



FACHBEREICH 10 II VETERINÄRMEDIZIN

Vorlesung RECHTSMODUL

Das 3R-Konzept und Alternativen zum Tierversuch
Stephanie Krämer



VORTRAGSSTRUKTUR

Teil A – Das 3R-Konzept – von seiner Entstehung bis heute

Teil B - Alternativen zum Tierversuch



Teil


Teil B – Alternativverfahren – ein Überblick



Teil A

Das 3R-Konzept – von seiner Entstehung bis heute

Frage:
**„Darf ich Tiere für die Untersuchung
und Klärung wissenschaftlicher
Fragestellungen nutzen?“**

A small, stylized speaker icon with a blue center and a grey outer ring, positioned over the word 'wissenschaftlicher' in the text.



Abwägungsgründe bei der Durchführung von Tierversuchen




1. Gesetzliche Vorschriften
2. Ethisch-moralische Aspekte
3. Wissenschaftlicher Fortschritt
4. Wirtschaftliche Faktoren
5. Religiöse Einflussgrößen

Die Visionäre



William Moy Statten Russell wurde 1925 geboren und starb am 27. Juli 2006 im Alter von 81 Jahren.

 **Leonard Burch**, geboren 1926, starb in einem Krankenhaus in Norwich, Norfolk, England am 9. März 1996 nach langer Krankheit.

Umsetzung des 3R-Konzepts in Europa

Heute ist das 3R-Prinzip zu einem gemeinsamen Bezugspunkt von verschiedensten Organisationen und Initiativen geworden

- über die Tierversuchsrichtlinie 2010/63/EU (Art. 4 "Grundsatz der Vermeidung, Verminderung und Verbesserung,,), hat das 3R-Prinzip Eingang in die Gesetzgebung vieler EU-Staaten gefunden
- 2015 wurde das Deutsche Zentrum zum Schutz von Versuchstieren gegründet und trägt das Namenskürzel "Bf3R" , mit dem sowohl auf das 3R-Prinzip als auch auf das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) Bezug genommen wird, unter dessen Dach das Zentrum angesiedelt ist.
- das europäische Pendant zum Bf3R ist das am Joint Research Centre (JRC) der Europäischen Kommission angesiedelte European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing (EURL-ECVAM).

Ziele des 3R-Konzepts

Erhalt des bestmöglichen Zustandes (i.S. des Animal Welfare) für das Versuchstier!

Dies resultiert in:



- einer höheren Validität
- einer höheren Sensitivität
- einer höheren Aussagekraft
- und geht oft mit einer geringeren Anzahl an Versuchstieren einher

Anspruch der Wissenschaft

Grundsätzlich sollte jede wissenschaftliche Fragestellung mittels des Modells/ der Methode/ dem Verfahren beantwortet werden, welches über die größte Aussagefähigkeit verfügt!

 „Essentially, all models are wrong,
but some are useful!“

(George Edward Pelham Box, 1919-2013, britischer Statistiker)

VERPFLICHTUNG ZUR GUTEN WISSENSCHAFTLICHEN PRAXIS

durch Implementierung der 3Rs

REPLACE

REDUCE

REFINE



Die Entwicklung

Die Implementierung des 3R-Konzepts hat aus heutiger Sicht bereits zu einer veränderten Wahrnehmung in der Forschungslandschaft geführt.

Dies wird u.a. deutlich an:

- der wiederholten Vergabe von Tierschutzpreisen für Alternativen in der Entwicklung von Verfahren von regulatorischen Testsystemen (Toxizitätstests)
- Implementierung der Aspekte Replace, Reduce, Refine in jedes Antragsstellungsverfahren (i.S. des § 8 TierSchG)
- Gründung von Internetplattformen zur Kommunikation des 3R-Gedankens (z.B. Tierversuche verstehen)
- der Gründung neuer 3R-Zentren (national, international)





Search all Norecopa's databases and webpages simultaneously:

[Welcome to Norecopa, Norway's 3R centre!](#)

["The PREPARE Guidelines for Planning Animal Research and Testing"](#)

[Video presentation of the Norecopa website](#)

[Short cut: Guidelines for animal research](#)

[Search engine help file](#)

More about Norecopa's databases: [3R Guide](#) - [NORINA](#) - [TextBase](#) - [Classic AVs](#) - [NAL](#)

[Norecopa: the first 10 years \(2007-2017\)](#)

[Reviews of the website](#)



Filters: [clear all filters](#)

Category:3R Center X

24 results

[ICAR3R \(Interdisciplinary Centre for 3Rs in Animal Research, Giessen\)](#)

[3R Guide/81395](#)

ICAR3R (Interdisciplinary Centre for 3Rs in Animal Research, Giessen) is part of an initiative which led to the foundation of the Research Campus of Central Hesse in 2016.

Search filters

Order by:

Relevance

Enable synonyms and stemming

Database

3R Guide (24)

Classic AVs

Website

NAL

NORINA

TextBase

Browse the databases

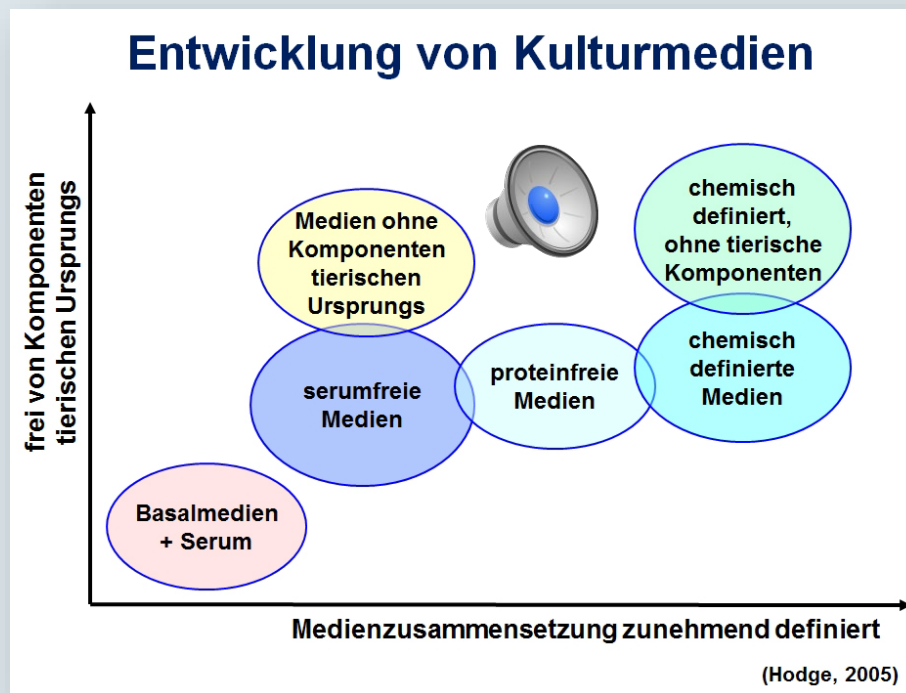
eBooks

Free

Held at NMBU Oslo (contact Kristine Hansen, 67 23 21 801)

Replacement-Technik nach Russell und Burch

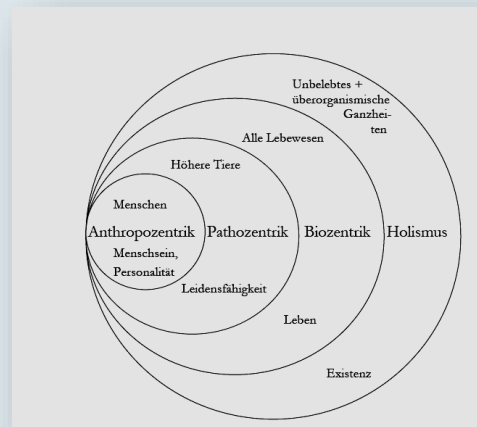
Verwendung jedes „nichtfühlenden“ Materials zum Ersatz von Methoden, die den Einsatz leidensfähiger, lebender Vertebraten vorsehen.



Replacement-Technik nach Russell und Burch

Verwendung jedes „nichtfühlenden“ Materials zum Ersatz von Methoden, die den Einsatz leidensfähiger, lebender Vertebraten vorsehen.

Der Pathozentrismus kann als direkte Kritik am Anthropozentrismus bzw. an der einseitigen Ausrichtung auf die Vernunft als alles entscheidendes Merkmal moralischer Wesen aufgefasst werden. Geht es darum, wie wir mit Lebewesen umgehen, kommt es nicht darauf an, ob sie denken können. Die Frage, so bereits Jeremy Bentham, lautet vielmehr: „Können sie leiden?“



Replacement-Technik nach Russell und Burch

Differenzierung:

a) **Absolutes Replacement**

Zu jedem Zeitpunkt frei bezüglich des Einsatzes jedweden "tierischen" Materials

Beispiele:

- Einsatz von mathematischen oder Computer-Modellen, auf bereits verfügbare biologische Daten zurückgreifen
- Verwendung primitiver Organismen (Bakterien)
- Nutzung humaner Gewebe/ Zellen



b) **Relatives Replacement**

Einsatz von Tieren/ tierischem Material; jedoch wird das Tier zu keinem Zeitpunkt Stress, Schmerzen oder Leiden ausgesetzt

Relatives Replacement



Hierunter fällt auch der Einsatz von Tieren, die nicht unter den Schutz der Tierschutzgesetze fallen.

Begründung:

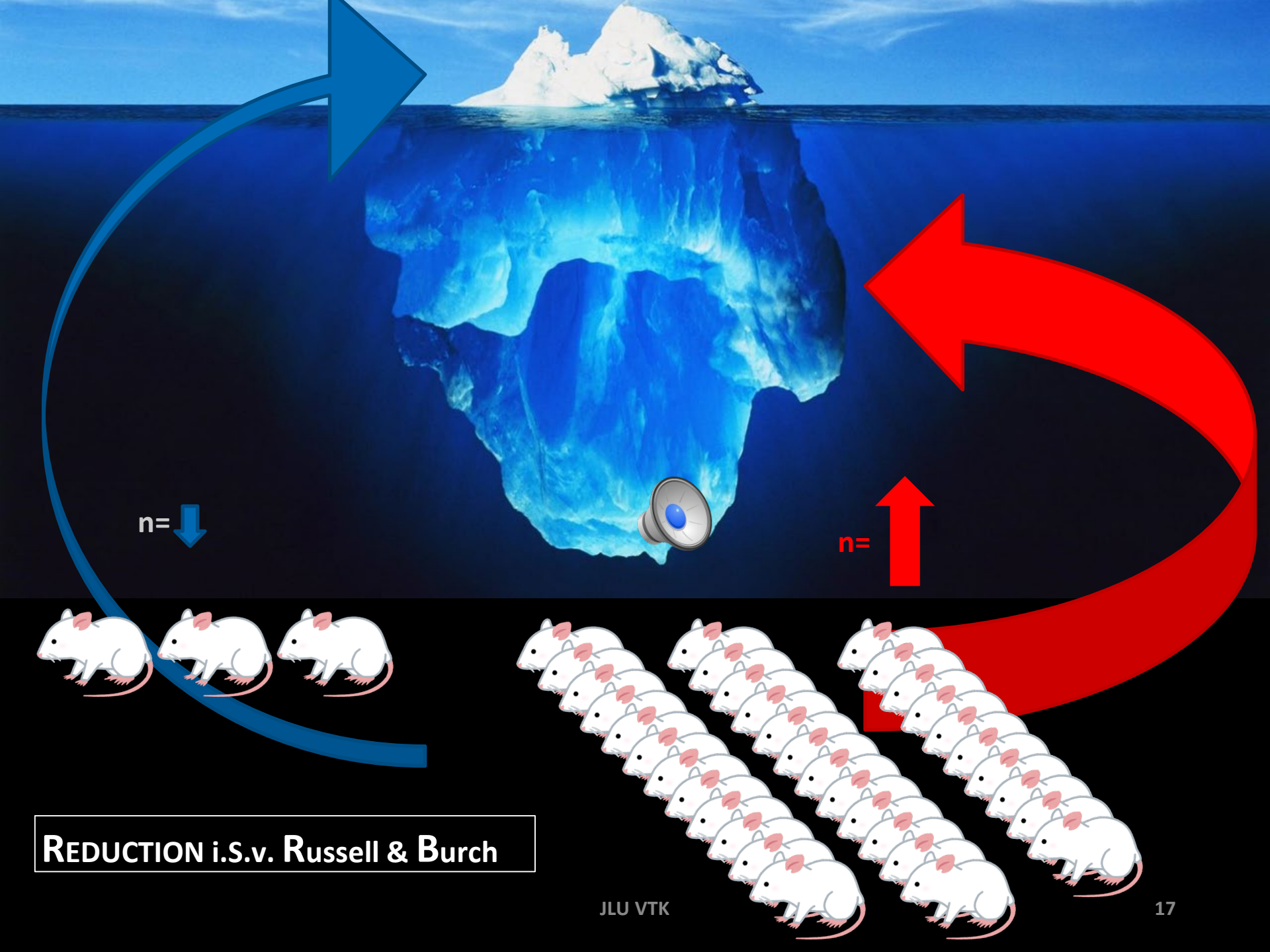
Ausschlaggebend für die Eingruppierung ist die Tatsache, dass es bei diesen Tieren keinerlei wissenschaftliche Evidenz für das Vorhandensein von neurophysiologischen oder verhaltensassoziierten Hinweisen auf die Wahrnehmung von Schmerzen oder Leiden gibt.

Beispiele:

- *Drosophila melanogaster*
- Nematoden (*C. elegans*)



In Europa fallen lt. Richtlinie 2010/63 EU unreife Formen von Säugetieren, Vogel- und Reptilienembryonen ab dem letzten Trimester der Trächtigkeit bzw. der Inkubationszeit, sowie Larven von Amphibien und Fischen ab dem Zeitpunkt selbständigen Futteraufnahme und Cephalopoden bis zur Aufnahme des Jagdverhaltens unter den Schutz der Richtlinie bzw. nationalen Rechts (EU).



n= ↓

n= ↑

REDUCTION i.s.v. Russell & Burch

DIE FRAGE :

Wiederverwendung von Tieren:

???

Problem:

- Häufig führt die Wiederverwendung von Tieren zu einer höheren individuellen Belastung der Tiere (auch bei niedriger potentieller Schmerzexposition); der vermeintliche Nutzen i.S. der Reduktion wäre hier ein zweifelhafter



Bei der Überlegung zur Wiederverwendung von Tieren muss stets eine sehr vorsichtige Kosten-Nutzen-Analyse durchgeführt werden!

(Beachtung der EU-Vorgaben zum sog. Re-Use!)

REFINEMENT

Der Begriff des Refinements wurde im Jahre 2005 von **Buchanan-Smith** erweitert:

Refinement umschreibt jede Prozedur, die dazu beiträgt, potentielle Schmerzen, Belastungen und/ oder adverse Effekte vom Tier während seiner gesamten Lebensdauer abzuwenden und welche zur Verbesserung des Wohlbefindens des Tieres beitragen.



Beispiele:

- Einsatz adäquater Anaesthesien und Analgetika
- Gewährleistung kontinuierlicher veterinärmedizinischer Überwachung
- Sicherung angemessener Unterbringung, welche im Einklang mit dem natürlichen Bedarf und der Bedürfnisse der Tiere steht
- Einsatz von Score Systemen zur Erfassung des Wohlbefindens

HUMANE ENDPOINTS

Der Begriff des „humanen Endpunkts“ beschreibt den Zeitpunkt, zu dem ein aktives Handeln erfolgt, um das potentielle Leiden eines Tieres zu limitieren, dennoch aber den experimentellen Zielsetzungen gerecht zu werden.

Kein Versuchstier sollte ohne Erkenntnisgewinn versterben!

Anders herum ausgedrückt, wird ein präterminales Tier kaum noch spezifische Informationen liefern können, da die Zeichen und pathophysiologischen Reaktionen, die mit dem bevorstehenden Tode assoziiert sind, alles “Versuchsspezifische“ überlagern werden.



DAS SETZEN VON „HUMANE ENDPOINTS“ KANN

- *DEN ABBRUCH DES VERSUCHES*
- *DIE BEHANDLUNG DES TIERES*
- *DIE SCHMERZFREIE TÖTUNG DES TIERES IMPLIZIEREN!*

50 Jahre später – wo stehen wir?

Fakt:

- Das 3R-Konzept ist weitreichend bekannt (Politik)
- Das 3R-Prinzip trifft auf weite Anerkennung (institutionell; bei Wissenschaftlern; in weiten Teilen der Bevölkerung)
- Das 3R-Konzept ist integrativer Bestandteil vieler Gesetzestexte und Verordnungen auf nationaler und internationaler Ebene
- Das 3R-Konzept wird häufig in entsprechenden Pressemitteilungen/ Kommentaren zitiert
- Die aktive Umsetzung des 3R-Konzeptes wird u.a. bei wissenschaftlichen Publikationen hinterfragt (ARRIVE-Guidelines)



Welchen Wert hat das 3R-Konzept tatsächlich?

... alles nur Augenwischerei?

Fakt:

REDUCTION



Seit 1990 sind die Versuchstierzahlen weltweit konstant, es konnten keinerlei Rückgänge verzeichnet werden, trotz der Entwicklung innovativer Techniken zum Ersatz von Versuchstieren.

Tatsächlich scheint es keinerlei „numerische“ Zielvereinbarungen zu geben!

Gegenargument: Die Vereinbarung von Zielvereinbarungen würde Wissenschaft dahingehend einschränken, als das diese den Vorstoß in neue Gebiete der tierbasierten Methoden unterbinden würden.

Auf der Suche nach dem Rechtsfertigungsgrund:

Darf man Tiere (eher) töten, wenn man diesen zuvor ein gutes Leben ermöglicht hat?

Hintergrund: „Das Badness of Killing-Argument“ (Hansen et al., 1999)

In der menschlichen Wahrnehmung scheint es „OK“ zu sein, wenn man dem Tier ein „gutes“ Leben ermöglicht hat und es danach, zur (weiteren eigenen) Nutzung, nach den geltenden Regeln der Kunst tötet.



Bezüglich der Belastungsreduzierung könnte man aus diesem Argumentationsstrang ableiten, dass die Belastung für das Einzeltier idealer Weise gegen „Null“ gehen sollte, im Zweifelsfalle eher mehr Versuchstiere eingesetzt werden sollten, um dieses Ziel zu erreichen (Umfrage Franco et al., 2018).

Priorisierung: Refinement vor Reduction!

Gibt es eine Wertigkeit zwischen den 3Rs?

Hat das Replacement den höchsten Wert?

Beispiel:

Welches Kosmetikprodukt würden Sie bevorzugt kaufen? Die Produktdeklaration lautet:



- a) Nicht im Tierversuch getestet
- b) Nur an wenigen Tieren im Tierversuch getestet
- c) Getestet an Tieren, die nur relativ wenig Leiden bzw. Schmerzen oder Schäden erlitten haben

(Olsen et al., 2018)

Die Lösung könnte ganz einfach sein:

Ein Ausblick in die Zukunft:

Würde die Replacement-Forschung weiterhin vorangetrieben und vor allem politische Unterstützung finden, dann müsste man sich keine weiteren Gedanken zur Belastbarkeit des 3R-Konzeptes machen!

Das Gegenargument:

„Das mag wohl für regulatorische Zwecke am ehesten zutreffen, ist aber im Bereich der biomedizinischen Grundlagenforschung undenkbar.“

Programme zur Förderung von Ersatzmethoden - Nationale Bemühungen

Ursula-Händel-Tierschutzpreis (DFG) - Preisträger 2018

Prof. Dr. Ellen Fritsche forscht an Neurosphären, organähnlichen Zellkulturen, anhand derer sich die Giftigkeit von Stoffen auf die Entwicklung des Gehirns testen lässt. Weil die Neurosphären aus humanen Stammzellen herangezüchtet werden, erlauben die Ergebnisse der Neurotoxizitätsstudien eine bessere Einstufung der Gefährlichkeit von chemischen Stoffen für den Menschen als Studien an Tieren, bei denen sich die Ergebnisse nicht immer komplett auf den Menschen übertragen lassen.



PD Dr. Dr. Hamid Reza Noori nutzt neue Ansätze aus Mathematik, Datamining und Maschinellem Lernen, um die Vielzahl publizierter Daten aus neurobiologischen Forschungsprojekten der letzten Jahrzehnte an Ratten auszuwerten. Allein durch die komplexe Analyse vorhandener Daten gelang es Noori – *ohne einen weiteren Tierversuch* – die biochemischen Schaltkreise im Rattengehirn aufzuklären, die grundlegend für die Informationsverarbeitung im Gehirn sind.

Der Hintergrund

REACH

(seit 01.07.2007)

Registration, Evaluation, Authorization, and Restriction of Chemicals

ECHA – European Chemicals Agency (Sitz Helsinki)

„Durch die REACH-Verordnung soll ein hohes Maß an Sicherheit der menschlichen Gesundheit und Umwelt vor Auswirkungen gefährlicher Chemikalien erreicht werden. Dabei wird versucht, ein Gleichgewicht zu wahren:



Für ein besseres Verständnis der möglichen Gefahren von Chemikalien zu sorgen und gleichzeitig unnötige Tierversuche zu vermeiden. Als letzter Ausweg müssen Chemikalien manchmal an Tieren getestet werden um mehr über die Wirkung dieser Stoffe zu erfahren. ...

Thomas Hartung (CAAT): In Zahlen bedeutet dies 54.000.000 Tierversuche.

„No data, no market“

...erinnern wir uns: Die EU ist in erster Linie eine wirtschaftliche Interessensgemeinschaft!



Tierversuche verstehen:

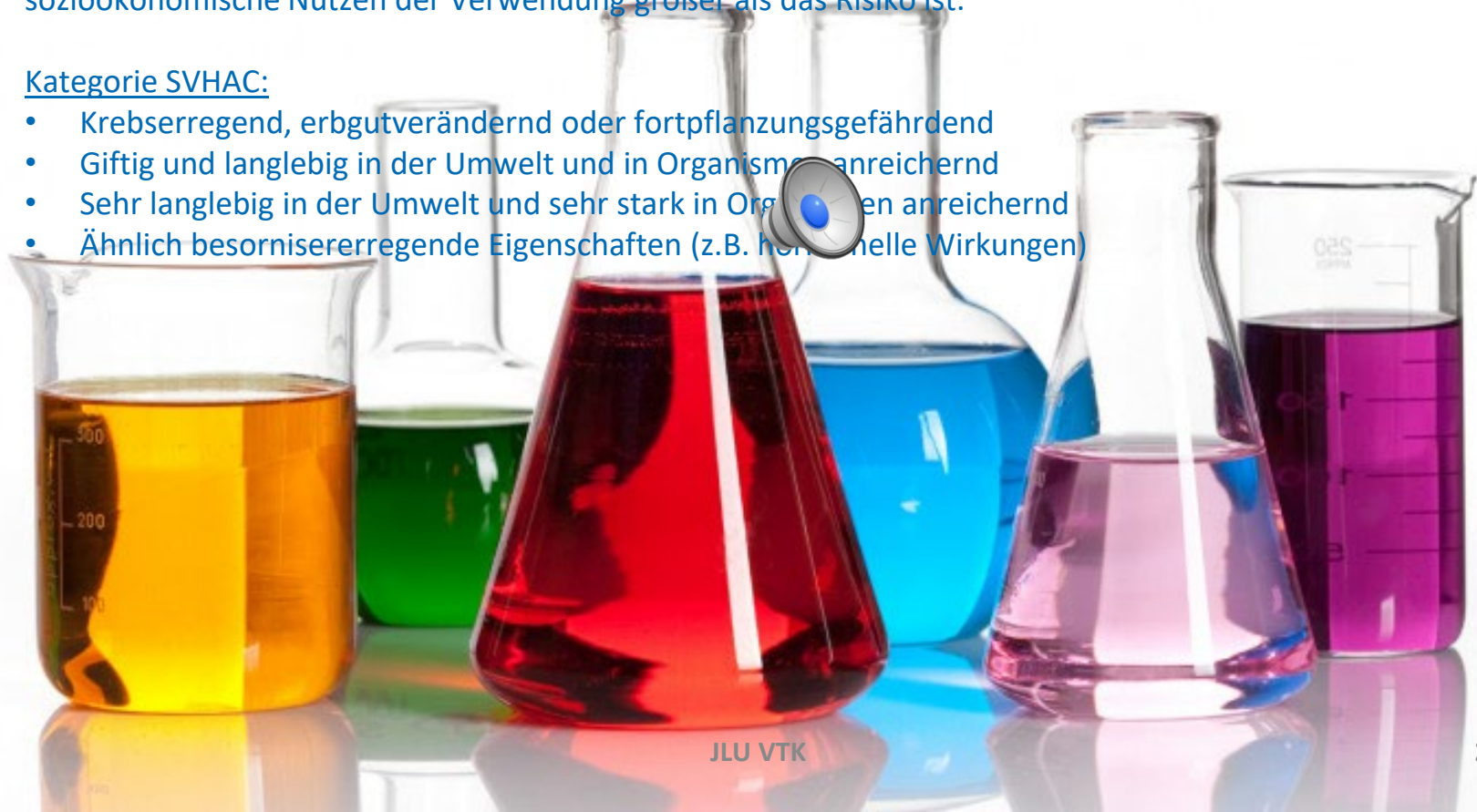
REACH beruht auf dem Prinzip der Eigenverantwortung von Industrie und Handel. Für alle chemischen Stoffe, die in der EU in den Verkehr gebracht werden sollen, muss der jeweilige Hersteller oder Importeur eine Registriernummer vorweisen. Dabei wird eine Marktzulassung nur erteilt, wenn die Daten zu den Stoffeigenschaften vorgelegt werden können.

REACH: ES GEHT UM CA. 30.000 CHEMIKALIEN

Mit bestimmten Ausnahmen unterliegen chemische Stoffe in der EU keiner Zulassungspflicht. REACH fordert eine Zulassung für besonders besorgniserregende Stoffe (SVHAC). Die Zulassungspflicht ist primär ein generelles Verwendungsverbot. Auf Antrag kann die ECHA eine Zulassung aussprechen. Dazu muss der Antragstellende nachweisen, dass die Risiken der Chemikalie beherrscht werden oder dass der sozioökonomische Nutzen der Verwendung größer als das Risiko ist.

Kategorie SVHAC:

- Krebserregend, erbgutverändernd oder fortpflanzungsgefährdend
- Giftig und langlebig in der Umwelt und in Organismen anreichernd
- Sehr langlebig in der Umwelt und sehr stark in Organismen anreichernd
- Ähnlich besorgniserregende Eigenschaften (z.B. hormonelle Wirkungen)



Toxizitätstestung im 21. Jahrhundert

Forderungen/ Erkenntnisse:

1. Tierversuche sind zeitintensiv und kostenintensiv
2. Tierversuche weisen eine schlechte Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den menschlichen Organismus auf
3. Es sollten besser humane Zellkultursysteme etabliert, evaluiert und genutzt werden
4. Es sollten systembiologische Ansätze zur Anwendung kommen, um Toxizitätsstudien durchzuführen




Von wem stammen diese Empfehlungen?

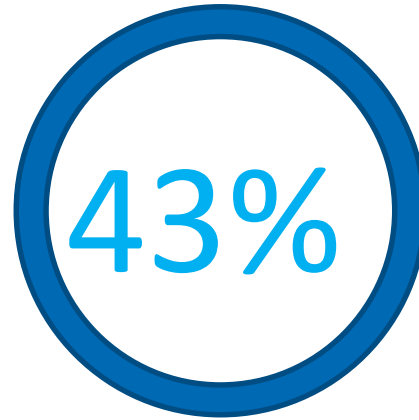
Toxizitätstestung im 21. Jahrhundert

Forderungen/ Erkenntnisse:

1. Tierversuche sind zeitintensiv und kostenintensiv
2. Tierversuche weisen eine schlechte Übertragbarkeit auf den menschlichen Organismus auf
3. Es sollten besser humane Zellkulturen eingesetzt und genutzt werden
4. Es ist sollten systembasierte Ansätze gefördert werden, um Toxizitätsstudien durchzuführen

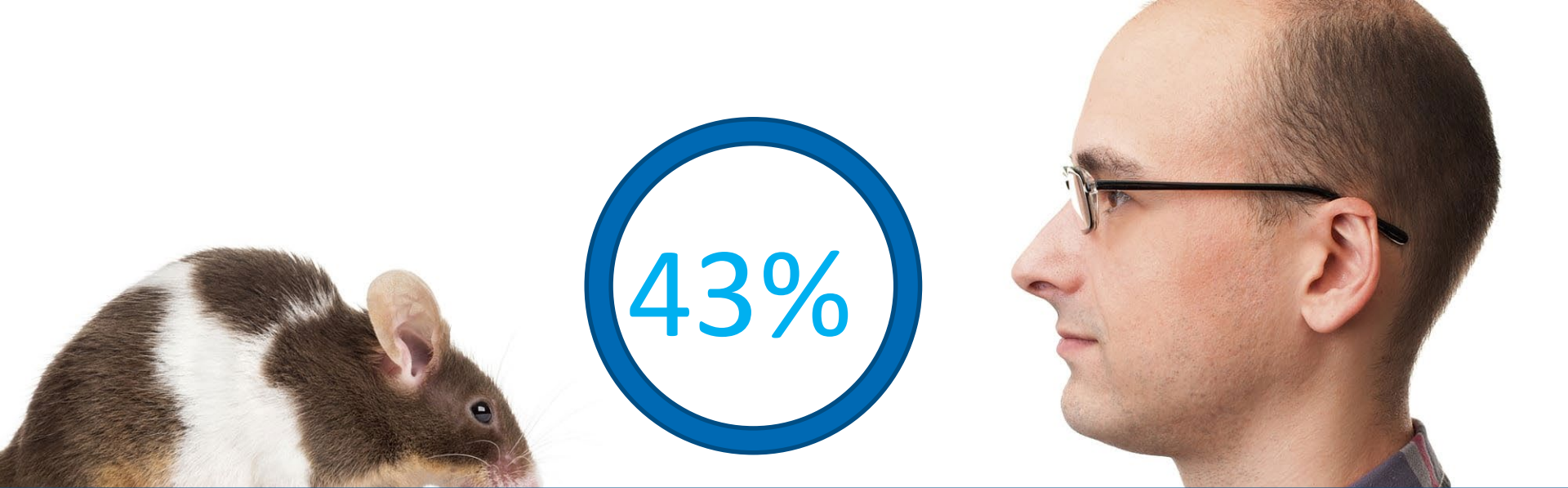
**Bericht der NAS (National Academy of Sciences, USA)
Report: Toxicity Testing in the 21. Century: A vision and a Strategy
(2003)**





???





43%

ÜBERTRAGBARKEIT TOXIKOLOGISCHER TESTS



57%

Die Frage nach der Übertragbarkeit tierexperimenteller Daten

Studie der Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health (Juli 2018):

- Spezifische Algorithmen können die Toxizität chemischer Substanzen besser voraussagen, als der Tierversuch
- Die Vorhersehbarkeit der Toxizität im Computer-basiertem Testsystem lag bei einer Genauigkeit von 87%, im Vergleich zum klassischen Tierversuch bei 43%

Thomas Hartung (CAAT):

Zur Zulassung eines einzelnen Pestizids müssen im Durchschnitt bis zu 30 unabhängige Tierversuchsvorhaben durchgeführt werden. Die Kosten für die Zulassung liegen bei mehreren Millionen Euro.



READ-ACROSS: Machine-readable toxicological database. It contains information on the structure and properties of 10.000 chemical compounds, based on part on 800.000 separate toxicological tests.



DAS TIER-MODELL-PROBLEM

Die Maus bildet rein quantitativ den Modell-Organismus in der biomedizinischen Grundlagenforschung ab.



Rein qualitativ werden humane Pathologien durch die Verabreichung spezifischer Chemikalien, durch chirurgische Eingriffe oder durch genetische Manipulationen nachgestellt.

Es ist davon auszugehen, dass diese Modelle ihre Limitierungen haben!

*Eine Schwalbe macht noch keinen Sommer, oder:
Funktionale Ähnlichkeiten bilden kein Garant für kausale Zusammenhänge
von Pathologien!*

... oder:

*Ein Mensch ist weder eine 75 kg Maus,
aber auch kein 75 kg schwerer Zellhaufen!*

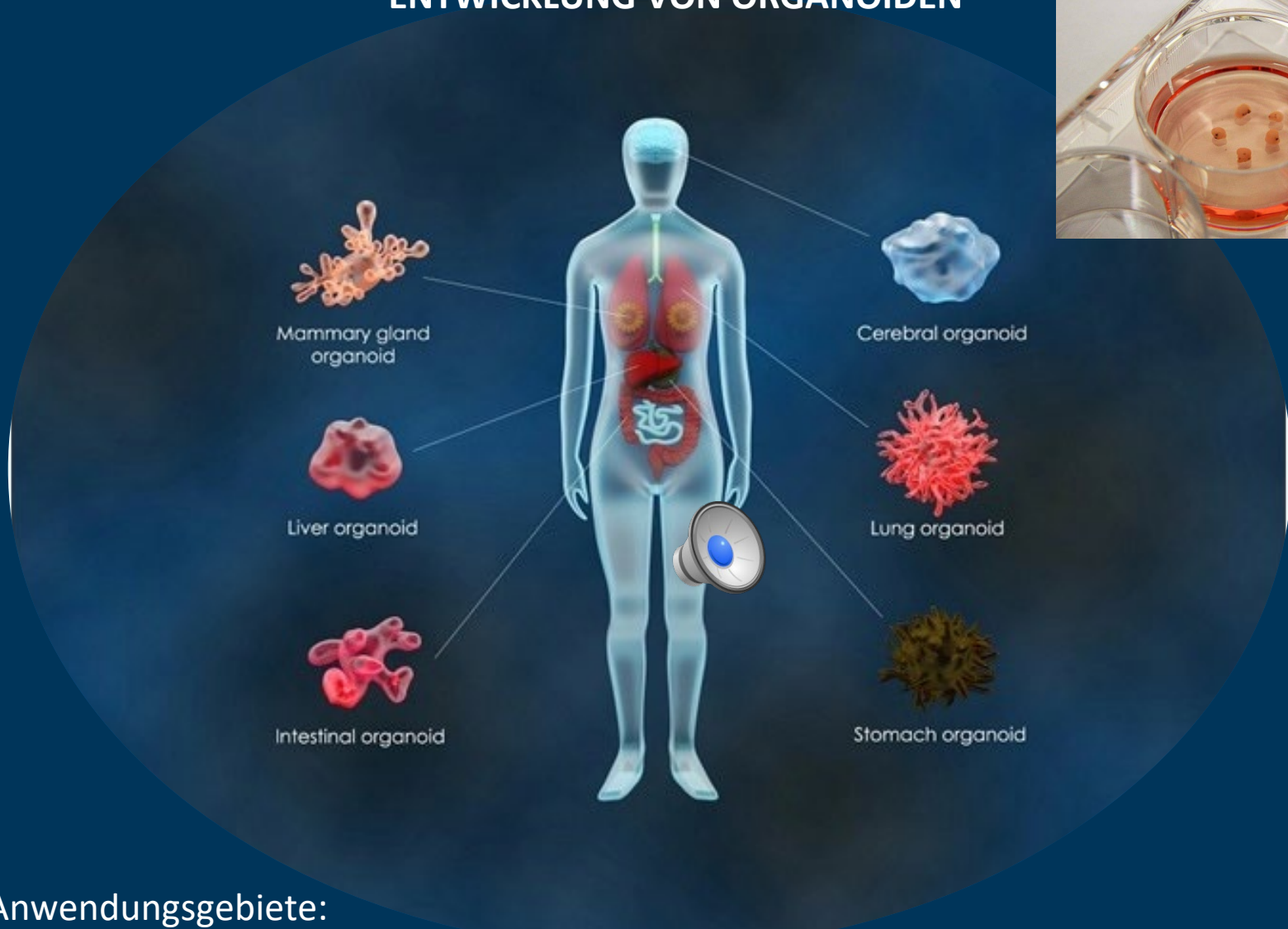
Die wissenschaftliche Kunst und Herausforderung liegt in der Identifizierung des **bestmöglichen Modells** oder der **optimalen Methode!**



Das Modell bzw. die Maus in- und auswendig kennen:

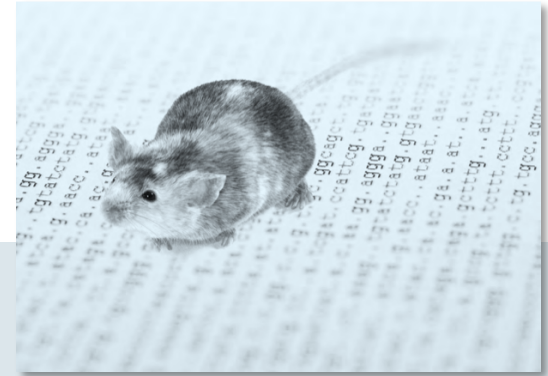
Am Anfang sollte immer eine ausführliche Modellcharakterisierung stehen, die dazu dient, die Stärken, aber auch die Schwächen des Modells zu identifizieren.

ENTWICKLUNG VON ORGANOIDEN



Anwendungsgebiete:

Zell-/ Organentwicklung, Toxizitätstest, Pharmacotyping, Patienten-basierte Medizin



DAS TIER-MODELL-PROBLEM

1990 – die Entwicklung von GVOs: Der Durchbruch in der Grundlagenforschung?

Es gibt zwischen Maus und Mensch nicht nur signifikante Unterschiede hinsichtlich der Immunologie, des Metabolismus, der Physiologie u.v.m., sondern auch in der Expression regulatorischer Gene. So können selbst minimale molekulare Unterschiede identifiziert werden und eine Translation auf die Humanpathologie erschweren bzw. sogar unmöglich machen.

Beispiel: Das Mausmodell zur Muskeldystrophie

Das beim Menschen als verantwortlich identifizierte Gen verursachte im Mausmodell keinerlei Form der Muskeldystrophie.

Hackam & Redelmeier (2006): 76 hochzitierte tier-basierte Untersuchungen in 7 Top-Journalen ergaben nur eine 37%ige Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen

Die Übertragbarkeit

Lost in Translation?!

Beispiele:

1) **Maus-Tumor-Modelle**

Mak et al., 2014, Am J Transl Res:

The average rate of successful translation from animal models to clinical cancer trials is less than 8% (successful in Phase I Trials).



2) **Maus-Stroke-Modelle**

Miner & Hoffhines, 2007, Texas Heart Inst.: 1009 potential drug candidates have been tested in animal models, 97 have proceeded to clinical trials. Only two drugs were considered safe and effective (aspirin, tissue plasmin activator)

Stand der Dinge

3R-Konzept – heute

Die Durchführung von Tierversuchen in der heutigen Zeit ist nicht mehr ohne eine ethische Abwägung möglich.

Diese Abwägung basiert auf dem Prinzip der Kosten-Nutzen-Analyse.

Der Erkenntnisgewinn auf der einen Seite muss die potentiellen Schmerzen, Leiden oder Schäden der Tiere auf der anderen Seite deutlich überwiegen.



Dieser Diskurs hilft im Entscheidungsprozess der gesetzlich geforderten Darlegung der Unerlässlichkeit des Tierversuches.

Das 3R-Konzept repräsentiert dabei einen robusten Rahmen, über dessen Anwendung es möglich wird, die Belastungen für Tiere in noch notwendigen Tierversuchen zu reduzieren und gleichzeitig zu einer Steigerung der Qualität der wissenschaftlichen Fragestellungen beizutragen.

Ein Ausblick (1)

Ziel:

Sicherung der wissenschaftlichen Qualität

Die Geschichte der Medizin hat immer wieder gezeigt, dass der wissenschaftliche Fortschritt stark von der technologischen Entwicklung abhängt.



Etwas vereinfacht könnte man sagen, vom „*experimentum in vivo*“ - über das „*experimentum in vitro*“ - bis hin zum „*experimentum in silico*“.

Mit anderen Worten, die Entwicklung neuer Technologien wiederum begünstigt die Entwicklung noch innovativerer Konzepte.

Ein Ausblick (2)

Neben all den vielversprechenden Ansätzen neuer Technologien sollten Wissenschaftler jedoch immer den Fokus auf die Grundlagen setzen und deren Anwendung berücksichtigen.

Es gilt, stets den Horizont im Auge zu behalten und die Fragen zu stellen:

Wo sollen wir hingehen? Was ist das Ziel?



Man muss erkennen, dass das Ziel oft nur in Etappen erreicht werden kann. Das 3R-Prinzip hilft, diese Etappen zu meistern.

Der wissenschaftliche Anspruch sollte derart formuliert werden, dass immer das Modell verwendet wird, mit dem die gestellte Hypothese am besten bestätigt oder abgelehnt werden kann.

Ein Ausblick (3)

Tatsächlich ist es so, dass das *in vivo*-Modell, also auch das Tier, heute nicht ganz aufgegeben werden kann.

Daher liegt es in unserer besonderen Verantwortung, Tierversuche so zu gestalten, dass die möglichen Schmerzen und Belastungen im Experiment so gering wie möglich gehalten werden.



Dies kann beispielsweise dadurch erreicht werden, dass Kriterien identifiziert werden, anhand derer zu einem sehr frühen Zeitpunkt in einem Experiment eine wissenschaftliche Aussage getroffen werden kann.

3R und Tierschutz

Refinementforschung – ein aktiver Beitrag zum Tierschutz

In jedem Tierversuch sollten die *Endpunkte* in einem Experiment so früh wie möglich gesetzt werden.

Im Idealfall sollte diese Endpunkte vor dem Auftreten von Schmerzen oder Leiden liegen.

Genau hier setzt die Refinementforschung an.



Daher ist es konsequent, ein 3R-Zentrum, wie hier an der JLU Gießen zu schaffen, in dem die Forschung zur Entwicklung alternativer Methoden mit der Erforschung von Maßnahmen zur Minimierung von Schmerzen, Ängsten und Leiden einhergeht.

Somit kommt der Umsetzung des 3R-Konzeptes von Russell & Burch eine herausragende Bedeutung zu, zumindest solange die Grundlagenforschung noch vom Einsatz von Tieren abhängig ist.



Das zentrale Konzept der *Principles*:

Inhumanität und *Humanität*.

Das ultimative Ziel im Sinne von Russell&Burch ist es, ein Höchstmaß an *Humanität* durch Umsetzen der 3Rs zu erreichen.



Dabei liegt der Schwerpunkt auf der Eliminierung aller möglichen *inhumanen* Aspekte, um darüber *Humanität* zu erreichen.

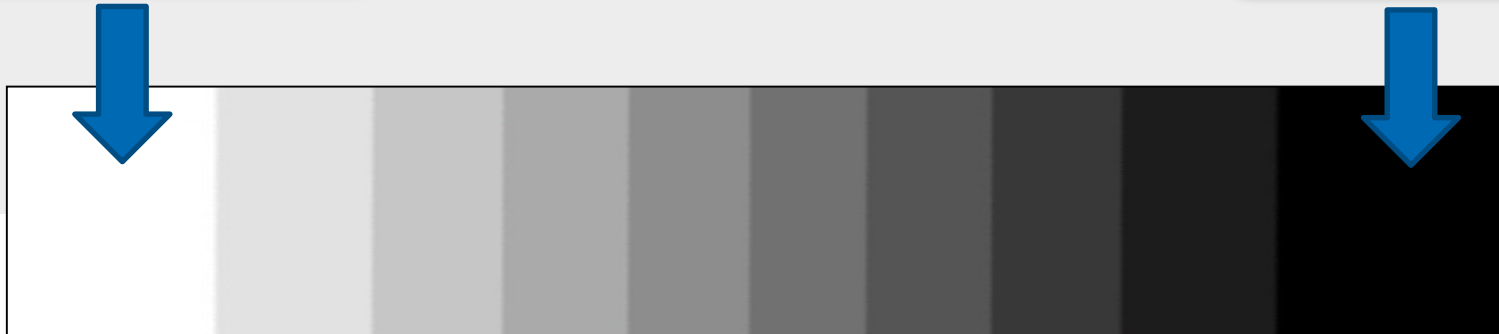
Das Ziel der Wissenschaft von den humanen experimentellen Techniken

- grundsätzlich sollte es möglich sein, das prospektive Ausmaß von Belastungen mit genügender Präzision zu bestimmen
- hierzu verwendet man eine Skala, die an einem Enden das vorhersagbare Höchstmaß an Belastungen aufweist und an deren anderem Ende keine Belastungen mehr vorliegen
- Ziel ist es, auf dieser Skala die Belastungen derart zu verschieben (minimieren), dass das Tier idealer Weise keinerlei Belastungen = Inhumanität mehr erfahren muss



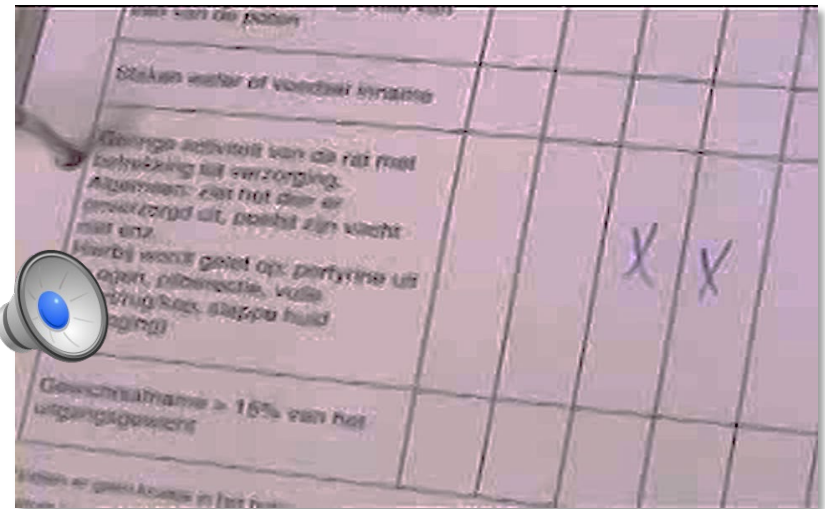
Inhumanität ist gleichzusetzen mit dem Begriff Belastung

Russell und Burch charakterisierten den Begriff *Inhumanität* mittels der Beschreibung einer Vielzahl unangenehmer mentaler Zustände, die ein Versuchstier in einem Tierversuch erfahren kann.



Score Sheets

- Die Auswertung von Score Sheets ermöglicht es auch retrospektiv Erholungszeiten (Recovery) oder mögliche Verschlechterungen (Progression) von Tieren durch bestimmte Prozeduren zu analysieren, um darüber die Gesamtbelastung jedes Einzeltieres oder aber durch eine Prozedur zu erfassen und zu bewerten.
- Ein Score Sheet ist ein essentielles Instrument, um die sogenannten **humane endpoints** bestimmen zu können.



Jede Verminderung der Belastung oder des Einsatzes inhumaner Prozeduren ist gleichzeitig ein äquivalenter Zugewinn an Humanität. Je besser es gelingt, das Ausmass an Stress oder inhumanen Prozeduren in einem Tierversuch zu minimieren, desto eher lässt sich das Ziel von Humanität realisieren.



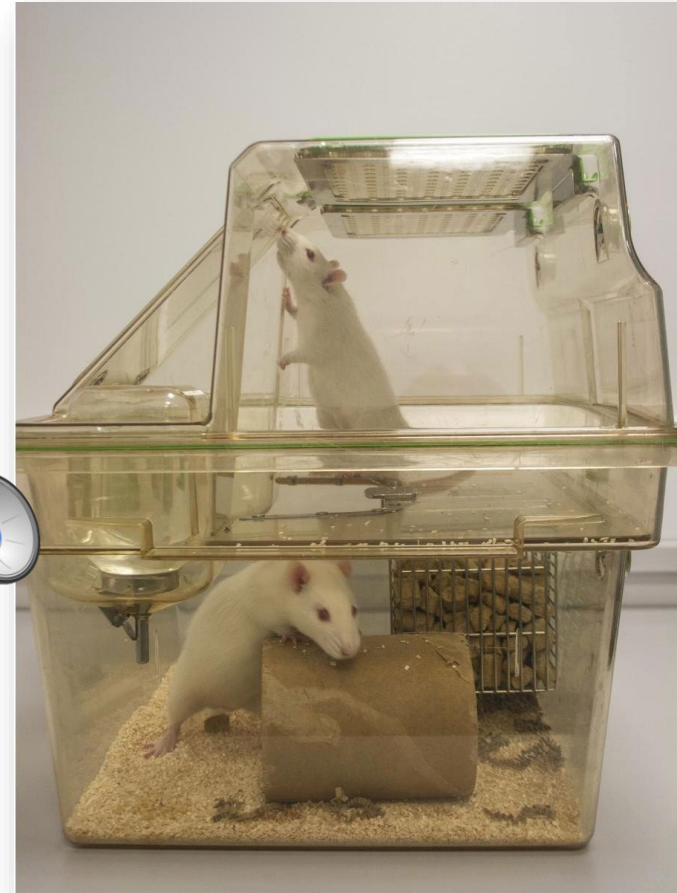
Unsere Errungenschaften – bisher

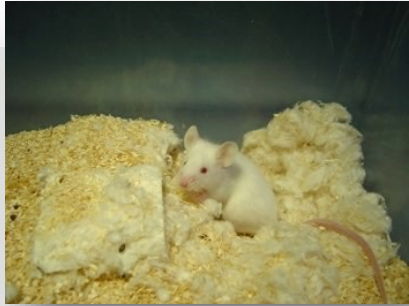
Verbesserung der Haltungsbedingungen

Ein optimales Tierhausmanagement stellt die Grundlage jedes versuchstierkundlichen Arbeitens dar. Dies spielt eine besonders große Rolle bei der Verwendung von Labornagern. Richtlinien und Programme, wie beispielsweise “The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” betonen die Notwendigkeit eines strikten Managements hinsichtlich der Haltungsbedingungen und Umwelteinflüsse, die auf die Tiere einwirken und derart ausgerichtet sein müssen, dass die Tiere im Zustand des höchsten Wohlbefindens gehalten werden.

- Analog Bedarfsdeckungs- und Schadensvermeidungskonzept







Refinement 1.0

Environmental Enrichment



Können Tiere Farben sehen?

Eine erste Version dieses
Übersichtsartikels erschien am 13.
August 1985, Science Times, New York
Times: VISION THROUGH ANIMAL EYES
REVEALS SURPRISING COLOR.



THURSDAY, AUGUST 13, 1985
 Science Times
 The New York Times
 With Education Arts
 L C1

Malnutrition in Elderly: Widespread Health Threat
 Weakened disease resistance, often blamed on aging process, may be caused by poor nutrition.

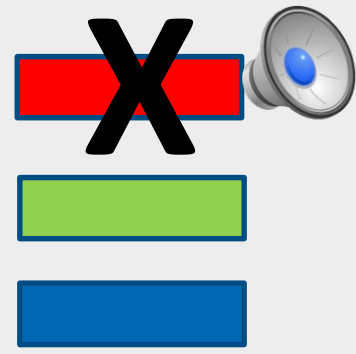
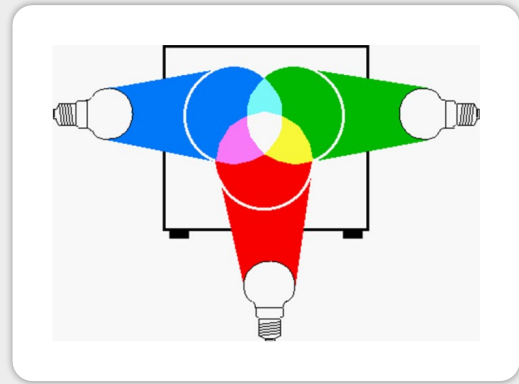
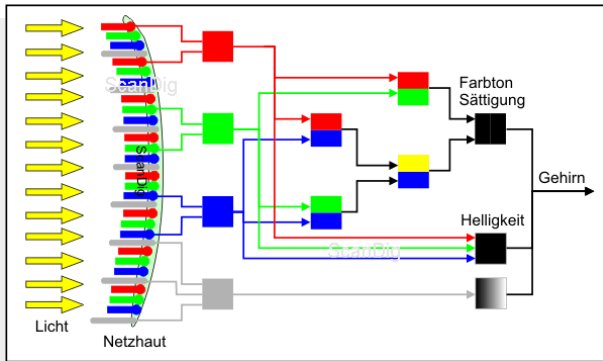
Vision Through Animal Eyes Reveals Surprising Color
 SEEING IN COLOR
 EYE'S SPECTRAL SENSITIVITY

Brutal Sports And Brutal Fans
 Psychologists conclude that violence on field spurs violence in the stands.

Computers Aid Study Of Ancient Artifacts
 Page C3

EDUCATION
Alternate Route Leads Teachers To the Classroom

STAGE: How an audition reshaped 'Odd Couple,' page C11./ OPERA: Faye Robinson as Elvira in 'Puritans,' page C11.
 BOOKS: 'Cops,' by Mark Baker, reviewed, page C15./ TV: 'West 57th,' a magazine from CBS News, page C16.





Die ARRIVE (Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments) Guidelines verfolgen das Ziel, den Informationsgehalt von Arbeiten, die die Verwendung von Tieren beinhalten, zu optimieren. Darüber sollen mittelfristig unnötige Studien vermieden werden.



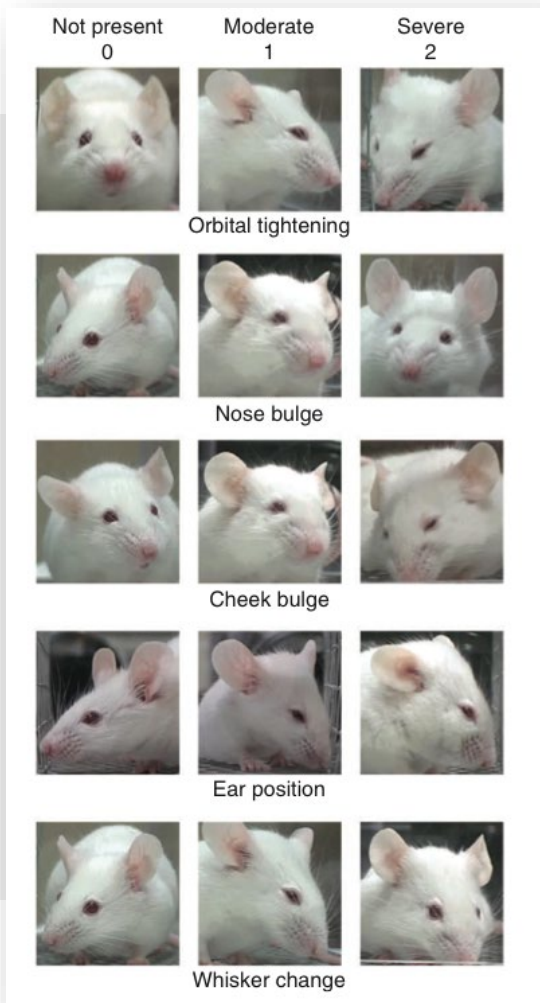
Die ARRIVE Guidelines wurden erstmals in **PLOS Biology**, publiziert und in Zusammenarbeit mit der Initiative NC3R entwickelt.

Refinement 1.0

Schmerz Management/ Anästhesie

- individuelle Belastungen und Leiden von Versuchstieren sollten nicht ausschließlich aus einer ethischen Abwägung heraus erfolgen, sondern es ist ebenso in Betracht zu ziehen, dass Schmerz potentiell adverse Effekte auf den Versuchsausgang nehmen kann
- der Einsatz sicherer und effektiver Schmerzmittel ist ein zentraler Refinement-Aspekt, dabei sind mögliche Effekte/ Nebenwirkungen der Schmerzmittel auf den Versuchsausgang zu berücksichtigen





Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse.

Nat Methods. 2010 Jun;7(6):447-9.

Langford et al.





Hätten Sie es gewusst?

Narkose:

Für eine einstündige Anästhesie hat eine Maus einen vergleichbar hohen metabolischen Aufwand, wie eine Katze für eine sechsstündige Narkose aufwenden müsste

The difficulty lies, not in the new ideas, but in escaping from the old ones.



John Maynard Keynes (1883-1946)

Teil B

Alternativverfahren – ein Überblick



Zahl der verwendeten Versuchstiere

	Year 1	Official Stats	Estimate	Multiplier	Year 2	Official Stats	Estimate	% increase
USA	2005	1,177,566	17,317,147	14.71	2012	1,101,199	16,194,103	-6.49
Great Britain	2005	2,812,850	1,874,207	0.67	2102	4,110,000	2,738,500	46.12
Germany	2005	2,412,678	1,822,424	0.76	2011	2,073,702	1,566,377	-14.05
Canada	2005	2,316,285	2,316,281	1.00	2012	3,333,689	3,333,683	43.92
France	2004	2,325,398	2,325,398	1.00	2011	2,200,152	2,200,152	-5.39
Italy	2005	896,966	896,966	1.00	2011	781,815	781,815	-12.84
Australia	2011	6,489,005	2,389,813	1.00	2011	7,100,000	2,614,834	9.42
Spain	2011	595,597	595,597	1.00	2011	900,127	900,127	51.13
			29,537,833				30,329,592	2.68
Global Estimate			115,300,000				118,390,040	



Die Zahlen können lediglich geschätzt werden, verlässliche Datenerhebungen existieren nicht!

Beispiel: Toxizitätsprüfungen

54.000. 000 zur Erfüllung der REACH-Verordnung



Meerschweinchen, Mäuse, Ratten, Fische, Vögel

Hartung, T. and Rovida, C. Opinion: Chemical regulators have overreached. August 2009. Nature 460, 1080-1081.

<http://www.nature.com/nature/journal/v460/n7259/full/4601080a.html>

Gesetzliche Vorschriften

Es besteht die gesetzliche Verpflichtung bestimmte Produkte, wie z. B. Medikamente oder Schädlingsbekämpfungsmittel, vor einer Marktzulassung auf Unbedenklichkeit für Mensch und Umwelt zu testen.

Hierbei gibt es sowohl nationale, als auch verbindliche übergeordnete europäische Vorgaben.

Streben Konzerne eine internationale Vermarktung ihrer Produkte an, so müssen darüber hinaus die Vorgaben der internationalen Handelsorganisation *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD) berücksichtigt werden.

Sicherheitsnachweise, die nach OECD-Standards erbracht wurden, werden in allen OECD-Mitgliedstaaten akzeptiert.

Nationale gesetzliche Vorgaben zur Durchführung vorgeschriebener (regulatorischer) Tierversuche:

- Arzneimittelgesetz
- Chemikaliengesetz
- Gentechnikgesetz
- Infektionsschutzgesetz
- Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetz
- Pflanzenschutzgesetz
- Tierseuchengesetz#
- Verordnung über Medizinprodukte
- Verordnung über Detergenzien
- Verordnung über Pflanzenschutzmittel und Pflanzenschutzgeräte



Tierversuche für solche Zwecke werden als regulatorische Tierversuche bezeichnet und werden in der Regel in einem standardisierten Verfahren durchgeführt. Solche Versuche müssen bei der zuständigen Behörde angezeigt werden.

Tierschutzgesetz

§ 8a

(1) Wer ein Versuchsvorhaben, in dem Wirbeltiere oder Kopffüßer verwendet werden, durchführen will, 1. das ausschließlich Tierversuche zum Gegenstand hat, deren Durchführung ausdrücklich

a) durch Gesetz oder Rechtsverordnung, durch das Arzneimittelgesetz oder durch unmittelbar geltenden Rechtsakt der Europäischen Gemeinschaft oder der Europäischen Union vorgeschrieben ist,

b) in einer von der Bundesregierung oder einem Bundesministerium erlassenen allgemeinen Verwaltungsvorschrift vorgesehen ist oder

c) auf Grund eines Gesetzes oder einer Rechtsverordnung oder eines unmittelbar anwendbaren Rechtsaktes der Europäischen Gemeinschaft oder der Europäischen Union behördlich oder gerichtlich angeordnet oder im Einzelfall als Voraussetzung für eine behördliche Entscheidung gefordert wird, ... hat das Vorhaben anzuzeigen.

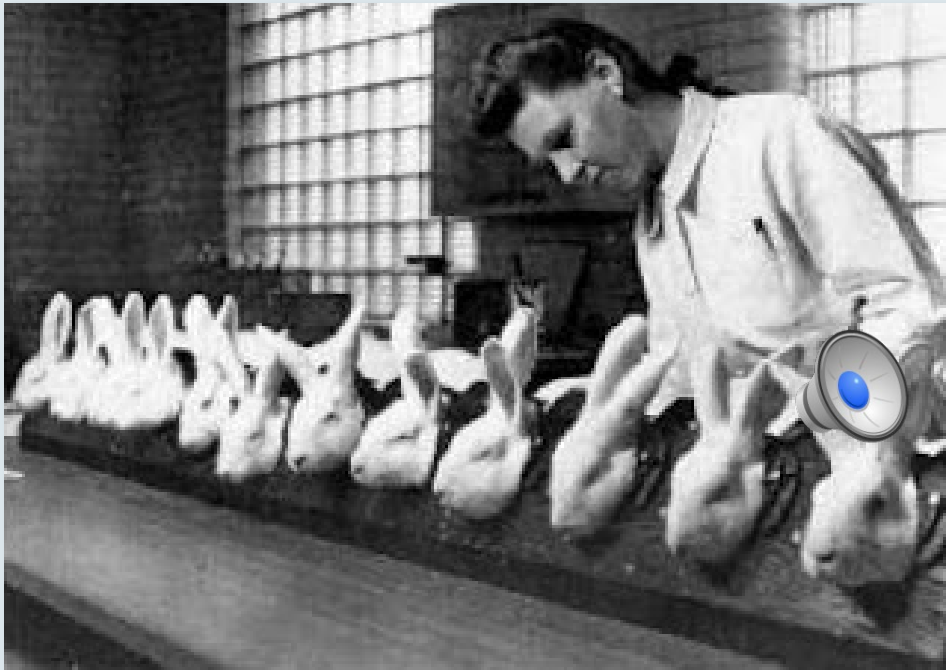
Nach der offiziellen Statistik des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) entfielen im Jahr 2014 etwa 11 Prozent der Versuchstiere auf den Bereich der Herstellung oder die Qualitätskontrolle von medizinischen Produkten. Darüber hinaus sind annähernd 14 Prozent der Tiere in toxikologischen Sicherheitsprüfungen eingesetzt worden.

Im Rahmen der Arzneimittelzulassung wird die Wirksamkeit, Verträglichkeit und Qualität neuer Medikamente– genauso wie die anderer Medizinprodukte – überwacht.

Für die Untersuchung von möglichen Wirkstoffen in der vorklinischen Phase sind sogar Tests an mindestens zwei verschiedenen Tierarten (in der Regel ein Nagetier wie Maus oder Ratte und ein anderes Säugetier wie Hund oder Affe) erforderlich.



Der Draize-Test

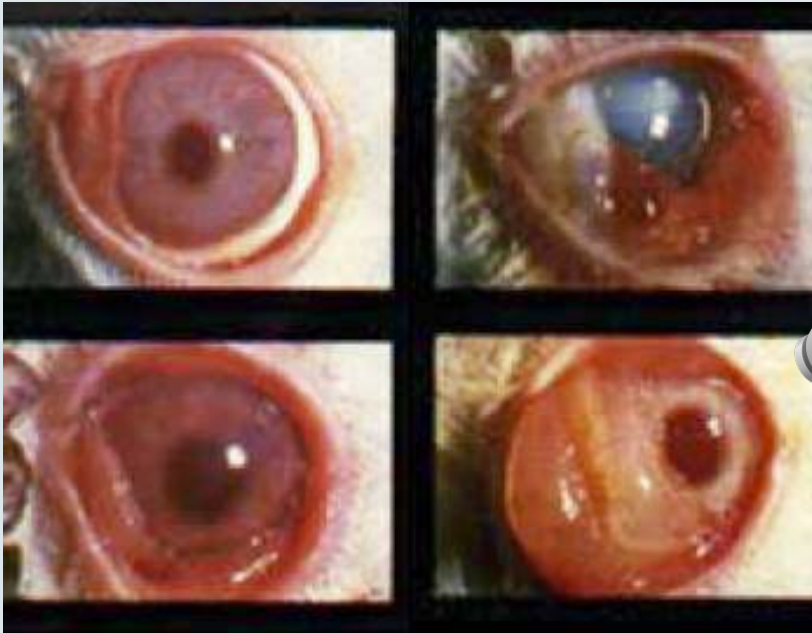


Warum das Kaninchen?
Wegen dessen Gutmütigkeit,
der großen Augen (Fläche),
der natürlicher Weise
geringen Produktion an
Tränenflüssigkeit, bekannte
anatomische Strukturen

Verschiedene Kriterien werden untersucht: Trübung der Cornea, Fläche der betroffenen cornealen Areale, Hyperämie der Konjunktiven, okkuläre Veränderungen, Irisabnormalitäten.

Übliche Untersuchungszeitpunkte: 1 h, 24 h, 48 h, 72 h, 7 d, 21 d

Der Draize-Test



The New and Improved Eye Lotion for

LASH LIFE

This is the manufacturer's version of the effect of this aniline eyelash dye.

Total blindness was its actual effect in at least one instance.

Radiant Personality

Before

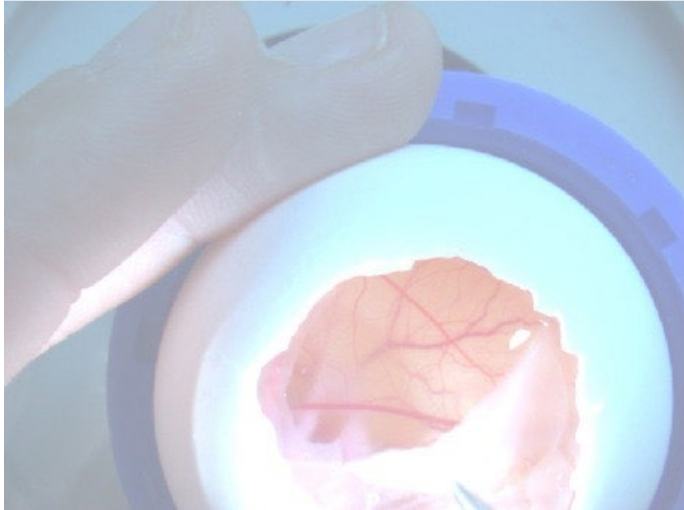


After

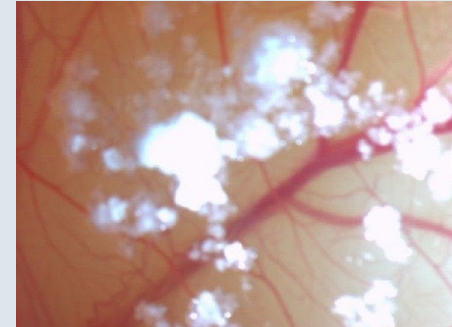
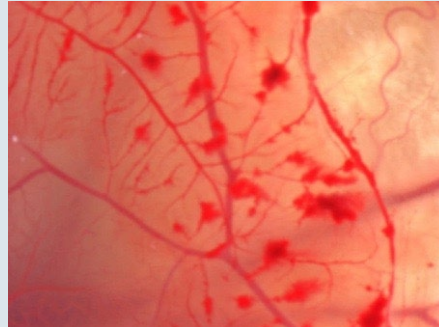
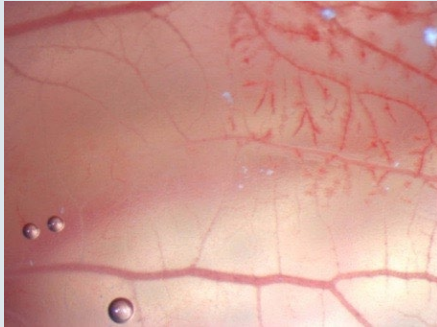


Ein Pionier der Alternativverfahren

Der HET-CAM TEST - hens egg test-chorio-allantoic membrane



Für den HET-CAM Test werden befruchtete Eier der Hühnerrasse White Leghorn verwendet. Die Eier werden neun Tage bei $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ und einer relativen Luftfeuchtigkeit von $62,5\pm 7,5\%$ unter regelmäßigem Drehen bebrütet. Am neunten Tag werden die Eier mit einer Lampe durchleuchtet und die Luftblase markiert. Nicht befruchtete Eier werden verworfen. Entlang der Markierung werden die Eier geöffnet und die Eimembran mit physiologischer Kochsalzlösung befeuchtet. Die Eimembran wird abgezogen, das Ei unter ein Binokular gestellt und so ausgerichtet, dass die CAM und die Blutgefäße gut zu sehen sind.



Gefäßlysis und Hämorrhagie 5 min nach Applikation von 1% Natriumlaurylsulfat (links), Koagulation 5 min nach Applikation von 0,3% NaOH (Mitte) und Bild der CAM 5 min nach Applikation der pulverförmigen Substanz PX-18 (rechts) in 63-facher Vergrößerung

- 1. Reaktions-Zeit-Methode:** Die CAM wird über 5 min nach Applikation der Testsubstanz beobachtet und der Zeitpunkt des Auftretens von Hämorrhagie, Gefäßlysis und Koagulation bestimmt. Diese Methode ist nur für transparente Materialien geeignet.
- 2. Irritations-Grenzwert:** Die höchste Konzentration der Testsubstanz, bei der Hämorrhagie, Gefäßlysis oder Koagulation erst nach einer fünfminütigen Kontaktzeit auftritt, wird bestimmt. Diese Methode eignet sich nur für transparente Materialien.
- 3. Endpunktbestimmung:** Die CAM wird für eine bestimmte Zeit z.B. 30 s oder 5 min mit der Testsubstanz in Berührung gebracht und nach vorsichtigem Entfernen der Testsubstanz beurteilt. Diese Methode eignet sich auch für undurchsichtige Proben und Feststoffe.

BCOP-Test - Bovine Corneal Opacity and Permeability-Test

Der Draize Test war als internationaler Standard in der OECD Methode 405 festgeschrieben. Seit September 2009 gestattet die OECD *in vitro*-Tests mit isolierten Rinder-Hornhäuten (aus „Schlachtabfällen“) als Ersatz für *in vivo*-Tests an Kaninchenaugen.

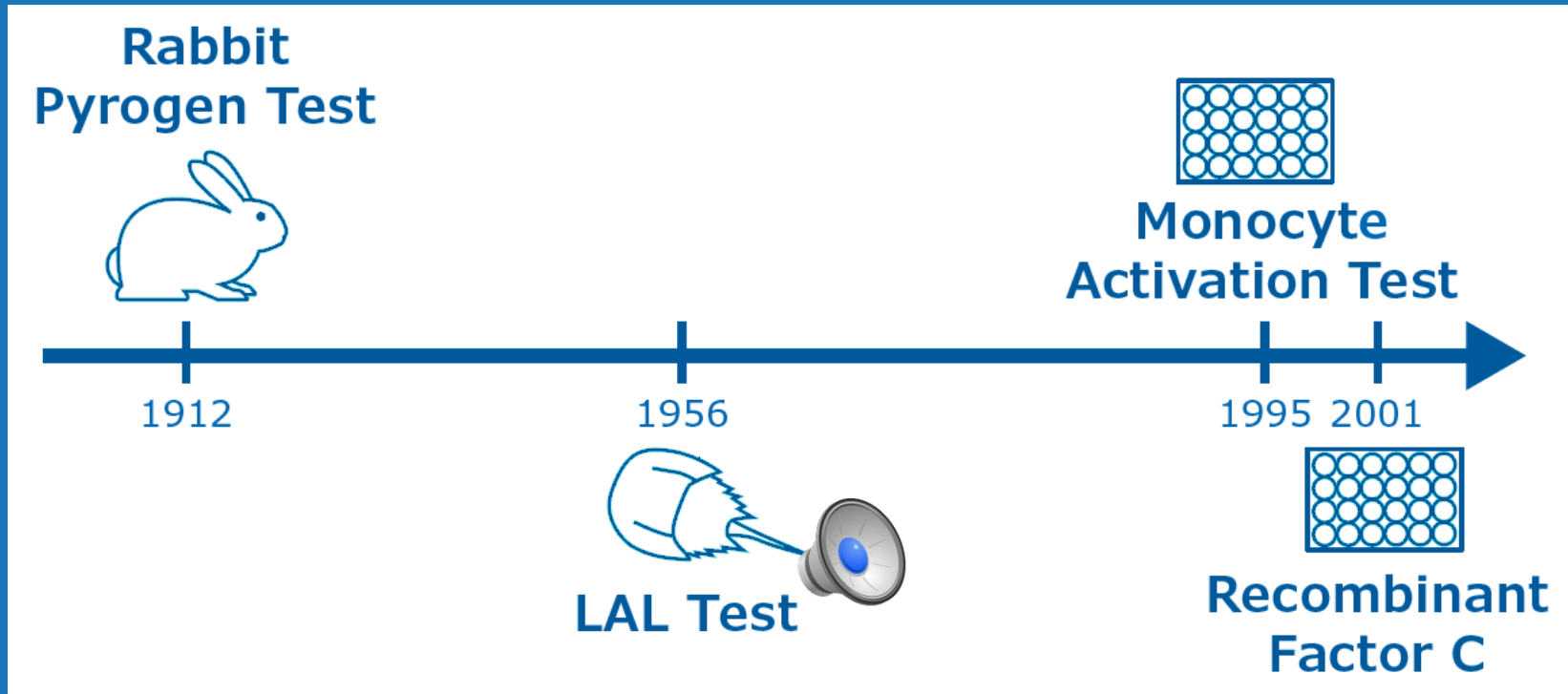
Die OECD Testrichtlinie 437 beschreibt den BCOP-Test (Bovine Corneal Opacity and Permeability-Test), Rinderhornhaut-Trübung- und –Durchlässigkeitstest, als eine *in vitro*-Methode, die verwendet werden kann, um eine Substanz mit dem Gefahrenhinweis „Gefahr ernster Augenschäden“ einzustufen.



Ein Meilenstein in der Toxizitätsprüfung

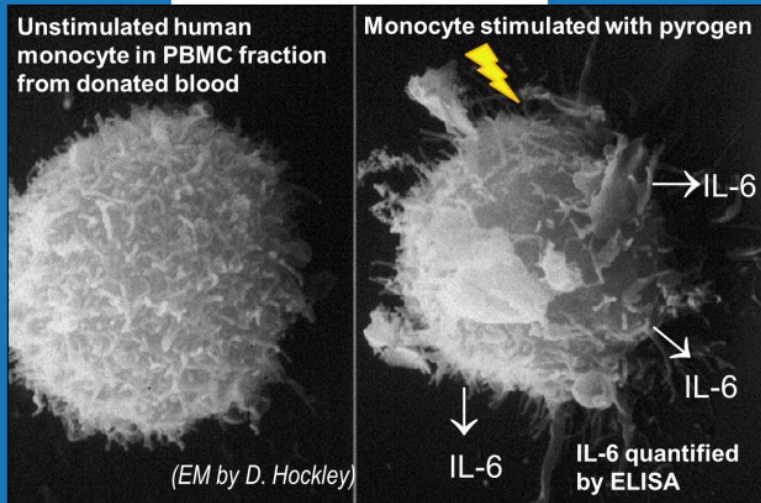


Abschaffung des Rabbit-Pyrogen-Tests

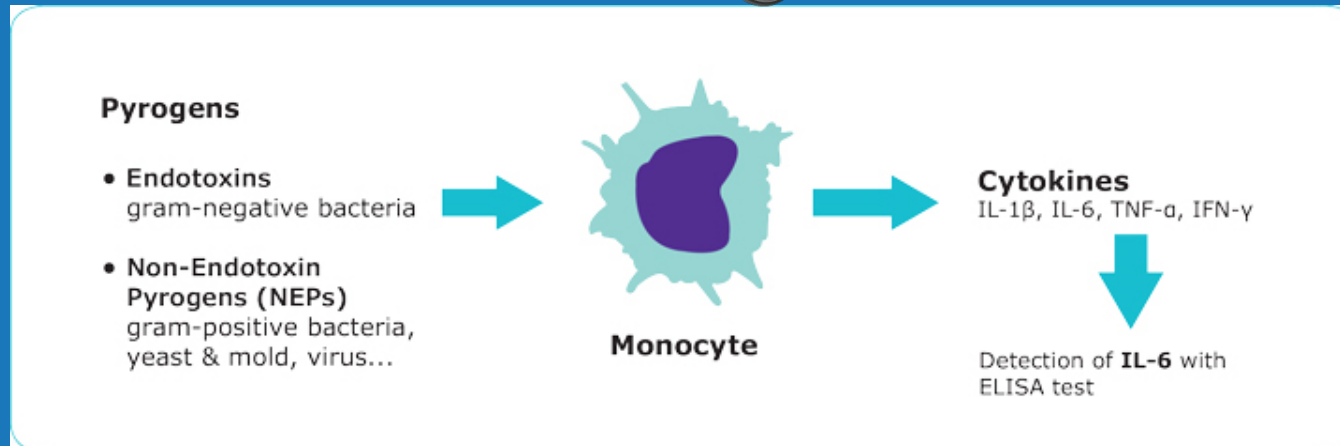


Der erste Rabbit Pyrogen Test (RPT) wurde 1912 entwickelt, ein alternativer Nachweis ergab sich 1956 mit dem LAL (Limulus-Amöbozyten-Lysat). 1995 kam mit dem Monozyten Aktivierungstest eine weitere Methode dazu. 2001 gelang es eine rekombinante Variante des Faktor C, der die Schlüsselrolle beim LAL Test spielt, einzusetzen.

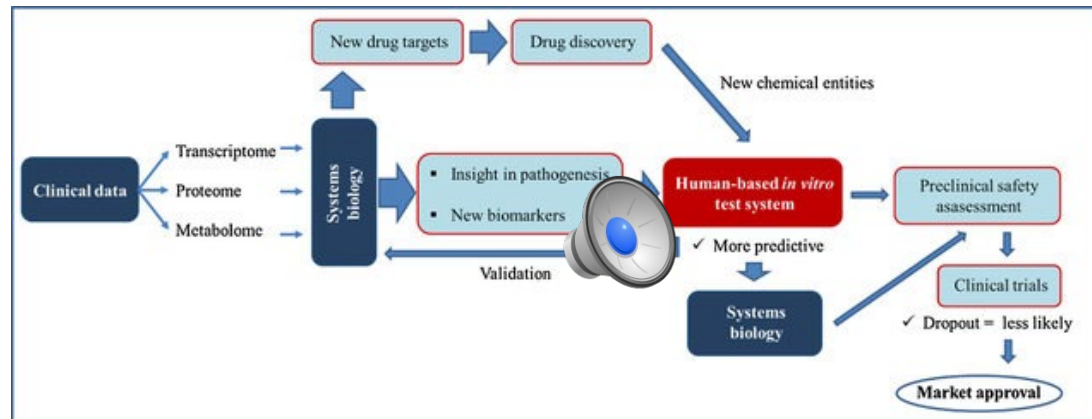
Monocyte activation test



Im Jahr 2010 wurde der MAT in die Europäische Pharmakopöe aufgenommen und detektiert neben LPS auch andere für den Menschen pyrogene Stoffe, da humane Zellen eingesetzt werden.

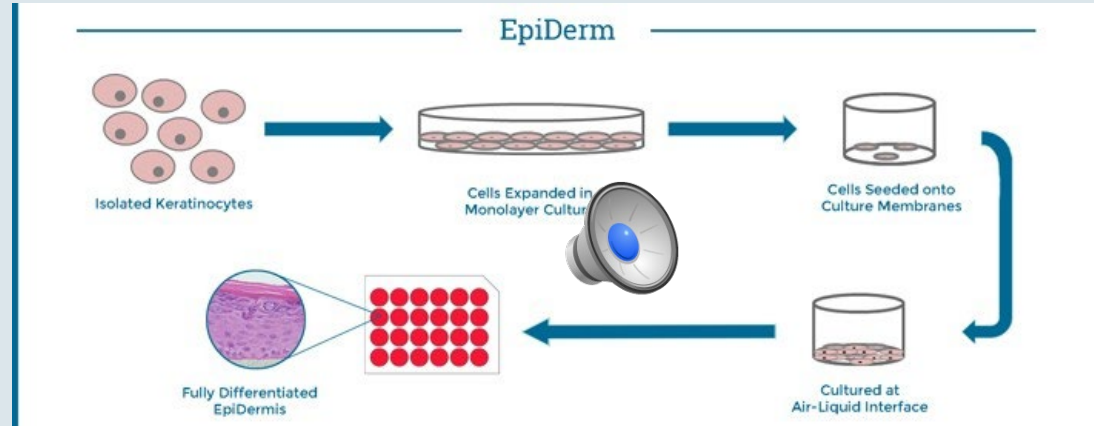


Hochdurchsatzverfahren zur Medikamententestung



Genom (alle DNA-Sequenz-Variationen), Epigenom (alle chemischen Modifizierungender DNA oder der Histonproteine), Transkriptom (alle exprimierten RNA-Transkripte), Proteom (alle exprimierten Proteine) und Metabolom (alle Metaboliten)

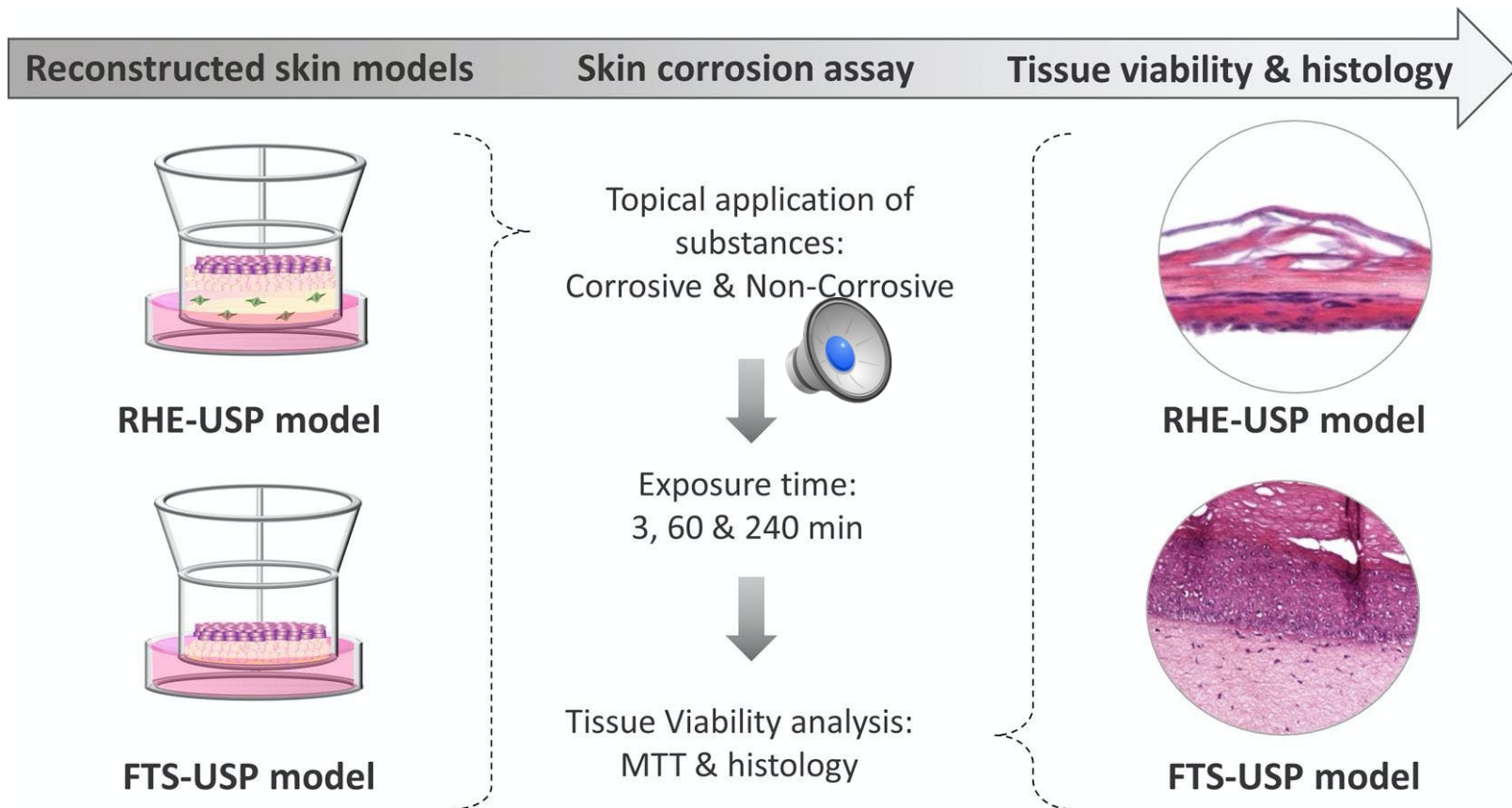
Tier-freie Hauttest-Systeme



Mittlerweile existieren eine Vielzahl von Testsystemen, um Verbrauchersicherheit zu gewährleisten:

Hautirritationstests, Hautkorrosionstests, Hautgefühlstests, Genotoxizitätstests, Phototoxizitätstests, Absorptionstests

RhE – Rekonstruierte menschliche Epidermis



OECD-Richtlinien

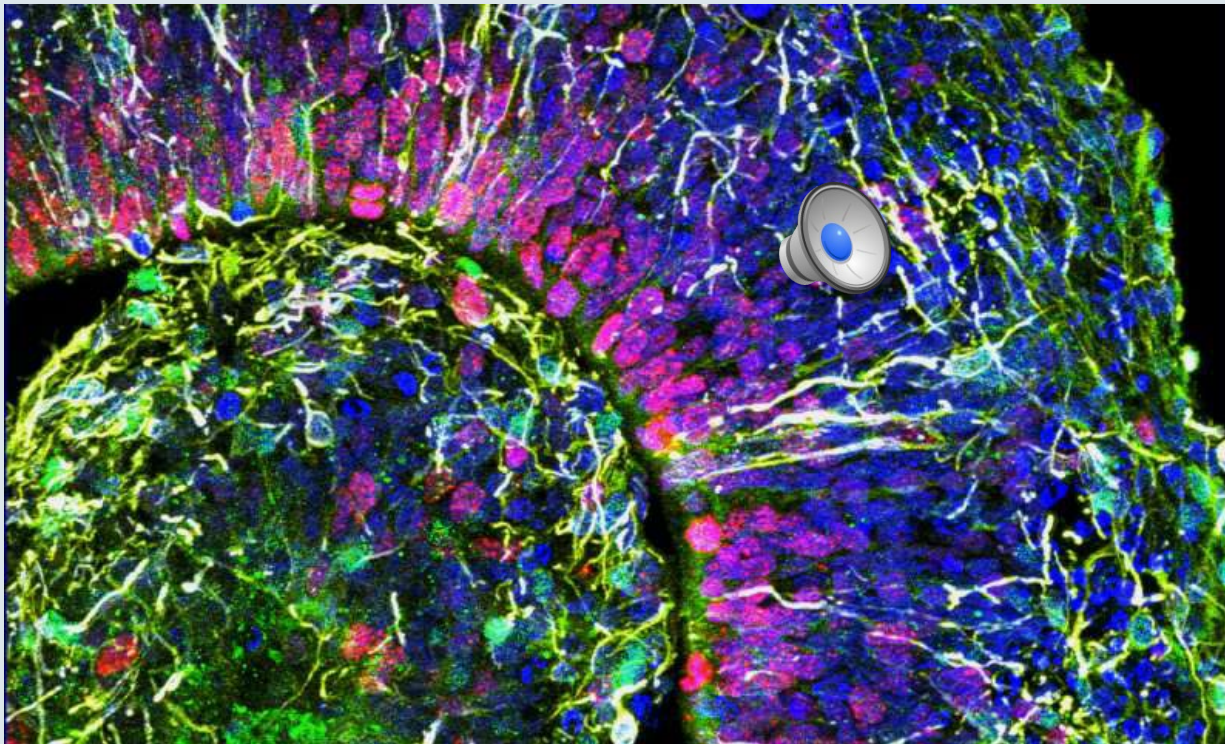
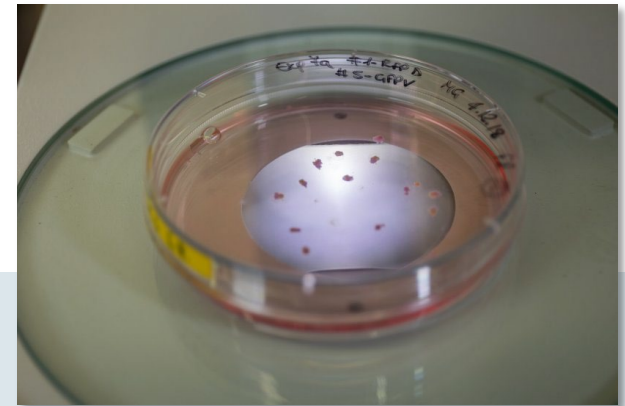
Test Guideline No. 431

In Vitro Skin Corrosion: Reconstructed Human Epidermis (RhE) Test Method

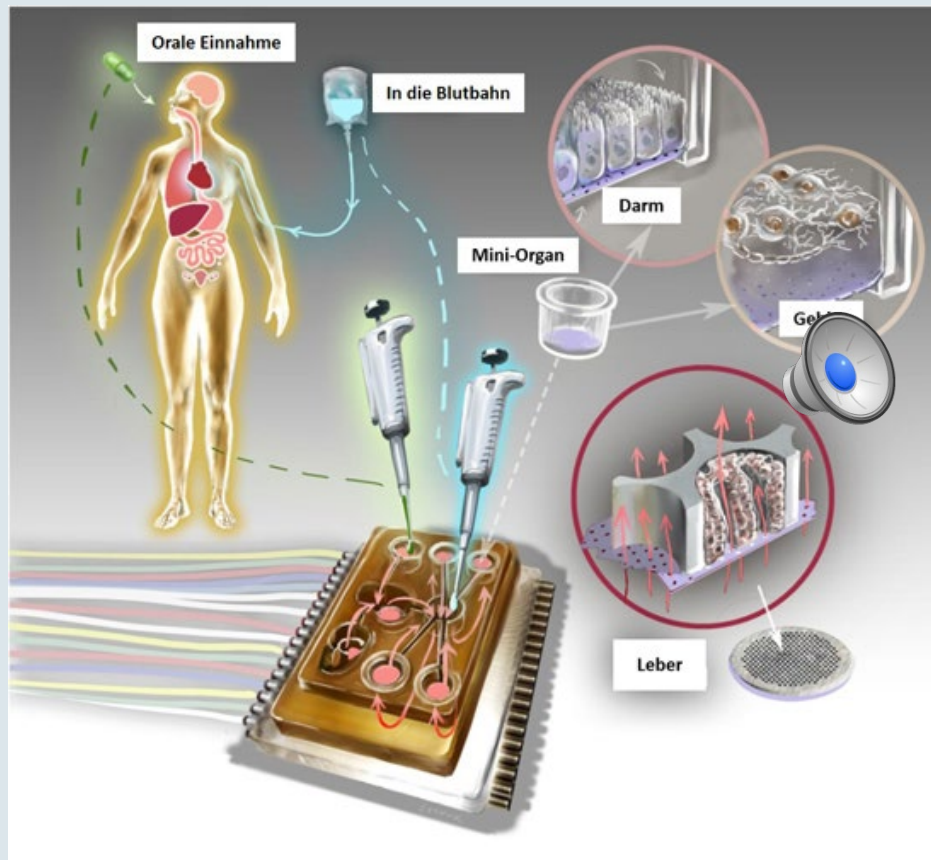
... This Test Guideline addresses the human health endpoint skin corrosion. It makes use of reconstructed human epidermis (RhE) (obtained from human derived non-transformed epidermal keratinocytes) which closely mimics the histological, morphological, biochemical and physiological properties of the upper parts of human skin, i.e. the epidermis. This Test Guideline was originally adopted in 2004 and updated in 2013, 2016 and 2019 to include additional test methods using the RhE models. The Test Guideline was also updated in 2015 to introduce the possibility to use the methods to support the sub-categorisation of corrosive chemicals, and to refer to the IATA guidance document, and introduce the use of an alternative procedure to measure viability. ...

Organoide

Beispiel: Mini-Brains



Organ-on-a-chip



Menschlicher Organismus auf einem Bio-Chip. Der Bio-Chip (MPS = Mikrophysiologisches System) kann mit einzelnen Mini-Organen beliebig bestückt werden. Über ein Kanal-System werden die Mini-Organen mit Nährstoffen versorgt und etwa Medikamente eingeleitet. Hierbei kann eine orale Einnahme (über den Mund) oder eine Verabreichung in die Blutbahn simuliert werden. Das MPS ist an ein elektronisches Steuerungs-Element angeschlossen. Mittels Computer wird reguliert, welche Organe in welcher Reihenfolge angesteuert werden

Entwicklung und Validierung



Wer kümmert sich darum?

Universitäten
und Industrie

Validierungs-Einrichtungen
und Test-Entwickler

Validierungs-Einrichtungen



Regulierungs-
behörden

Regulierungsbehörden und
Industrie

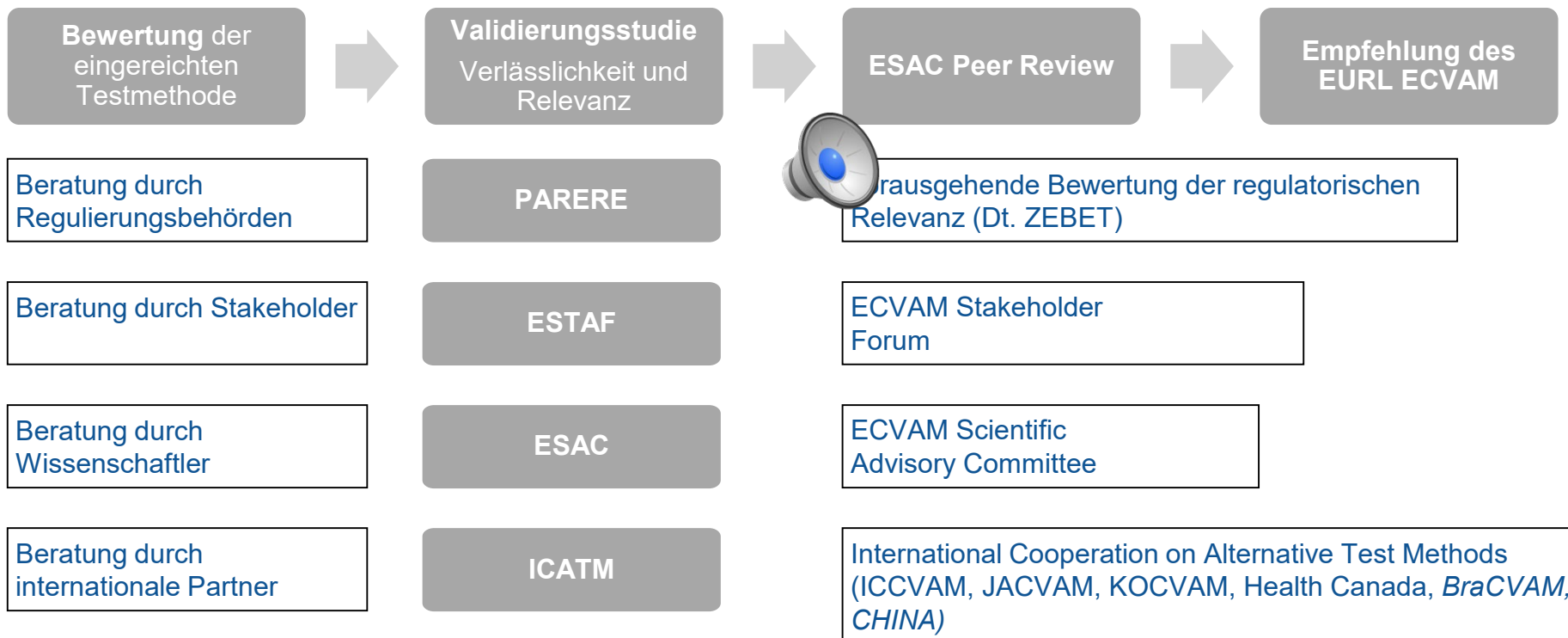
Validierungs-Prozess des EURL ECVAM



- Entwicklung und Verbreitung von Alternativmethoden
- Anwendung in der Industrie
- Anerkennung durch Regulierungsbehörden
- Kommunikation mit Regulierungsbehörden, Wissenschaftlern, Stakeholdern, NGOs

Der Validierungsprozess

Validierungs-Prozess des EURL ECVAM



1. Bewertung: Modulares Bewertungssystem

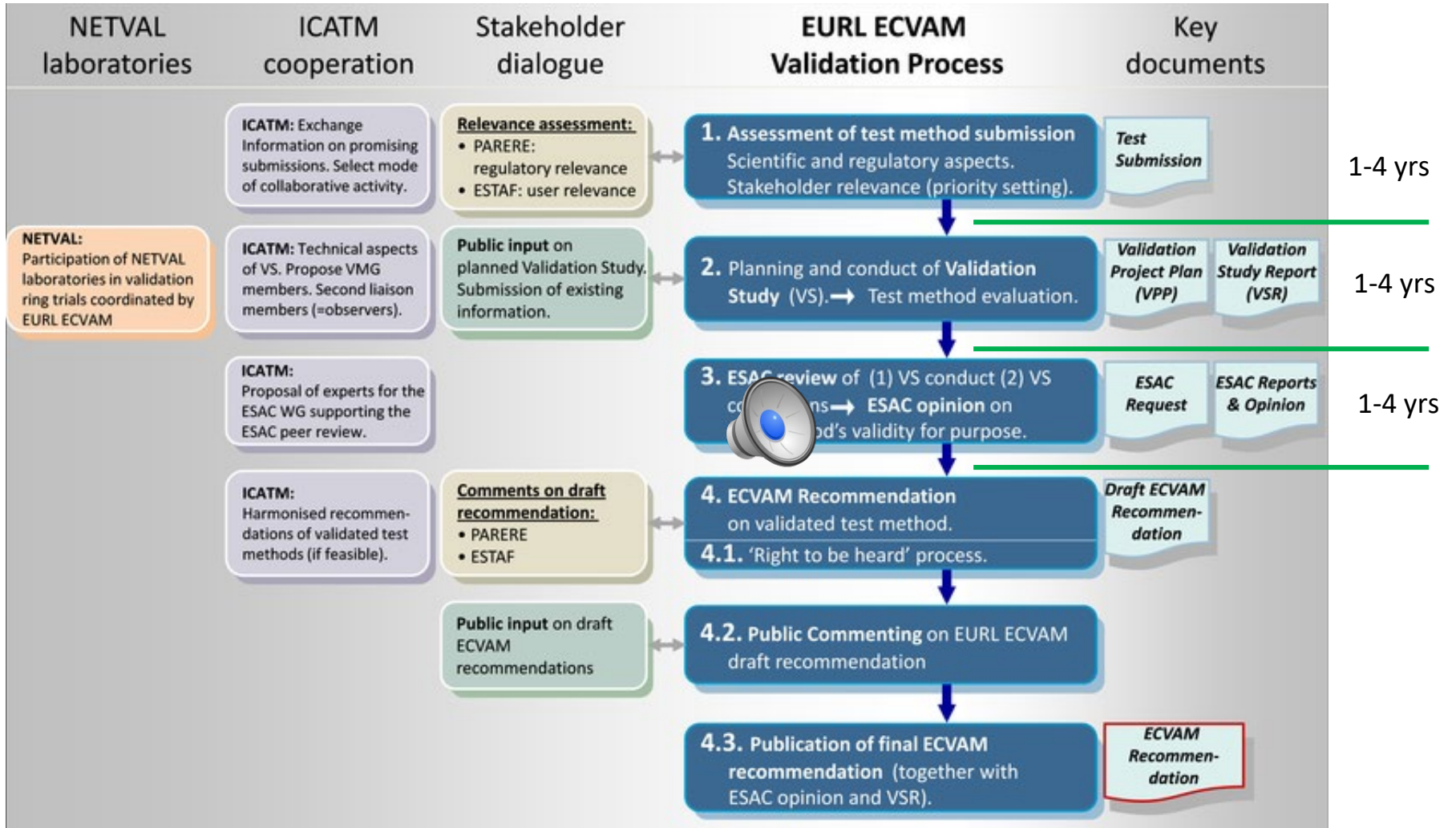
- Test-Definition
- Reproduzierbarkeit innerhalb eines Labors
- Übertragbarkeit/Praktikabilität
- Reproduzierbarkeit zwischen unterschiedlichen Laboren
- Vorhersagefähigkeit
- Anwendungsbereich
- Leistungsanforderungen



Zuverlässigkeit

Relevanz

Hartung, et al., 2004. A modular approach to the ECVAM principles on test validity. Alternatives to laboratory animals : ATLA 32, 467-472.



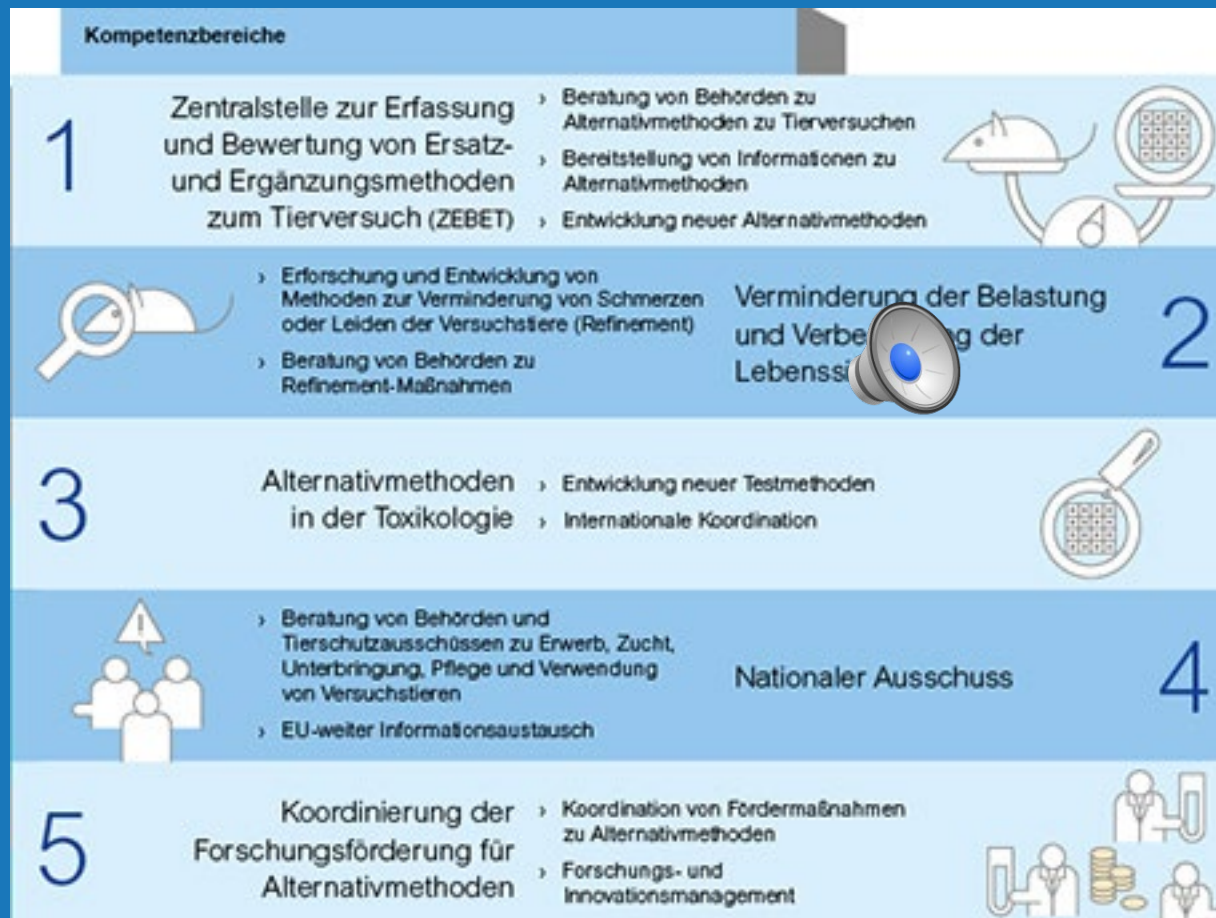
Deutsches Zentrum zum Schutz von Versuchstieren (Bf3R)

Aufgabenbereiche und Ziele des Deutschen Zentrums zum Schutz von Versuchstieren (Bf3R)

- Intensivierung der Alternativmethodenforschung
- Beratung von Behörden und Forschungseinrichtungen
- Harmonisierung von Alternativmethoden internationaler Ebene
- Forschungsförderung von Alternativmethoden
- Information der Öffentlichkeit und Fachöffentlichkeit



ZEBET setzt sich für den Schutz von Versuchstieren ein. Die Abkürzung steht für „Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch“ am BfR. Eine eigene Datenbank – AnimALT – gibt Einblick in bereits geprüfte Alternativmethoden.





The ECVAM Search Guide

Eine Hilfestellung zur Identifizierung geeigneter Alternativverfahren



Lernziele:

1. Entwicklung des 3R-Konzeptes verstehen
2. Definitionen der 3Rs kennen und mit Hilfe von Beispielen verdeutlichen können
3. Möglichkeiten und Limitierungen des 3R-Konzeptes reflektieren
4. Gesetzliche Grundlagen zu Toxizitätstests kennen
5. Entwicklung von Alternativverfahren verstehen
6. Zuständige Deutsche Behörde für Tierversuche und Alternativverfahren kennen





Vielen Dank für Ihr Interesse!