

Alternativmethoden zum
Tierversuch:
Techniken und Trends

Dr. Daniel Butzke

ZEBET-Datenbank und Informationsbeschaffung

Die Inhalte der Präsentation



8. R&D: Phage Display u. a.
7. Integrierte Teststrategien
6. Embryonaler Stammzelltest (ES)
5. 3D-Hautmodelle
4. Alternativen bei der Chemikalienbewertung
3. Bereiche in denen Tierversuche stattfinden
2. ZEBET im BfR
1. Gesetzliche Regulierung von Tierversuchen

1. Gesetzliche Regulierung von Tierversuchen

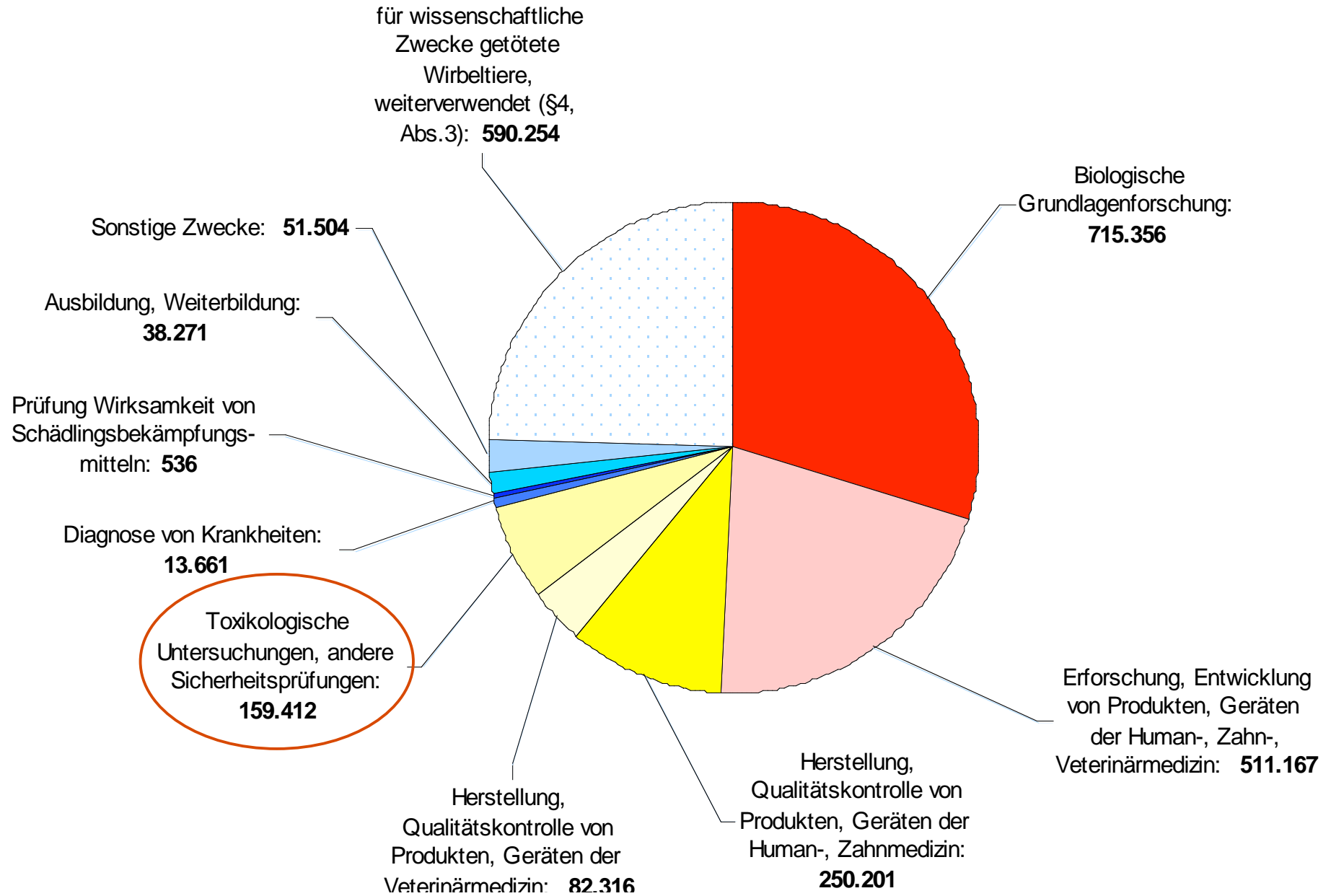


- **EU-Richtlinie 86/609/EEC** (24. November 1986) zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere, Artikel 7 (2)
- Deutsches **Tierschutzgesetz, § 7 Absatz 2:**
*„Bei der Entscheidung, ob Tierversuche **unerlässlich** sind, ist insbesondere der jeweilige **Stand der wissenschaftlichen Erkenntnisse** zugrunde zu legen und zu prüfen, ob der verfolgte **Zweck** nicht durch **andere Methoden** oder Verfahren erreicht werden kann.“*

2. Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch (**ZEBET** im BfR)

- **Aufbau eine Datenbank** und eines Informationsdienstes über Alternativmethoden, national & international
- **Entwicklung von Alternativmethoden** nach dem "3R Prinzip" von Russel und Burch (1959)
- **Förderung der Forschung** über Alternativmethoden
- **Koordinierung von Validierungsstudien**
- **Kooperation** mit nationalen & internationalen Institutionen, die Forschung und Validierungsstudien fördern
- **Forum** für Informationen über Alternativmethoden, national & international

3. Tierzahlen nach „Verwendungszweck“ 2005 (gesamt: 2.412



4. Alternativmethoden im Bereich der Chemikalienbewertung



Beispiel *Draize-Augenreizungstest*

Bereich: *Chemikalienbewertung*

Zielsetzung: *Messung von lokalen Reaktionen mit Übertragbarkeit auf menschliches Auge (Irritation, Korrosion)*

Methode/Modell: *Kaninchen, Applikation am Auge*

Zielsetzung

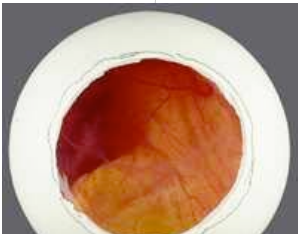


benötigte Eigenschaften



geeignete [?] Alternativmethoden

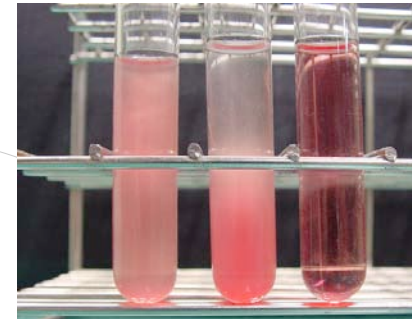
HET-CAM



EpiOcular



RBC Hemolysis



4. Konzept der experimentellen Validierung

Definition:

Die **Validierung** ist ein Prozess, bei welchem die **Verlässlichkeit** und die **Relevanz** des Verfahrens für eine **vorgegebene Zielsetzung** herausgearbeitet werden.

Experimentelle Durchführung:

TEST-ENTWICKLUNG

(1) Prevalidierung

(2) Tests mit Beteiligung verschiedener Labore

(3) Etablierung einer Datenbasis

(4) unabhängige Bewertung (peer review)

BEHÖRDLICHE ANERKENNUNG

VALIDIERUNG (formal)

4. Regulatorische Anerkennung auf OECD-Ebene

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT

SourceOECD

BOOKS PERIODICALS STATISTICS WORKING PAPERS REFERENCE

NEWS FOR LIBRARIANS USER GUIDE PRICE LIST EMAIL ALERTS OECD HOME

Go to Select from list Search for in A

1 / 8 200% Suchen

OECD/OCDE

4

Adopted
13 April

OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS

***In Vitro* Skin Corrosion: Human Skin Model Test**

INTRODUCTION

1. Skin corrosion refers to the production of irreversible tissue damage in the skin following application of a test material [as defined by the Globally Harmonised System for the Classification and Labelling of Chemical Substances and Mixtures (GHS)] (1). This Test Guideline does not require the use of live animals or animal tissue for the assessment of skin corrosivity.

210 x 297 mm Done

4. Aktueller Stand im Bereich Chemikalienbewertung

FAQ | Index | Contact | Search | Services | Legal notice

 European Commission
Joint Research Centre

European Commission > JRC > Headlines

At a glance | **Activities** | Press | News & Events | Download | Collaborations | Jobs

Print this 

JRC launches website on alternatives to animal testing



Alternative methods: preparing samples for in vitro tests

The JRC, together with the European Commission's Directorates General for Environment and Enterprise, today launch TSAR, a special website for information on tracking the status of regulatory approval for new test methods as alternatives to animal testing. The website is intended as a step towards addressing concerns over the limited availability of such alternatives and it should provide more transparency throughout the regulatory approval process, from the proposition of a new method to its final approval.

11/11/08

[View related content](#)

<http://tsar.jrc.ec.europa.eu/>

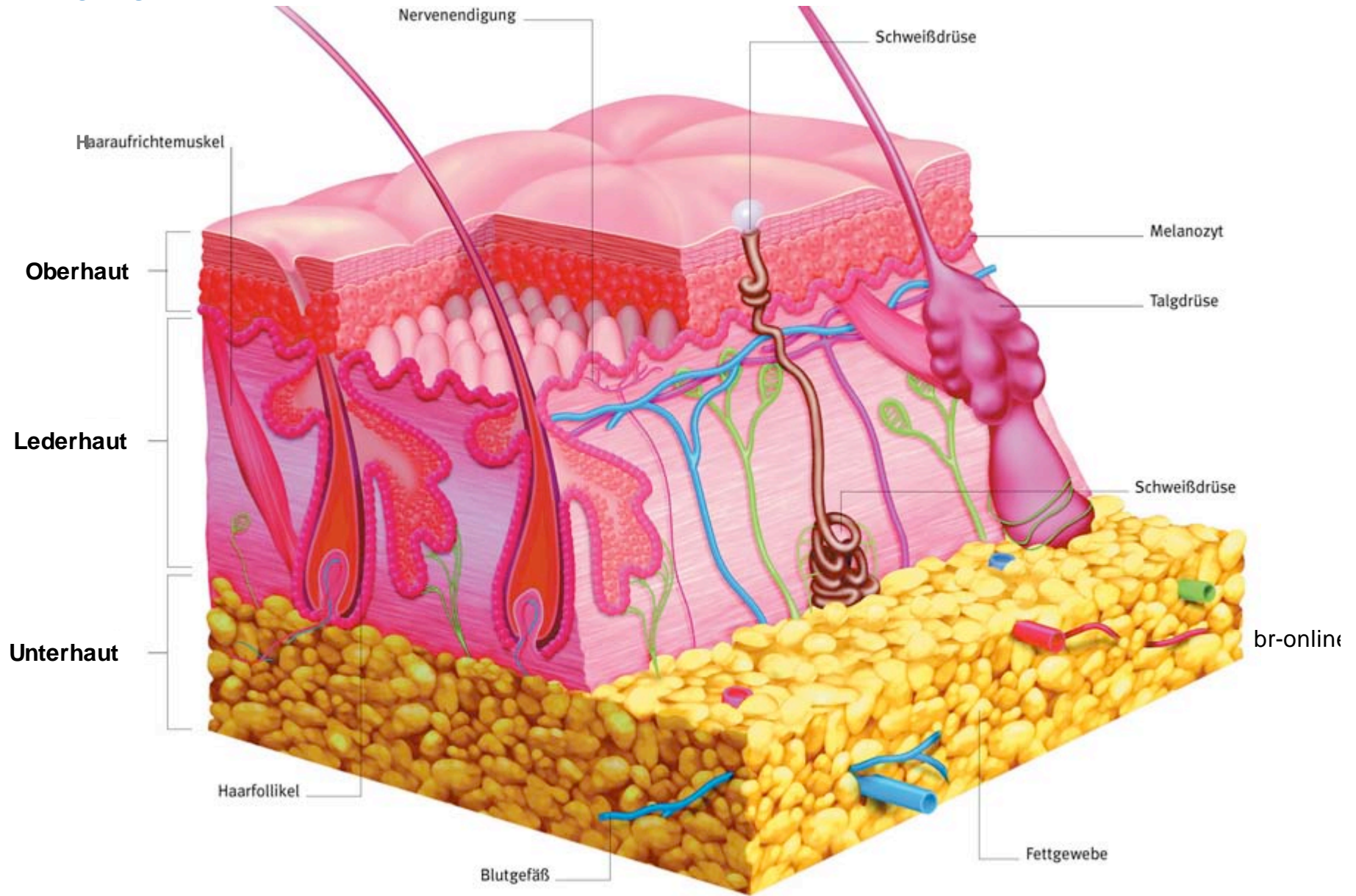
4. Aktueller Stand im Bereich Chemikalienbewertung



TSAR : Tracking System for Alternative test methods Review, Validation and Approval

The Process		
+ Review and Validation		
+ Regulatory Approval		
Validation of Methods		
Approval of Methods		
- Skin irritation and Corrosion TER - Corrosion HSM - Corrosion CORROSITEX - Corrosion EPISKIN - Irritation EPIDERM - Irritation Modified EpiDerm SkinEthic	Skin irritation and Corrosion B.40 bis Skin Corrosion: Human Skin Model (HSM)	
+ Eye Irritation	3 Rs Category	: Replacement
+ Skin Sensitisation	Type of Method	: In vitro
+ Mutagenicity	Validation Statement	: 21/03/1998 and 03/04/1998
+ Acute Systemic Toxicity	Comment	: In the frame of a testing strategy for corrosion/irritation
+ Repeated Dose Toxicity	Status of adoption in EU	: Initiated in second half 1999 due to delay in OECD. Adopted in 2000.
+ Reproductive Toxicity	1st Published in EC Regulations/ Updates	: Directive 2000/33/EC (Official Journal L 136 2000)
+ Other	Reconducted to TMR (updated when appropriate)	: Regulation 440/2008/EC (Official Journal L 142 2008)
	Text of EU method	: B.40 bis (link)
	Corresponding OECD TG	: TG 431
	OECD adoption	: OECD

5. 3D-Hautmodelle bei der Bewertung der Toxizität von Chemikalien



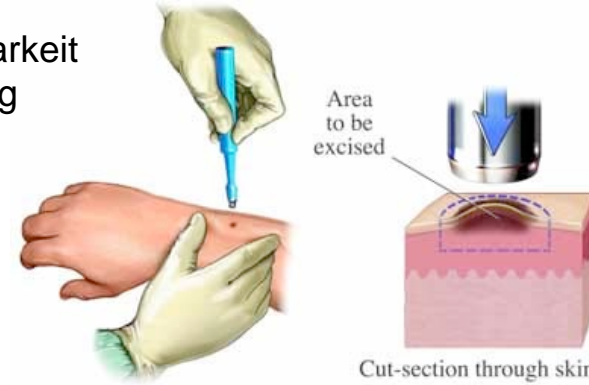
5. Mögliche Alternativmodelle für „Hautreizung“



R38: Hautreizend

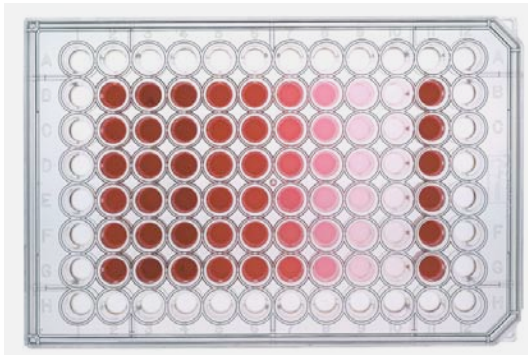
Ex vivo Hautbiopsien

- + natürliches Gewebe
- + Barrierefunktion
- eingeschränkte Verfügbarkeit
- niedrige Standardisierung



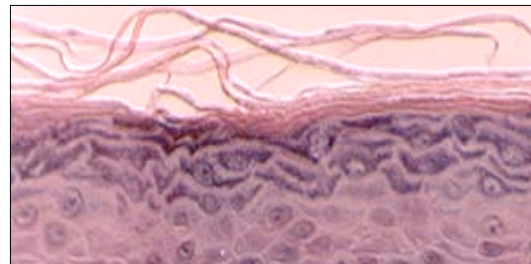
Healthlibrary.epnet.com

“Monolayer” Zellkulturen



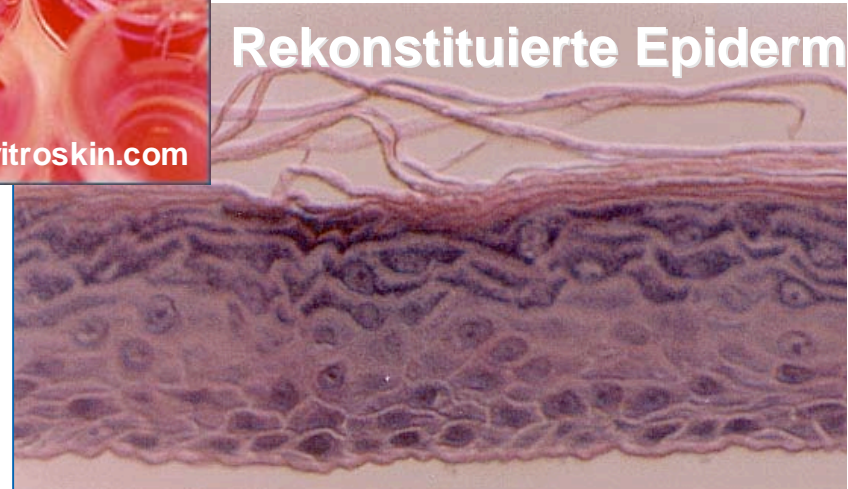
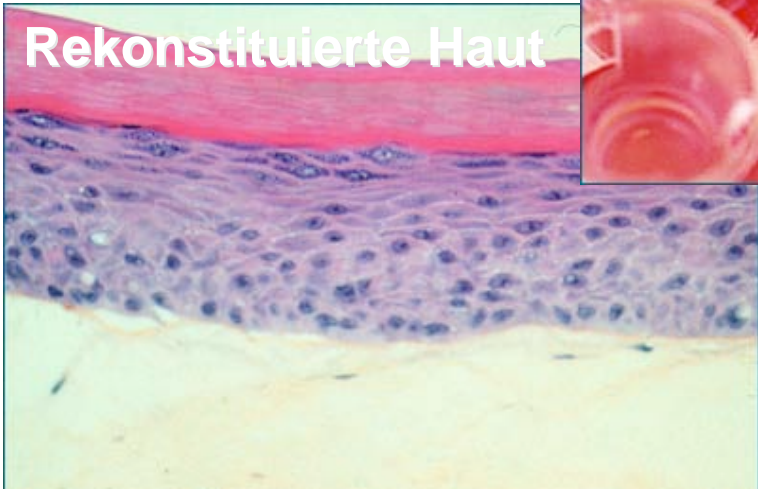
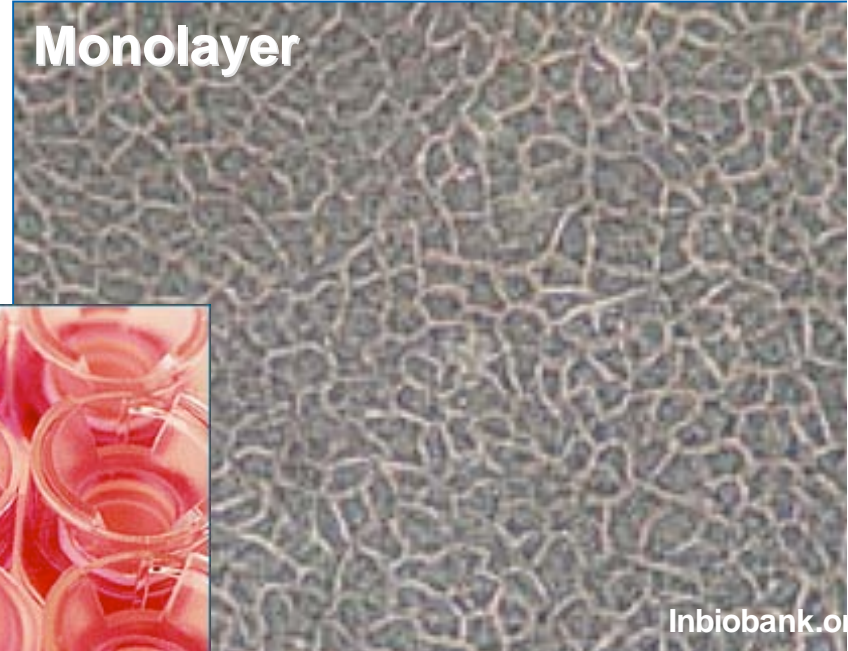
- + “high throughput”, einfache Handhabung
- keine Barrierefunktion
- Testung von unverdünnten Substanzen nicht möglich

In vitro rekonstituierte humane Haut / Epidermis Modelle



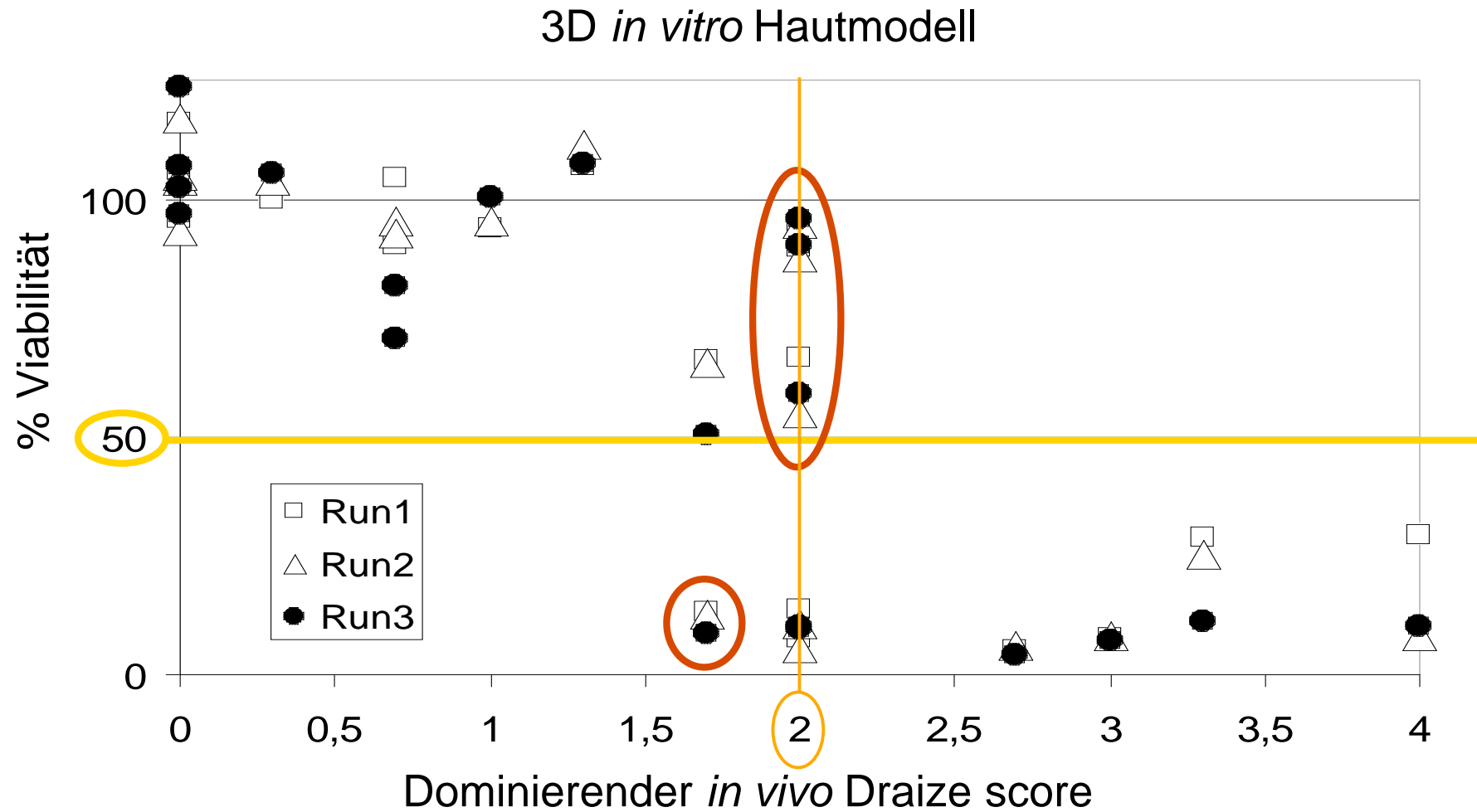
- + Primäre Hautzellen
- + organotypische Struktur
- + **Barrierefunktion**
- + **sehr standardisiert**
- nur wenige Zelltypen
- Barrierefunktion etwas durchlässiger als *in vivo*

5. 3D-Hautmodelle in der Chemikalienbewertung

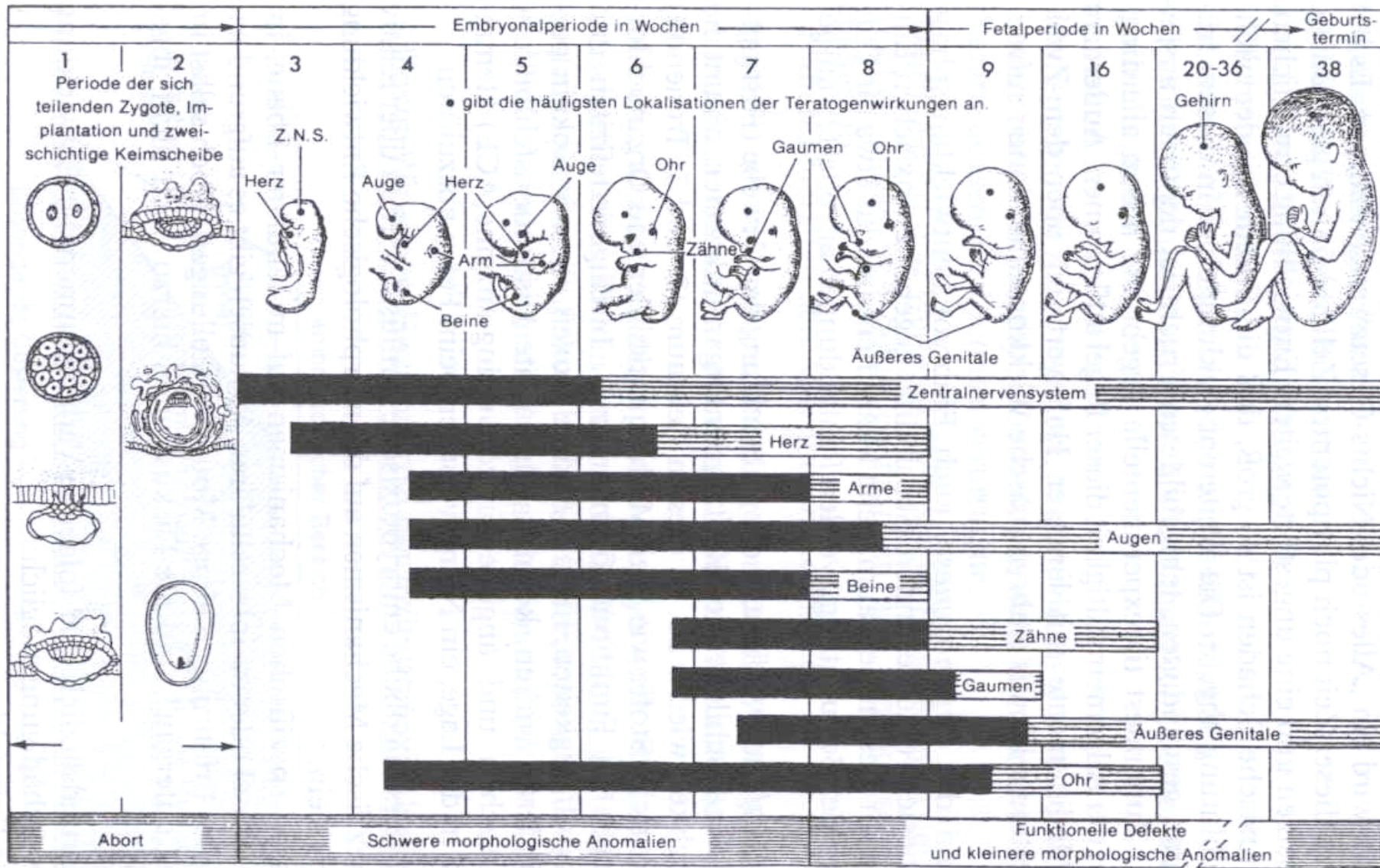


5. Vergleich eines Hautmodells mit dem *in vivo* Draizetest

- 20 Testsubstanzen (11 x „ohne Kennzeichen“; 9 x „hautreizend R38“)
- Draize score: ab 2 ist Substanz „hautreizend R38“



6. Der embryonale Stammzelltest zur Bewertung der „Embryotoxizität“



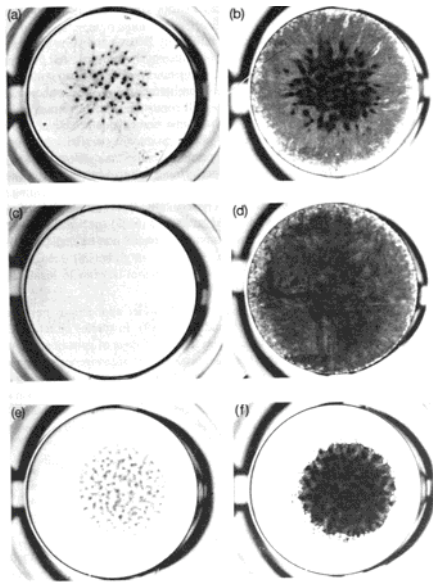
6. Validierte Tests für „Embryotoxisch“



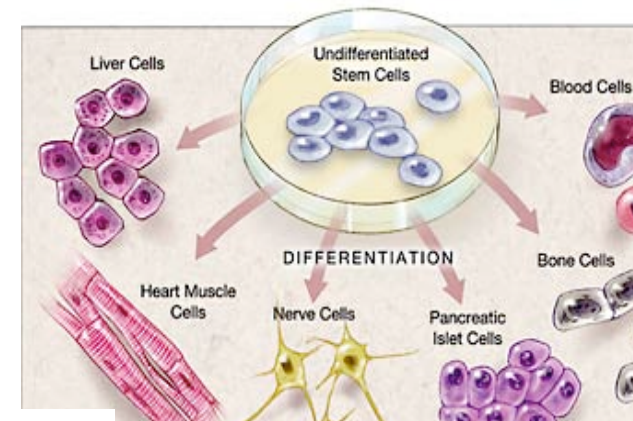
R 61/63



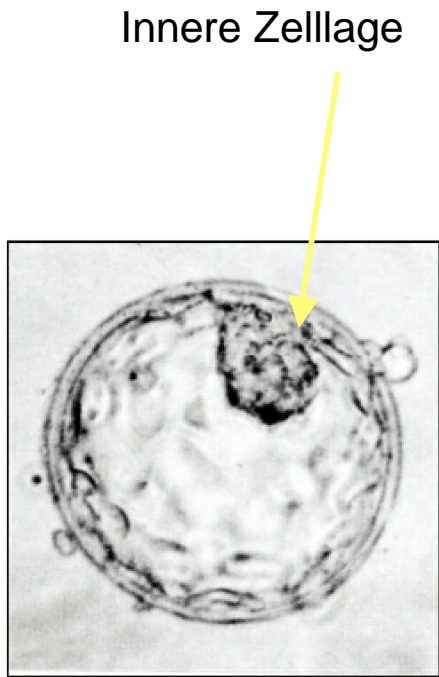
Postimplantation Rat Whole-Embryo Culture Test



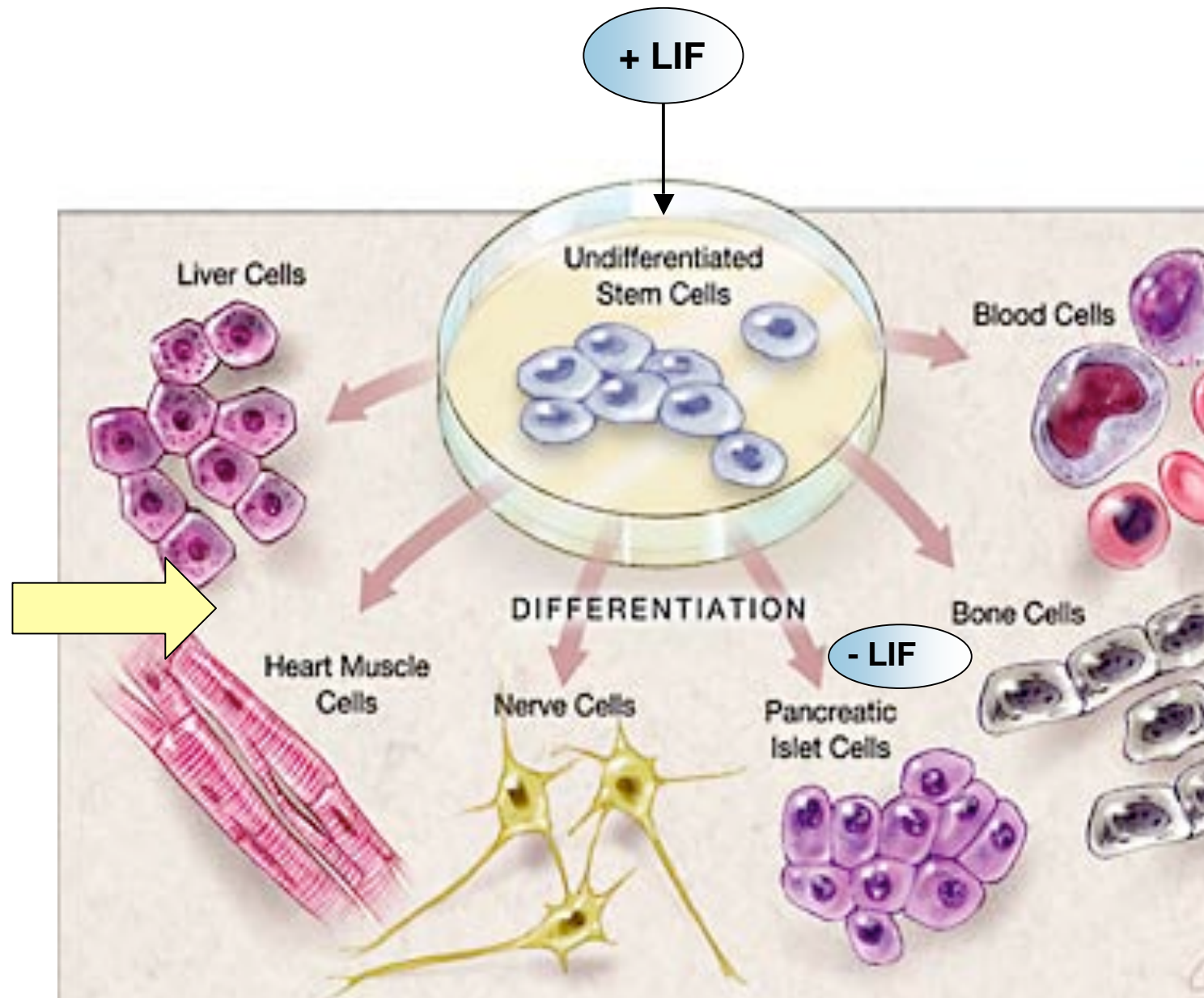
Rat Limb Bud Micromass Test



6. Pluripotenz von embryonischen Stammzellen der Maus

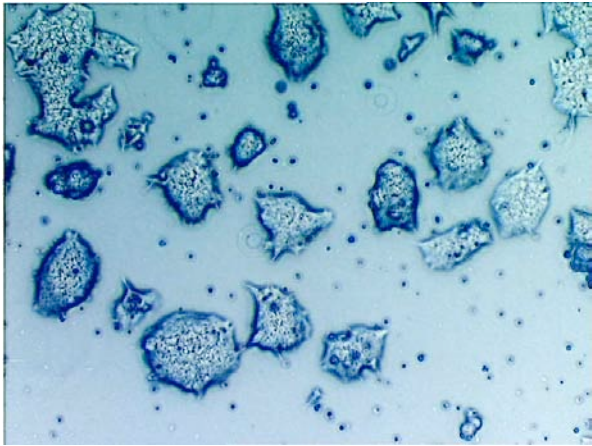


Blastozyste der Maus

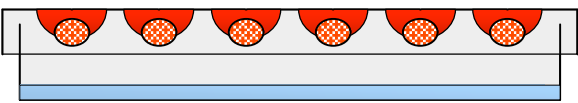


6. Pluripotenz von embryonischen Stammzellen der Maus

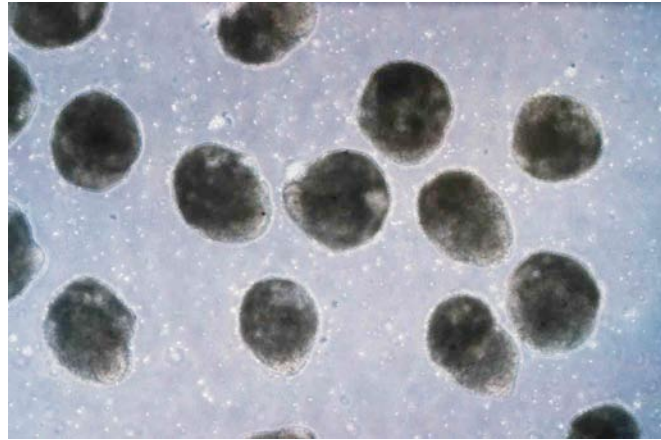
- Der EST nutzt die Fähigkeit embryonaler Stammzellen, spontan in schlagende Herzmuskelzellen zu differenzieren



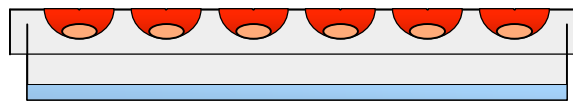
Tag 0:
Undifferenzierte
D3-Stammzellen



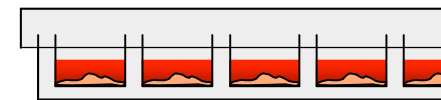
„hängender Tropfen“



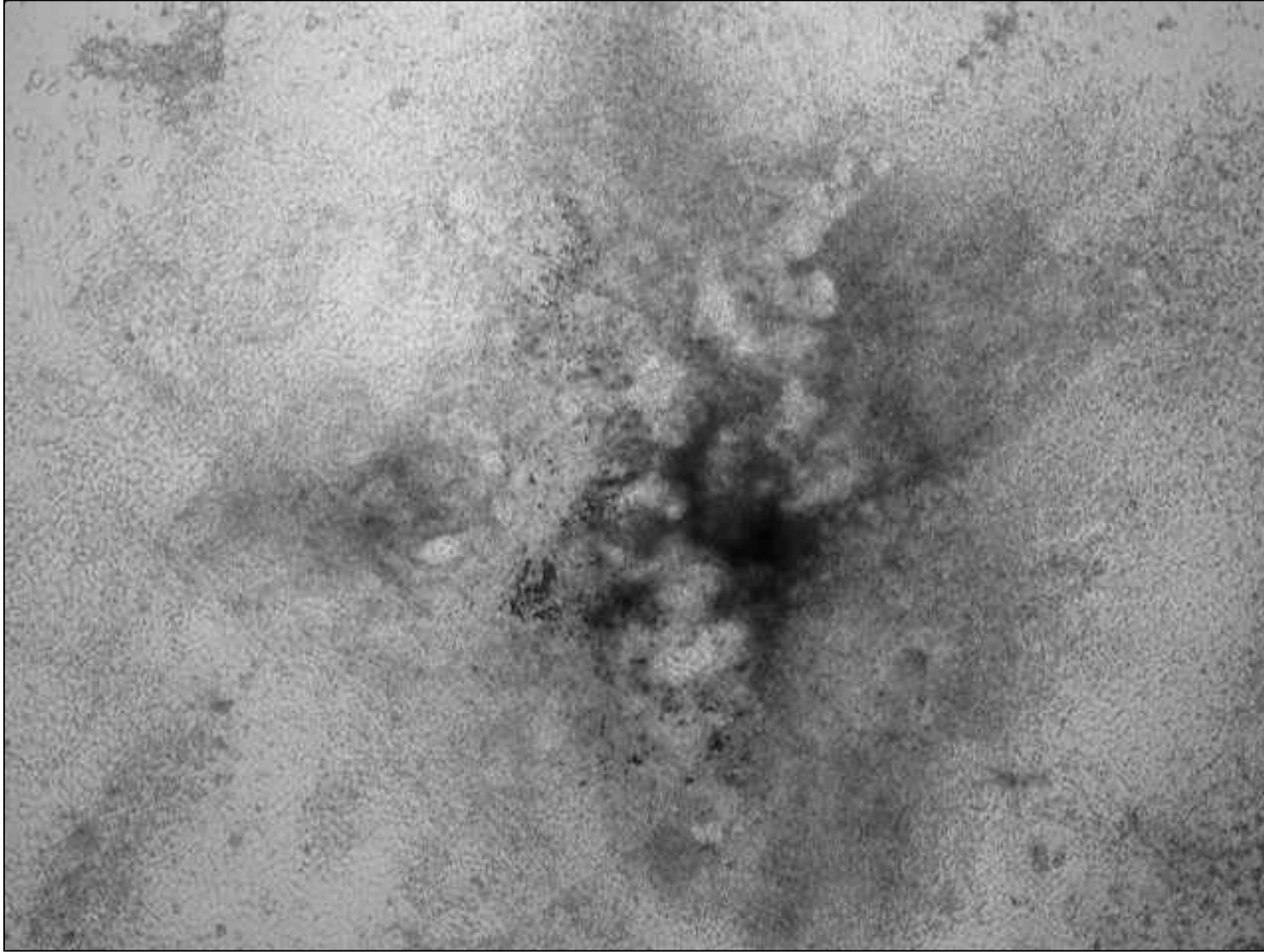
Tag 3-5:
in vitro Differenzierung zu
„embryoid bodies“



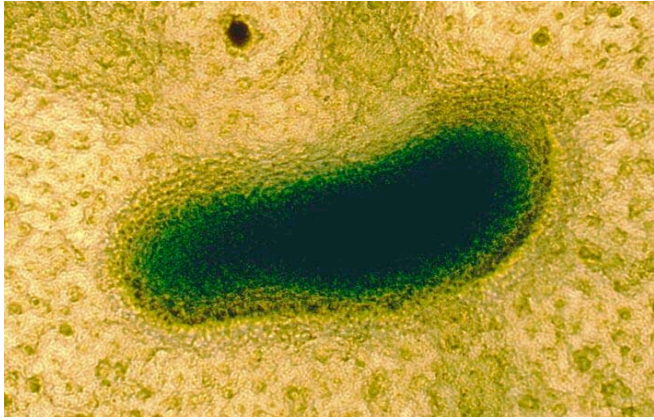
Tag 5-10:
in vitro Differenzierung
kontraktierenden Herz-
zellen



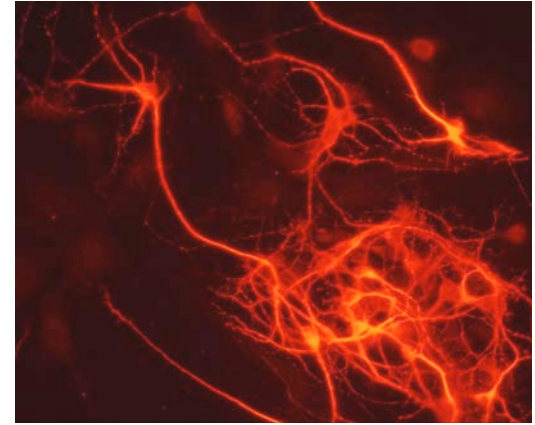
6. Tag 10: kontraktierende Herzmuskelzellen



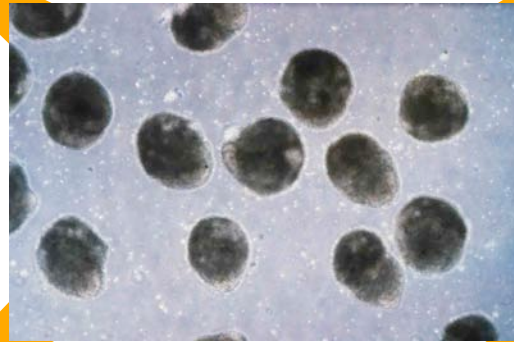
6. Differenzierung zu anderen Zelltypen



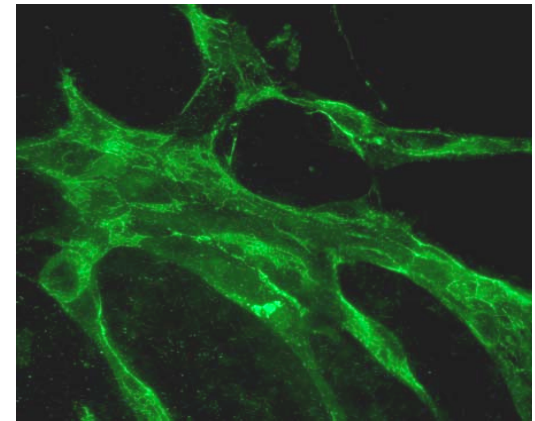
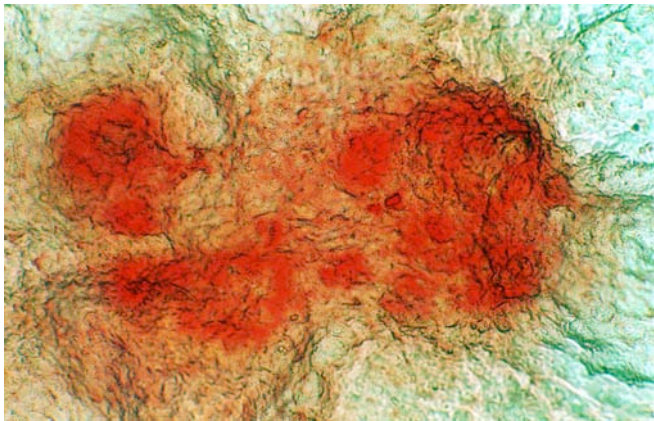
Knorpelzellen



Nervenzellen



“embryoid bodies”



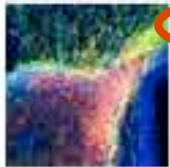
6. induzierte pluripotente Stammzellen (iPS) vom Erwachsene

nature
biotechnology

Oktober 2008

LATEST HIGHLIGHTS

+ Advance Online Publication

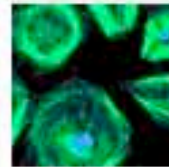


iPS cells from human hair

> Article by Aasen *et al.*

Aasen *et al.* boost the efficiency of human induced pluripotent stem (iPS)

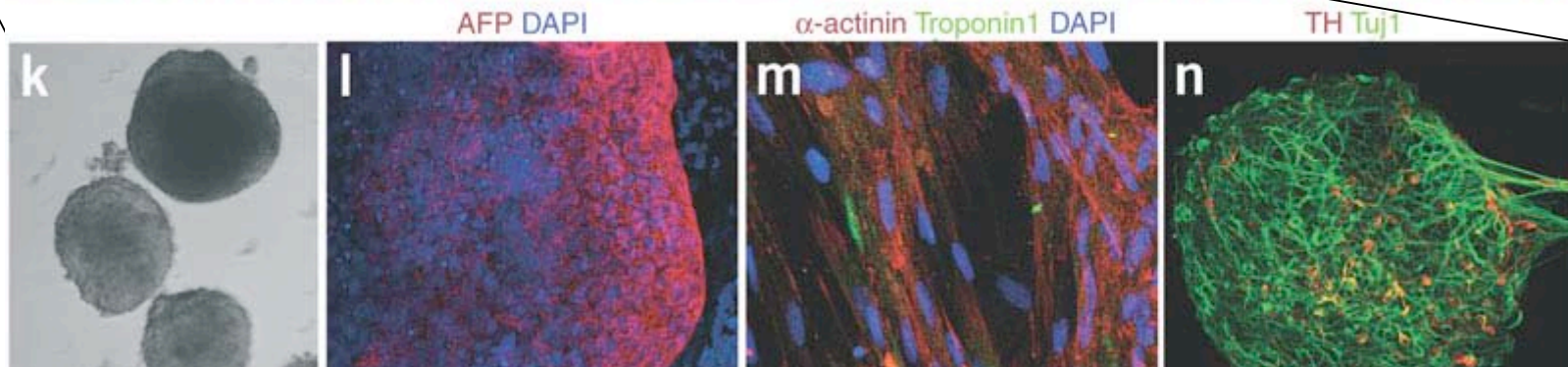
+ Advance Online Publication



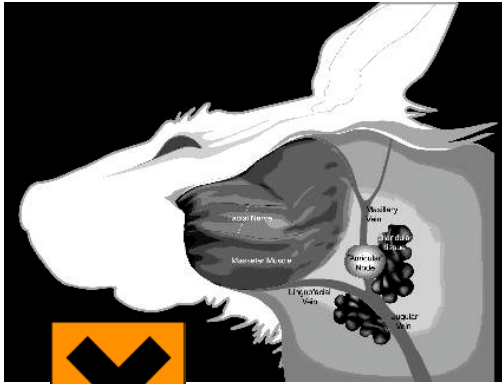
Human iPS cells with two factors

> Article by Huangfu *et al.*

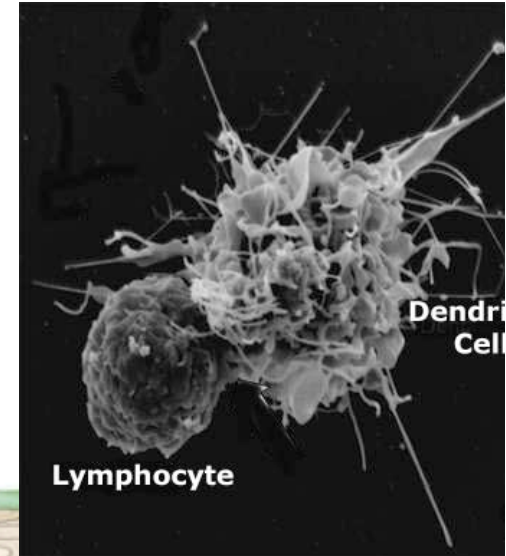
One strategy for advancing induced pluripotent stem (iPS) cell technology



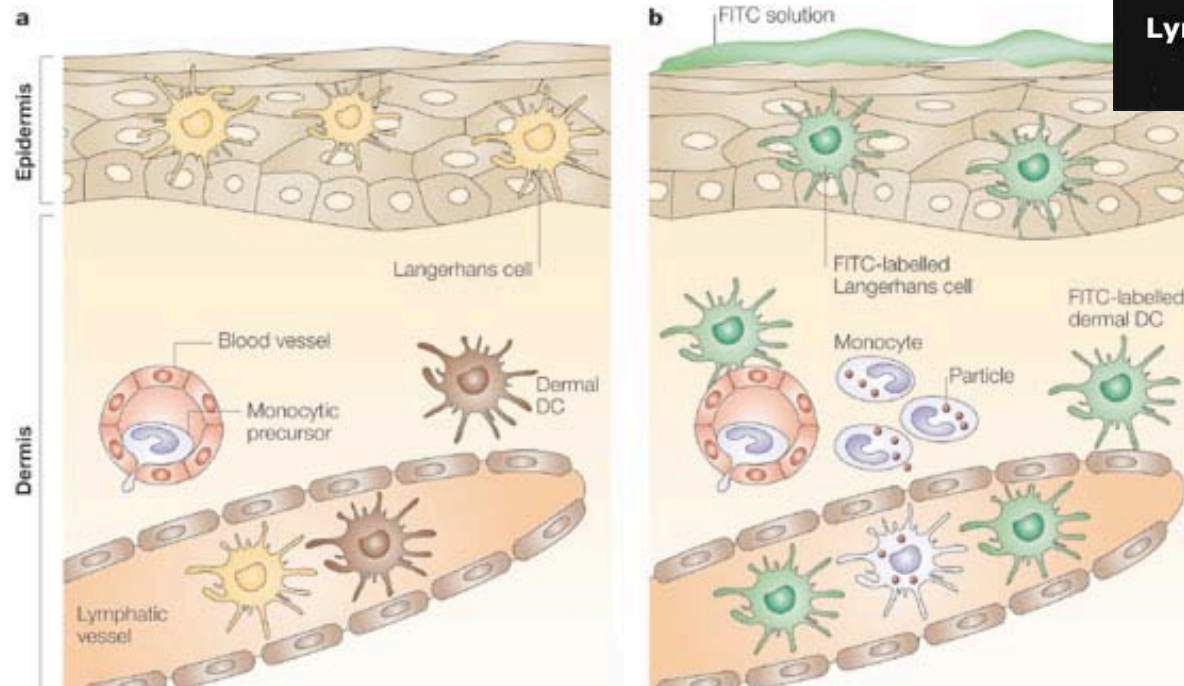
7. Integrierte Teststrategien (ITS) zur Bewertung des „allergieauslösenden Potentials“



R43: Sensibilisierung



bcrf.uc



7. Integrierte Teststrategien (ITS) zur Bewertung des „allergieauslösenden Potentials“

Voraussetzungen für eine Kontaktallergie:

Die Substanz (**Hapten**) muß ...

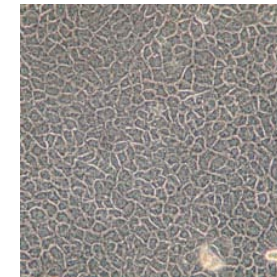
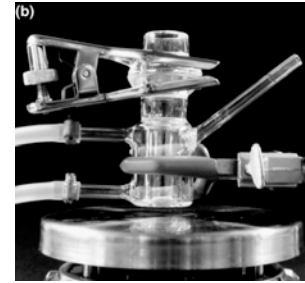
1. in die Haut eindringen können
2. eventuell enzymatisch umgesetzt werden (Prohapten)
3. eine stabile Verbindung (Komplex) mit einem Protein eingehen

Dieser **immunogene Komplex** muß ...

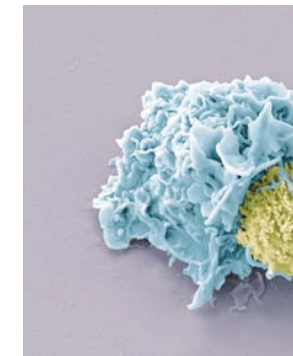
4. von einer Langerhanszelle (Dendritische Zelle) aufgenommen und prozessiert werden

Die **Langerhanszelle (Dendritische Zelle)** muß ...

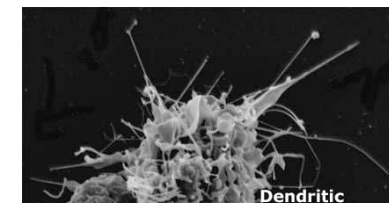
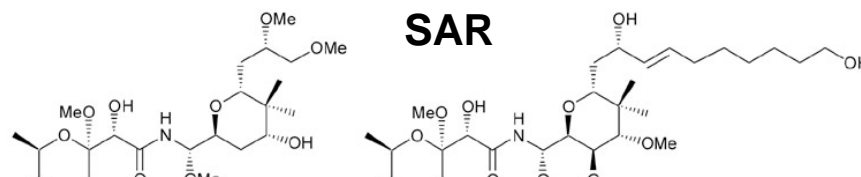
5. zum nächsten afferenten Lymphknoten wandern und dabei reifen
6. dort mit Lymphozyten interagieren und diese auf spezielle Weise stimulieren



Inbiobank.org



Oli

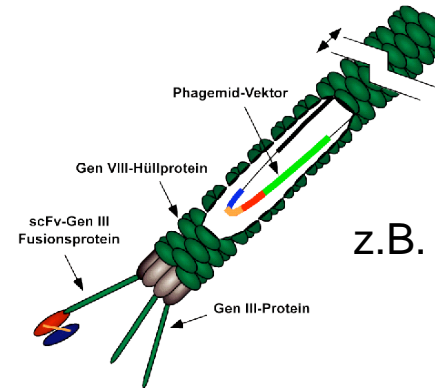


8. Beispiele aus der Grundlagenforschung: transgene Tiere

„Humanisierte“ Mäuse:

- zur Gewinnung von therapeutischen „humanen“ A
- Mögliche **Alternative**:

„Phage Display“ - Techn



z.B. Adalimumab (Humira) gege

Tiermodelle für genetische Erkrankungen:

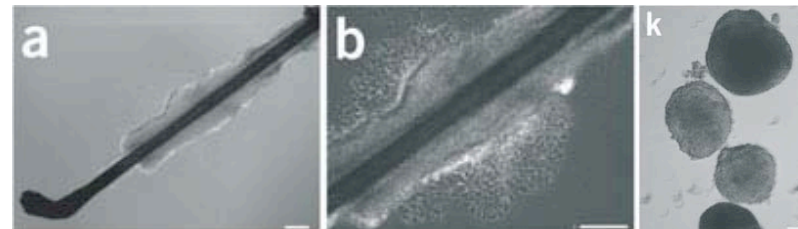
- z.B. zur *in vivo* Validierung neuer Medikamente
- Mögliche **Alternativen**:

iPS-Zellen von Betroffenen



taxodros.unizh.ch

Transgene Fliegen als Alzheimermodell



Aasen et al Nat Biotech 2008

Die Datenbank für Alternativmethoden: AnimALT-ZEBET (BfR



<http://www.bfr.bund.de/cd/448>

DANKE FÜR IHRE
AUFMERKSAMKEIT!

Dr. Daniel Butzke

Bundesinstitut für Risikobewertung
Thielallee 88-92 • D-14195 Berlin