimental procedures. Session II: Refinement of challenge tests by serology. Applying the Three Rs within the regulatory system. Afternoon: The role of the EDQM. Introduction to the Sessions III & IV: Existing Three Rs methods: are they really used? Session III: Implementation of Three Rs methods: human vaccines. Session IV: Implementation of Three Rs methods: veterinary vaccines. November 8, 2002: Morning: Needs of industry. Introduction to the Sessions V & VI: The objectives and conditions of validation (in-house and inter-laboratory): organisational, statistical and conditional aspects). Session V: Statistical aspects of validation studies. Session VI: In-house validation vs. inter-laboratory validation. Information of EDQM on the Biological Standardisation Programme. Afternoon: Introduction to the Workshops VII & VIII on new techniques/technologies in vaccine quality control. Session VII:

Antigen quantification tests. Session VIII: Advanced immunological techniques. Contribution of rapporteurs and recommendations. 16:00 Closure of the Workshop. Working language: English. Information and registration: Caroline Larsen le Tarnec (phone.: +33-388-412815/2824, fax: +33-388-412771, registration form: www.pheur.org/).

» **1st European Conference on IgY-Technology. New Applications in Human and Veterinary Medicine, D-Damsdorf/Götzer Berge (near Brandenburg and Potsdam), 22-23 November, 2002.**

Topics: IgY from (SPF- and V2-) hens and their chances for the diagnostic and (passive) immunotherapy for humans and animals. Use of IgY in ecotoxicology. Clinical examinations. Comparison with established antibody technologies (mAB, mammalian polyclonal AB, recombinant antibodies). Animal welfare (3R). Conference address: Havel-Hotel, Götzer Berge, Bergstr. 2, D-14778 Götzer Berge, Conference fee 100€. Deadline for abstracts August 31, 2002. Organisation and Information: EGG-Immun Damsdorf, Dr. H. Kobilke, Lehniner Str. 4, D-14797 Damsdorf (Fax. +49-3382-703088, E-mail: office@egg-yolk-antibodies.de).

» **UFAW Symposium 2003. Science in the Service of Animal Welfare. 2-4 April 2003 at the University of Edinburgh.**

Announcement and call for abstracts and expressions of interest. Sessions are planned to include the following: The science of welfare assessment, including behavioural measures, physiological measures, inferences from clinical and pathological studies, inferences from knowledge of cognitive capacities; using science in ethical decisions; applying science for animal welfare; public understanding of, and power over, animal welfare standards; factors influencing attitudes to animal welfare. Please contact to the Scientific Officer, UFAW, The Old School, Brewhouse Hill, Wheathampstead, Herts, AL4 8AN, UK (Tel.: +44-1582-831818, Fax: +44-1582-831414, e-mail: scioff@ufaw.org.uk, www.ufaw.org.uk).